



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ
Β' ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ RUSSELLS HALL HOSPITAL
DUDLEY, BIRMINGHAM, ΗΝΩΜΕΝΟ ΒΑΣΙΛΕΙΟ
ΡΕΥΜΑΤΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΥΠΕΡΤΑΣΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ

**ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ Φ. ΠΑΝΟΥΛΑΣ
ΙΑΤΡΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2009

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος).

Ημερομηνία αίτησης του κ. Πανούλα Βασιλείου: 31-1-2006

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 580^α/2-5-2006

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Ελισάφ Μουσής, Καθηγητής Παθολογίας

Μέλη

Δρόσος Αλέξανδρος Καθηγητής Παθολογίας-Ρευματολογίας

Μηλιώνης Χαράλαμπος Λέκτορας Παθολογίας

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 24-5-2006

«Γενετική ρύθμιση της υπέρτασης σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα»

ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : 668^α/13-10-2009

1. Γουδέβενος Ιωάννης Καθηγητής Παθολογίας-Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
2. Δρόσος Αλέξανδρος Καθηγητής Παθολογίας-Ρευματολογίας Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
3. Ελισάφ Μουσής, Καθηγητής Παθολογίας, Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
4. Τσιάνος Επαμεινώνδας Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
5. Μηλιώνης Χαράλαμπος Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
6. Λιάμης Γεώργιος Λέκτορας Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων
7. Λυμπερόπουλος Ευάγγελος Λέκτορας Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Παν/μίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 4-11-2009

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

Γουδέβενος Ιωάννης

Καθηγητής Παθολογίας-Καρδιολογίας



ΑΦΙΕΡΩΣΕΙΣ

Στον πολυαγαπημένο μου παππού Βασίλη που έχασα κατά τη διάρκεια της διδακτορικής μου διατριβής, τη μητέρα μου Λίτσα, τον πατέρα μου Φωκά, τον αδερφό μου Παναγιώτη και την αγαπημένη μου γιαγιά Ανδρομάχη.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1. **Panoulas VF**, Douglas KM, Milionis HJ, Stavropoulos-Kalinglou A, Nightingale P, Kita MD, Tselios AL, Metsios GS, Elisaf MS, Kitas GD. Prevalence and associations of hypertension and its control in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46(9):1477-1482.
2. **Panoulas VF**, Milionis HJ, Douglas KM, Nightingale P, Kita MD, Klocke R, Elisaf MS, Kitas GD. Association of serum uric acid with cardiovascular disease in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46(9):1466-1470.
3. **Panoulas VF**, Douglas KM, Milionis HJ, Nightingale P, Kita MD, Klocke R, Metsios GS, Stavropoulos-Kalinoglou A, Elisaf MS, Kitas GD. Serum uric acid is independently associated with hypertension in patients with rheumatoid arthritis. *J Hum Hypertens.* 2008 Mar;22(3):177-82. Epub 2007 Oct 25.
4. **Panoulas VF**, John H, Kitas GD. Six step management of hypertension in patients with rheumatoid arthritis. *Future Rheumatology*, 2008 Feb;3(1):21-35
5. **Panoulas VF**, Douglas KMJ, Stavropoulos-Kalinoglou A, Metsios G, Nightingale P, Kita MD, Elisaf MS, Kitas GD. Long-term exposure to medium-dose corticosteroid therapy associates with hypertension in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2008 Jan;47(1):72-5.
6. **Panoulas VF**, Nikas SN, Smith JP, Douglas KM, Nightingale P, Milionis HJ, Treharne GJ, Toms TE, Kita MD, Kitas GD. The Lymphotoxin 252A>G polymorphism is common and associates with Myocardial Infarction in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2008 Nov;67(11):1550-6. Epub 2008 Jan 29
7. **Panoulas VF**, Metsios GS, Pace AV, John H., Treharne GJ, Banks MJ, Kitas GD. Hypertension in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2008 Sep;47(9):1286-98. Epub 2008 May 8. Review.
8. **Panoulas VF**, Douglas KMJ, Smith JP, Taffé P, Stavropoulos-Kalinoglou A, Toms TE, Elisaf MS, Nightingale P. and Kitas GD. Polymorphisms of the endothelin-1 gene associate with hypertension in patients with rheumatoid arthritis. *Endothelium.* 2008 Jul-Aug;15(4):203-12.
9. Toms TE*, **Panoulas VF***, Stavropoulos-Kalinoglou A, Kitas GD. "Cardiovascular" drugs in Rheumatoid Arthritis: Killing two birds with one stone? *Immun., Endoc. & Metab. Agents in Med. Chem.* 2008 ;8:259-274 *equal contribution to the paper

10. **Panoulas VF**, Stavropoulos-Kalinoglou A, Metsios GS, Smith JP, Milionis HJ, Douglas KM, Nightingale P, Kitas GD. Association of interleukin-6 (IL-6)-174G/C gene polymorphism with cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: The role of obesity and smoking. *Atherosclerosis*. 2008 Sep 6. [Epub ahead of print]
11. **Panoulas VF**, Douglas KMJ, Smith JP, Stavropoulos-Kalinoglou A, Metsios GS, Nightingale P, Kitas GD. Transforming growth factor beta 1 869 T/C, but not interleukin-6 -174G/C polymorphism, associates with hypertension in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2009 Feb;48(2):113-8. Epub 2008 Dec 23.
12. Toms TE, **Panoulas VF**, Douglas KMJ, Griffiths H, Kitas GD. Lack of association between Glucocorticoid use and presence of the metabolic syndrome in patients with Rheumatoid Arthritis: a cross sectional study. *Arthritis Res Ther*. 2008;10(6):R145. Epub 2008 Dec 17
13. **Panoulas VF**, Douglas KMJ, Smith JP, Metsios GS, Elisaf MS, Nightingale P and Kitas GD. Galectin -2 (*LGALS2*) 3279C/T polymorphism may be independently associated with diastolic blood pressure in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Hypertens*. 2009 Apr;31(2):93-104
14. **Panoulas VF**, Smith JP, Stavropoulos-Kalinoglou A, Douglas KMJ, Nightingale P, Kitas GD. Lack of an association of GNB3 C825T polymorphism and blood pressure in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Hypertens*. 2009 Aug;31 (5):428-439
15. **Panoulas VF**, Toms TE, Metsios GS, Stavropoulos-Kalinoglou A, Kosovitsas A, Milionis HJ, Douglas MJ K, John H, Kitas GD. Target organ damage in patients with rheumatoid arthritis: the role of blood pressure and heart rate. *Atherosclerosis*, In press

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

Anti-CCP	anti-cyclic citrullinated peptide, αντισώματα κατά κιτρουλλίνη
ARBs	angiotensin II type 1 receptor blockers, ανταγωνιστές των τύπου 1 υποδοχέων της αγγειοτενσίνης II
CCBs	calcium channel blockers, αναστολείς των διαύλων ασβεστίου
Coxibs	cyclo-oxygenase-II inhibitors αναστολείς της κυκλοοξυγενάσης -II
CRP	C-reactive protein, C-αντιδρώσα πρωτεΐνη
DAS-28	disease activity score for 28 indices, δείκτης ενεργότητας της νόσου
DMARDs	disease modifying anti-rheumatic drugs, τροποποιητικά της νόσου αντιρευματικά φάρμακα
EDN	endothelin, ενδοθηλίνη
FRET	fluorescence resonance energy transfer
GNB3	guanine nucleotide binding protein (G-protein) συνδετική πρωτεΐνη του νουκλεοτιδίου γουανίνης
HAQ	Health Assessment Questionnaire
HDL	high density lipoprotein, υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες
HOMA IR	Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance
IL	interleukin, ιντερλευκίνη
LD	linkage disequilibrium
LDL	low density lipoprotein, χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες
LD/LT E	low-dose/long-term exposure, χαμηλή- δόση /μακροχρόνια έκθεση
MD/LT E	moderate-dose/long-term exposure, μέτρια-δόση/μακροχρόνια έκθεση
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
N/L E	none/limited exposure, καμία /περιορισμένη έκθεση
OR	odds ratio, λόγος αναλογιών
PCR	polymerase chain reaction, αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης
PP	pulse pressure, πίεση παλμού
RA	rheumatoid arthritis, ρευματοειδής αρθρίτιδα
RF	rheumatoid factor, ρευματοειδής παράγων
QUICKI	Quantitative Insulin sensitivity Check Index
SNP	single nucleotide polymorphism, πολυμορφισμός σημειακής υποκατάστασης νουκλεοτιδίου
TC	total cholesterol, ολική χοληστερόλη
TGF	transforming growth factor, αυξητικός παράγοντας μεταμόρφωσης

TNF	tumor necrosis factor, παράγοντας νέκρωσης των όγκων
TG	triglycerides, τριγλυκερίδια
α-MEA	αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου αγγειοτενσίνης
ΑΕΕ	αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο
ΔΑΠ	διαστολική αρτηριακή πίεση
ΔΜΣ	δείκτης μάζας σώματος
ET-1	ενδοθηλίνη-1
ΚΑ	καρδιακή ανεπάρκεια
ΚΑΝ	καρδιαγγειακή νόσος
ΚΣ	γλυκοκορτικοστεροειδή
ΜΣΑΦ	μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα
ΡΑ	Ρευματοειδής αρθρίτις
ΣΑΠ	συστολική αρτηριακή πίεση
ΣΔ	σακχαρώδης διαβήτης
ΤΚΕ	ταχύτης καθίζησης ερυθρών,
ΥΠ	υπέρταση

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1.	Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης [real time polymerase chain reaction (PCR)].....	34
Σχήμα 2.	Συμβατική PCR. Amplification curve	34
Σχήμα 3.	Amplification product	35
Σχήμα 4.	Διέγερση της φλουορεσκεΐνης από πηγή φωτός	35
Σχήμα 5.	FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer), ενεργειακή μεταφορά απο φλουορεσκεΐνη σε LC red	35
Σχήμα 6.	Καμπύλες τήξης: Οι ομοζυγότες χωρίς τη μετάλλαξη: θα έχουν μία κορυφή στις καμπύλες τήξης σε θερμοκρασία α (κόκκινο). Οι ετεροζυγότες για τη μετάλλαξη: θα έχουν δύο κορυφές στις καμπύλες τήξης, στις θερμοκρασίες α και β (πράσινο). Οι ομοζυγότες για τη μετάλλαξη: θα έχουν μία κορυφή στις καμπύλες τήξης στη θερμοκρασία β (μωβ).....	37
Σχήμα 7.	Ποσοστά ασθενών με PA, με αδιάγνωστη,αρρυθμιστη και ρυθμισμένη ΥΠ ανάλογα με την ηλικιακή ομάδα	47
Σχήμα 8.	Ποσοστά ασθενών με PA, με αδιάγνωστη,αρρυθμιστη και ρυθμισμένη ΥΠ ανάλογα με την κατηγορία ΔΑΣ.....	47
Σχήμα 9.	Επιπολασμός της ΥΠ για κάθε αύξηση κατα 1mg/dL του ουρικού οξέος ορού.....	54

ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.	Οδηγίες για την αντιμετώπιση της ΥΠ σε ασθενείς με PA	20
Πίνακας 2.	Αξιολόγηση του κινδύνου και οδηγίες για την έναρξη της αντιυπερτασικής θεραπείας στο γενικό πληθυσμό (συνεχής μαύρη γραμμή) και στους ασθενείς με PA (στικτή μαύρη γραμμή).....	21
Πίνακας 3.	Θεραπευτικοί στόχοι της αντιυπερτασικής θεραπείας στη PA.....	22
Πίνακας 4.	Δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης	46
Πίνακας 5.	Αντιυπερτασική θεραπεία σε ρυθμισμένους και αρρυθμιστους υπερτασικούς ασθενείς με PA.....	49

Πίνακας 6.	Λόγος αναλογιών (odds ratio, OR) για την εμφάνιση υπέρτασης για κάθε αύξηση κατά 1 mg/dL (59,48 μmolL^{-1}) του ουρικού οξέος του ορού σε ασθενείς με PA	55
Πίνακας 7.	Δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών που έλαβαν διαφορετικές δόσεις ΚΣ	59
Πίνακας 8.	Πολυμορφισμοί του γονιδίου της ET-1 σε ασθενείς με PA	63
Πίνακας 9.	Συχνότητες απλοτύπων του γονιδίου ET-1, που προέκυψαν με τη χρήση του προγράμματος Phase 2.0, μεταξύ ασθενών με PA και μαρτύρων	64
Πίνακας 10.	Δείκτες ΥΠ και παράγοντες κινδύνου μεταξύ των γονοτύπων των δύο SNPs του γονιδίου της ET-1 σε ασθενείς με PA	66
Πίνακας 11.	Αδρός και προσαρμοσμένος λόγος αναλογιών για την υπέρταση συγκρίνοντας τις γονοτυπικές ομάδες των πολυμορφισμών της ET-1 rs1800541 και rs5370 σε ασθενείς με PA	67
Πίνακας 12.	Συχνότητες απλοτύπων του γονιδίου της ET-1 όπως προέκυψαν με τη χρήση του προγράμματος Phase 2.0 μεταξύ νορμοτασικών και υπερτασικών ασθενών με PA	67
Πίνακας 13.	Διαφορές στις συχνότητες των γονοτύπων και των αλληλίων των πολυμορφισμών της IL-6 και του TGFβ1 μεταξύ των ασθενών με PA και των μαρτύρων	73
Πίνακας 14.	Δημογραφικά, χαρακτηριστικά της PA και παράγοντες κινδύνου ΥΠ ανάμεσα στις γονοτυπικές ομάδες των πολυμορφισμών της IL-6 και του TGFβ1	75
Πίνακας 15.	Δείκτες ΥΠ ανάμεσα στις γονοτυπικές ομάδες των πολυμορφισμών της IL-6 και του TGFβ1 σε όλους τους ασθενείς με PA καθώς και σε επιλεγμένους πληθυσμούς	76
Πίνακας 16.	Συχνότητες γονοτύπων και αλληλίων για τη σημειακή μετάλλαξη C825T του γονιδίου της β ₃ -υπομονάδας της G-πρωτεΐνης μεταξύ των μαρτύρων και των ασθενών με PA, σύμφωνα με το γένος	81
Πίνακας 17.	Δημογραφικά των γονοτύπων της σημειακής μετάλλαξης C825T του γονιδίου της β ₃ -υπομονάδας της G-πρωτεΐνης σε ασθενείς με PA	82
Πίνακας 18.	Δείκτες της υπέρτασης και χρήση αντι-υπερτασικών ανάμεσα στις γονοτυπικές ομάδες της σημειακής μετάλλαξης C825T του γονιδίου της β ₃ -υπομονάδας της G-πρωτεΐνης σε ασθενείς με PA	83
Πίνακας 19.	Εκτιμώμενες τιμές της συστολικής και διαστολικής πίεσης του αίματος σε κάθε γονοτυπική ομάδα της σημειακής μετάλλαξης C825T του γονιδίου της	

β_3 -υπομονάδας της G-πρωτεΐνης μετά από προσαρμογή για συγχετικούς
παράγοντες σε ασθενείς με ΡΑ 84

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή για μένα δεν αποτελεί μόνο ένα επιστημονικό κείμενο. Ήταν ένα ταξίδι, ένα νέο κεφάλαιο στη ζωή μου που μου έδειξε και έμαθε πολλά. Όπως το πως να ζεις και να επιβιώνεις μόνος σε μία ξένη χώρα, το πόσο πολύτιμοι είναι οι άνθρωποι γύρω σου (φίλοι και οικογένεια), το πόσο δύσκολο είναι να προσθέσεις νέα “evidence based” γνώση στην ιατρική αλλά ταυτόχρονα και πόσο κριτικά πρέπει να στέκεσαι απέναντί της.

Δεν έχω λόγια να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ. Κήτα Γεώργιο ο οποίος υπήρξε καθοδηγητής, μέντορας, πηγή έμπνευσης, μα πάνω από όλα ένας άνθρωπος που ήταν πάντα δίπλα μου στις δύσκολες στιγμές. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές μου κ. Ελισάφ Μωυσή για τη δυνατότητα που μου έδωσε να εκπονήσω την παρούσα διδακτορική διατριβή, και κ. Αλέξανδρο Δρόσο για την υποστήριξη που μου έδωσε συμμετέχοντας στην τριμελή επιτροπή της διατριβής μου καθώς και τον επίκουρο καθηγητή κ. Μηλιώνη Χαράλαμπο για την πολυτιμότερη συμβολή του στην ολοκλήρωση της παρούσας διδακτορικής διατριβής και την αμέριστη συμπαράσταση και καθοδήγησή του σε κάθε μου βήμα.

Θέλω επίσης να ευχαριστήσω τους πολύ στενούς μου φίλους και εξαιρετικούς συνεργάτες διδάκτορες Σταυρόπουλο-Καλίνογλου Αντώνη και Μέτσιο Γιώργο στους οποίους οφείλω τα πρώτα μου βήματα στην Αγγλία και ένα μεγάλο μέρος της επιστημονικής μου σκέψης, την Karen Douglas η οποία με μύησε στην τέχνη της συλλογής δεδομένων, την Jacqueline Smith χωρίς τη βοήθεια της οποίας δε θα μπορούσα να συλλέξω την πληθώρα των εργαστηριακών δεδομένων, την Tracey Toms που έφερε νέες ιδέες στην ομάδα και τον Κοροντζή Κωνσταντίνο, έναν εξαιρετικό φίλο και υποστηρικτή σε θέματα πληροφορικής. Στο σημείο αυτό θα ήθελα να κάνω μια ιδιαίτερη αναφορά στο Εμπειρικό Ίδρυμα το οποίο με υποστήριξε οικονομικά τα τρία αυτά χρόνια.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην οικογένεια μου, τη μητέρα μου Γρίβα Ευαγγελία και τον πατέρα μου Φωκά για υποστήριξη των επιλογών μου, την γιαγιά μου Ανδρομάχη που με τον ήρεμο λόγο της και την εμπειρία ζωής της με βοηθούσε να ισορροπώ στις δύσκολες καταστάσεις και τον παππού μου Βασίλη τα λόγια του οποίου θα ζούνε πάντα μέσα μου...

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΤΑΣΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ.....	5
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΠΙΕΣΗ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΡΑ.....	9
1. ΦΛΕΓΜΟΝΗ	9
2. ΕΛΛΕΙΨΗ ΦΥΣΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ.....	10
3. ΦΑΡΜΑΚΑ.....	11
3.1. Μη εκλεκτικά ΜΣΑΦ και Coxibs	11
3.2. DMARDs.....	14
3.3. Λεφλουνομίδη.....	14
3.4. Κυκλοσπορίνη.....	15
3.5. Βιολογική θεραπεία με χορήγηση παραγόντων έναντια στον παράγοντα νέκρωσης των όγκων (tumor necrosis factor, TNF) α και υπόλοιπα DMARDs	16
3.6. Γλυκοκορτικοστεροειδή (ΚΣ)	16
4. ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ	17
5. ΥΓΕΙΝΟΔΙΑΙΤΗΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ.....	18
ΙΔΙΑΙΤΕΡΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΤΑΣΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΡΑ	23
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	25

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	27
1. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	27
1.1. Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά.....	27
1.2. Λεπτομερής ανασκόπηση του ιστορικού, των χρησιμοποιούμενων φαρμάκων και των νοσοκομειακών αρχείων ..	28
1.3. Μέτρηση παραμέτρων αξιολόγησης της σοβαρότητας και της ενεργότητας της ρα	29
1.3.1. Ταχύτητα καθίζησης ερυθρών (ΤΚΕ) και μέθοδος προσδιορισμού της	29
1.3.2. CRP	29
1.3.3. Δείκτης ενεργότητας της νόσου-Disease activity score for 28 joint indices (DAS-28).....	29
1.3.4. Σοβαρότητα της νόσου-φυσιολογική λειτουργικότητα.....	30
1.3.5. Κυτταροκίνες.....	30
1.3.6. Ρευματοειδής παράγοντας (RF) και αντισώματα κατά κιτροαλλίνης (αντι-CCP)	30
1.4 Άλλες παράμετροι	30
1.4.1. Παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου	30
1.4.2 Εκτίμηση της νεφρικής λειτουργίας.....	32
1.4.3. Ουρικό οξύ	32
1.4.4 Ενδοθηλίνη ορού.....	32
2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ.....	33
2.1. Απομόνωση του DNA	33
2.2. Καθορισμός των γονοτύπων (Genotyping)	33
2.3. Συνθήκες καθεμίας από τις υπό μελέτη σημειακές μεταλλάξεις.....	37
2.3.1. Σημειακές μεταλλάξεις του γονιδίου της ενδοθηλίνης.....	37
2.3.2. Σημειακές μεταλλάξεις του γονιδίου του TGF-β1 rs1982073 (869 T/C).....	38
2.3.3. Σημειακές μεταλλάξεις του γονιδίου της IL-6 rs1800795 (-174G/C).....	39
2.3.4 Σημειακές μεταλλάξεις του γονιδίου της συνδετικής πρωτεΐνης του νουκλεοτιδίου γουανίνη GNB3 rs5443 (825C/T)	39
ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	41
1. ΜΟΝΟΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ	41
2. ΠΟΛΥΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ	41
3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΜΕΛΕΤΩΝ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ.....	42
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	45
1. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ	45
1.1. Εκτίμηση του επιπολασμού της ΥΠ και των παραγόντων που σχετίζονται με την ΑΠ και τη ρύθμισή της σε ασθενείς με ΡΑ.....	45
1.1.1. Αποτελέσματα.....	45
1.1.2. Συζήτηση	49
1.2. Συσχέτιση ΥΠ και ουρικού οξέος σε ασθενείς με ΡΑ.....	53

1.2.1. Εισαγωγή	53
1.2.2. Αποτελέσματα	53
1.2.3. Συζήτηση	54
1.3. Συσχέτιση της Θεραπείας με κορτικοστεροειδή με την εμφάνιση ΥΠ στους ασθενείς με PA	57
1.3.1. Εισαγωγή	57
1.3.2. Αποτελέσματα	57
1.3.3. Συζήτηση	58
2. ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ	62
2.1. Συσχέτιση των πολυμορφισμών του γονιδίου της ET-1 με την εμφάνιση ΥΠ σε ασθενείς με PA	62
2.1.1. Εισαγωγή	62
2.1.2. Αποτελέσματα	64
2.1.3. Συζήτηση	68
2.2. Συσχέτιση του πολυμορφισμού του TGF-β 869 T/C και της IL-6-174G/C με την εμφάνιση ΥΠ σε ασθενείς με PA	71
2.2.1. Εισαγωγή	71
2.2.2. Αποτελέσματα	72
2.2.3. Συζήτηση	74
2.3. Συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού του GNB3 C825T και της ΥΠ σε ασθενείς με PA	80
2.3.1. Εισαγωγή	80
2.3.2. Αποτελέσματα	81
2.3.3. Συζήτηση	84
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	87
SUMMARY	91
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	97

ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΤΑΣΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (ΡΑ) σχετίζεται με αυξημένη καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνησιμότητα [1], που αποδίδεται σε μια ποικιλία παραγόντων [2-6]. Μερικοί από τους παράγοντες αυτούς, όπως η υπέρταση (ΥΠ) [7-10], το κάπνισμα [11-13], η δυσλιπιδαιμία [14,15], και η αντίσταση στην ινσουλίνη [16,17], παρατηρούνται σχετικά συχνά στους ασθενείς με ΡΑ.

Η ΥΠ είναι ένας από τους πιο σημαντικούς τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου (ΚΑΝ) στο γενικό πληθυσμό [18]. Αφορά περίπου 1 δισεκατομμύριο άτομα παγκοσμίως [19], περίπου το 30% του ενήλικου πληθυσμού των Ηνωμένων Πολιτειών [20,21] και του Ηνωμένου Βασιλείου [22]. Η ΥΠ μπορεί να είναι ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου ΚΑΝ στην ΡΑ. Σημαντικός αριθμός μελετών σε ασθενείς με ΡΑ έδειξε ότι η παρουσία ΥΠ συσχετίζεται με υποκλινική αθηροσκλήρωση [7,23,24] και είναι ένας από τους πιο σημαντικούς ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου για ΚΑΝ (ο σχετικός κίνδυνος που αποδίδεται στην ΥΠ κυμαίνεται μεταξύ 1,49 και 4,3) [1,25,26]. Χρησιμοποιώντας δεδομένα από την μελέτη του Framingham στις Ηνωμένες Πολιτείες και την NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) III, οι Singh και συν. [27] έδειξαν ότι μια αύξηση της συστολικής πίεσης κατά 20 mmHg στους ασθενείς με ΡΑ θα είχε ως αποτέλεσμα την εκδήλωση 1572 επιπρόσθετων καρδιακών ισχαιμικών επεισοδίων και 602 αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων (ΑΕΕ) σε μια περίοδο ενός έτους.

Η επίδραση της ΥΠ στην εξέλιξη της ΚΑΝ φαίνεται να είναι παρόμοια σε ασθενείς με ΡΑ και σε άτομα που δεν πάσχουν από ΡΑ [28]. Ωστόσο, η θνητότητα από ΚΑΝ είναι υψηλότερη και ο αριθμός θανάτων που αποδίδεται στην ΥΠ είναι υψηλότερος στους ασθενείς με ΡΑ [29-31].

Ο επιπολασμός της ΥΠ μεταξύ των ασθενών με ΡΑ ποικίλει σε διάφορες μελέτες και κυμαίνεται από 3,8% [32] μέχρι 73% [33]. Λαμβάνοντας υπόψη το ιδιαίτερα ευρύ φάσμα τιμών επιπολασμού της ΥΠ, διενεργήσαμε μια συστηματική ανασκόπηση όλων

των μελετών που αναφέρονται στη συχνότητα της ΥΠ σε ασθενείς με ΡΑ. Στη συνέχεια επιχειρήσαμε να προτείνουμε δόκιμους θεραπευτικούς αλγόριθμους που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στην κλινική πράξη και να αποτελέσουν αντικείμενο διερεύνησης σε μεγάλες προοπτικές μελέτες.

Η αναζήτηση της σχετικής βιβλιογραφίας [34], έγινε με τη χρήση βάσεων δεδομένων: Medline, Cochrane Library, Cumulative Index to Nursing and Allied Health research database (CINAHL) και η Excerpta Medica database (EMBASE), για την ανεύρεση δημοσιεύσεων σχετικών με τη ΡΑ και την ΥΠ, από το 1990 μέχρι και το Νοέμβριο του 2007. Ο Ιατρικός όρος «ρευματοειδής αρθρίτιδα» εισήχθη σε συνδυασμό με την «υπέρταση» και την «αρτηριακή πίεση» (ΑΠ).

Η αρχική έρευνα απέδωσε 465 άρθρα (336 για «ρευματοειδή αρθρίτιδα» και «υπέρταση» και 129 άρθρα για «ρευματοειδή αρθρίτιδα» και «ΑΠ»). Ολόκληρα τα άρθρα αναζητηθήκαν προκειμένου να διαπιστωθεί αν πληρούσαν τα κατωτέρω κριτήρια: εάν μελετούσαν (i) τον επιπολασμό της ΥΠ στη ΡΑ, (ii) τους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΚΑΝ, συμπεριλαμβανομένης της ΥΠ ή (iii) τις αλλαγές της ΑΠ σε σχέση με κάθε παρέμβαση στη ΡΑ, σαν μέρος της μεθοδολογίας. Η τελική αναζήτηση απέδωσε 48 άρθρα από τα οποία τα δεκατρία αποκλείστηκαν λόγω έλλειψης στοιχείων σχετικά με τη συχνότητα της ΥΠ (ως κατηγορικής μεταβλητής) [8,35-46], ένα λόγω έλλειψης ορισμού της ΥΠ [47] και τρία διότι περιλάμβαναν ιδιαίτερους πληθυσμούς, επιλεγμένους με πολύ αυστηρά κριτήρια (νεοεμφανισθείσα στεφανιαία νόσος [48] και ασθενείς με ΡΑ που ξεκινούσαν θεραπεία με φάρμακα τροποποιητικά της νόσου (disease modifying anti-rheumatic drugs, DMARDs) [49] ή βιολογικούς παράγοντες [50]).

Το πολύ ευρύ φάσμα των αναφερόμενων επιπολασμών της ΥΠ στη ΡΑ μπορεί να αποδοθεί στη μελέτη διαφορετικών πληθυσμών, στην ποικιλία του μεγέθους των δειγμάτων, και στη χρήση διαφορετικών ορισμών για την ΥΠ. Όταν χρησιμοποιήθηκε ο σύγχρονος ορισμός της ΥΠ [51] (συστολική αρτηριακή πίεση (ΣΑΠ) ≥ 140 mmHg και / ή διαστολική αρτηριακή πίεση (ΔΑΠ) ≥ 90 mmHg και / ή χρήση αντιυπερτασικών φαρμάκων) ο επιπολασμός της ΥΠ στην ΡΑ, στις πιο μεγάλες μελέτες από μη επιλεγμένο πληθυσμό της κοινότητας, κυμαίνονταν από 52% έως 73% [28,33]. Η διακύμανση αυτή εξαρτάται από τη μέση ηλικία, η οποία κυμαίνεται από 51 έως 66 έτη. Σε μεγάλες μελέτες ασθενών με ΡΑ που παρακολουθούνται σε εξωτερικά ιατρεία 2βάθμιας περίθαλψης, με παρόμοια μέση ηλικία (56-61,5 ετών), ο επιπολασμός της ΥΠ είναι

ελαφρώς υψηλότερος (62-70,5%) [10,52,53]. Σε μια από αυτές τις μελέτες [53], ο επιπολασμός της ΥΠ (62%) θα ήταν υψηλότερη αν δεν αποκλείονταν οι ασθενείς που λάμβαναν αγωγή για υπερλιπιδαιμία και σακχαρώδη διαβήτη (ΣΔ).

Οι αναφορές στη βιβλιογραφία σχετικά με το αν ο επιπολασμός της ΥΠ είναι υψηλότερος σε ασθενείς με ΡΑ σε σχέση με το γενικό πληθυσμό είναι αντιφατικές [1,9,54,55]. Ορισμένες μελέτες υποστηρίζουν την ύπαρξη αυξημένης συχνότητας ΥΠ μεταξύ ασθενών με ΡΑ [7-9,33,36,39,43,47]. Σε μερικές, όμως, περιπτώσεις αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί στη μεγαλύτερη ηλικία των ασθενών με ΡΑ σε σχέση με την ομάδα ελέγχου [33,36,43] ή στην εσφαλμένη σύγκριση ασθενών με ΡΑ που παρακολουθούνται σε εξωτερικά ιατρεία νοσοκομείων με άτομα που προέρχονται από την κοινότητα [8].

Η πιο πειστική απόδειξη του αυξημένου επιπολασμού της ΥΠ στη ΡΑ, πηγάζει από μια μεγάλη μελέτη από τον Han και συν. που συμπεριέλαβε περισσότερους από 28.000 ασθενείς με ΡΑ και περίπου 113.000, αντίστοιχης ηλικίας υγείς (ομάδα ελέγχου). Στη μελέτη αυτή η συχνότητα της ΥΠ (σύμφωνα με την ταξινόμηση του International Classification of Diseases 9th Revision, Clinical Modification (ICD-9) code CM 401x [56]) ήταν σημαντικά ψηλότερη στην ΡΑ (34% έναντι 23,4%). Οι χαμηλότερες στο σύνολο τιμές στη μελέτη αυτή, σε σύγκριση με άλλες μελέτες, οφείλονται στο διαφορετικό ορισμό της ΥΠ (με βάση τη διάγνωση από τους θεράποντες ιατρούς) [56] και στο μικρότερο μέσο όρο ηλικίας των ατόμων που συμμετείχαν στις μελέτες.

Στην κλινική πράξη, τα επίπεδα της ΑΠ για τη διάγνωση ΥΠ είναι $\geq 140/90$ mmHg (έχοντας μετρήσει την ΑΠ τουλάχιστον σε 3-6 επισκέψεις, σε διάστημα τριών μηνών [57]), ($\geq 125/80$ mmHg προκειμένου για μετρήσεις με 24ωρη καταγραφή και $\geq 135/85$ mmHg για την ΑΠ, προκειμένου για αναφερόμενες μετρήσεις στο σπίτι από τον ίδιο τον ασθενή) [58]. Οι αλγόριθμοι για τη διάγνωση και την αντιμετώπιση βασίζονται κυρίως στις κλινικές μετρήσεις. Οι ευρωπαϊκές οδηγίες για την αντιμετώπιση της ΥΠ [European Society of Hypertension/European Society of Cardiology (ESH/ESC)] [58] και του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO) [59] είναι ουσιαστικά παρόμοιες, ενώ της Αμερικανικής Joint National Committee (JNC) [60] είναι ελαφρώς διαφορετικές, εισάγοντας τον όρο προ-υπέρταση για να περιλάβουν τη φυσιολογική ΑΠ και την ΑΠ «στα ανώτερα φυσιολογικά» επίπεδα και συγχωνεύοντας την 2^{ου} και 3^{ου} βαθμού ΥΠ σε ένα στάδιο. Αυτό στηρίχτηκε σε στοιχεία από τη μελέτη του Framingham [61,62], η οποία

έδινε ένα αυξημένο κίνδυνο μελλοντικής ανάπτυξης ΥΠ στα άτομα των τελευταίων ομάδων. Αυτή η ταξινόμηση δεν υιοθετήθηκε από την ESH/ESC [58] διότι θεωρήθηκε ότι χαρακτηρίζοντας φυσιολογικούς ανθρώπους ως «προ-υπερτασικούς» θα μπορούσε να οδηγήσει σε έναν αυξανόμενο αριθμό περιπτώσεων επισκέψεων και εξετάσεων [63].

Παρά τον αυξημένο επιπολασμό της ΥΠ και του αντίκτυπου των επιπλοκών της, ο έλεγχος της αυξημένης ΑΠ απέχει πολύ από το να θεωρηθεί επαρκής τόσο στο γενικό πληθυσμό [60,64-66] όσο και στους πάσχοντες από ΡΑ [10]. Τα μικρά ποσοστά ελέγχου της ΑΠ στο γενικό πληθυσμό (μόνο το ένα τρίτο των υπερτασικών ασθενών υπό θεραπεία ελέγχει αποτελεσματικά την ΑΠ) [67], αποδίδονται σε κοινωνικο-οικονομικούς παράγοντες, παράγοντες που σχετίζονται με τη θεραπεία, καθώς και στην έλλειψη συμμόρφωσης στη μακροχρόνια θεραπεία μιας συνήθως ασυμπτωματικής κατάστασης.

Σε μια πρόσφατη μελέτη [10], το ποσοστό ρύθμισης της ΥΠ σε ασθενείς με ΡΑ ήταν σημαντικά χαμηλότερο σε σύγκριση με το γενικό πληθυσμό (13,2% vs. 21-23%) [65]. Η αρρυθμιστή ΥΠ συσχετίζεται με πρώιμη εμφάνιση ΚΑΝ (20), αυξημένο κίνδυνο στεφανιαίας νόσου [68,69], καρδιακής ανεπάρκειας (ΚΑ) (23), ΑΕΕ [69] και περιφερικής αρτηριακής νόσου. Η υπερτροφία της αριστερής κοιλίας (ΥΑΚοιλ.), μια άμεση συνέπεια της μακροχρόνιας αύξησης του μεταφόρτιου εξαιτίας της ΥΠ, σχετίζεται με αυξημένα ποσοστά ΚΑ, κοιλιακών αρρυθμιών, θανατηφόρων εμφραγμάτων του μυοκαρδίου και αιφνίδιων θανάτων καρδιακής αιτιολογίας. Στο γενικό πληθυσμό, η αντι-υπερτασική θεραπεία οδηγεί σε μείωση κατά 40% των ΑΕΕ, κατά 20% των εμφραγμάτων του μυοκαρδίου και περισσότερο από 50% της ΚΑ [70]. Το γεγονός αυτό τονίζει τη σημασία της αποτελεσματικής ρύθμισης της ΑΠ, σε όλες τις ειδικές ομάδες του πληθυσμού, συμπεριλαμβανομένων και των ασθενών με ΡΑ.

Μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν τυχαίοποιημένες μελέτες σχετικά με την αντιμετώπιση της ΥΠ ή της εκτίμησης του κλινικού οφέλους από τη ρύθμιση της ΥΠ σε ασθενείς με ΡΑ. Στις επόμενες παραγράφους, επιχειρούμε να συζητήσουμε τους παράγοντες που δυνητικά επηρεάζουν την ΑΠ σε ασθενείς με ΡΑ, με έμφαση στη φλεγμονή, την έλλειψη σωματικής δραστηριότητας και στην ειδική φαρμακευτική αγωγή.

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΠΙΕΣΗ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ

1. ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Η πρώτη ένδειξη ύπαρξης συσχέτισης της παρουσίας ΥΠ και της υποκλινικής συστηματικής φλεγμονής προήλθε από μελέτες στο γενικό πληθυσμό. Συγκεκριμένα, συγχρονικές (cross-sectional) μελέτες έδειξαν ότι τα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) υψηλής ευαισθησίας είναι υψηλότερα στους υπερτασικούς [71-76]. Σε μια προοπτική μελέτη βρέθηκε ότι τα αυξημένα επίπεδα hs-CRP σχετίζονταν με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΥΠ [77]. Μια μελέτη σε ένα δείγμα ασυμπτωματικών ατόμων του γενικού πληθυσμού [78] έδειξε ότι η hs-CRP σχετίζεται αρνητικά με την ελαστικότητα των μεγάλων αρτηριών με αποτέλεσμα την αύξηση της ΣΑΠ. Πράγματι, οι ασθενείς με ΡΑ εμφανίζουν μειωμένη ελαστικότητα των μικρών και των μεγάλων αρτηριών και αύξηση των περιφερικών αντιστάσεων [79]. Τέλος, τα χρόνια φλεγμονώδη νοσήματα, συμπεριλαμβανομένης και της ΡΑ, έχουν συσχετισθεί με αυξημένη σκλήρυνση του αρτηριακού τοιχώματος [32,80,81], που ακολούθως μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της ΑΠ [82] και η οποία εν μέρει να εξηγήσει την παρουσία ΥΠ στη ΡΑ.

Υπάρχουν αρκετοί μηχανισμοί με τους οποίους η συστηματική φλεγμονή (όπως αντανακλάται στα υψηλά επίπεδα της hsCRP) μπορεί να συμβάλλει στην εμφάνιση ΥΠ. Τα αυξημένα επίπεδα hsCRP συσχετίζονται με μείωση της σύνθεσης του νιτρικού οξειδίου στα ενδοθηλιακά κύτταρα (ΕΚ), την πρόκληση αγγειοσύσπασης, αύξηση της παραγωγής ενδοθηλίνης-1 (ET-1) [83,84], διέγερση της προσκόλλησης των λευκοκυττάρων, ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, ευόδωση των μηχανισμών της οξειδωσης και της θρόμβωσης [85]. Επιπρόσθετα, η CRP επάγει τη σύνθεση του αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1), που είναι αυξημένος σε ασθενείς με ΥΠ [86,87] και μπορεί να συμβάλει σε διαταραχές ινωδογονόλυσης και στην αθηροθρόμβωση [84,88]. Η CRP, επίσης, διεγείρει την έκφραση του υποδοχέα τύπου-1 της αγγειοτενσίνης, επηρεάζοντας το σύστημα ρεννίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης με αποτέλεσμα την αύξηση της ΑΠ [89].

Αντιστρόφως, η υψηλή ΑΠ θεωρείται ότι μπορεί να προκαλέσει αύξηση της έκφρασης των μορίων προσκόλλησης και των γονιδίων της φλεγμονής από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και να ενεργοποιήσει τον καταρράκτη της φλεγμονής στο αρτηριακό τοίχωμα [90], συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών. Αυτές εισέρχονται στη συστηματική κυκλοφορία και ακολούθως μπορούν να προκαλέσουν μια απάντηση οξείας φάσης, (που συσχετίζεται με αύξηση της CRP) [91]

Η σχέση μεταξύ της συστηματικής φλεγμονής και της ΑΠ δεν έχει διερευνηθεί σε βάθος στη ΡΑ. Σε μια πρόσφατη συγχρονική (cross-sectional) μελέτη [10] δεν τεκμηριώθηκε σημαντική διαφορά στην ενεργότητα και τη βαρύτητα της ΡΑ μεταξύ των υπερτασικών και νορμοτασικών ασθενών με ΡΑ. Είναι ενδιαφέρον ότι η μακροχρόνια (>6 μήνες), καθημερινή, από του στόματος λήψη πρεδνιζολόνης $\geq 7,5$ mg είχε στατιστικά σημαντική και ανεξάρτητη συσχέτιση με την εμφάνιση ΥΠ [92]. Λαμβάνοντας υπόψη το σχεδιασμό της μελέτης, δεν είναι δυνατή η τεκμηρίωση μιας αιτιώδους σχέσης μεταξύ της μακροχρόνιας χρήσης γλυκοκορτικοστεροειδών και ΥΠ. Επιπρόσθετα, δεν μπορεί κανείς να ισχυριστεί ότι αυτή η συσχέτιση αντανακλά απλά και μόνο μια συσχέτιση μεταξύ των σοβαρών περιπτώσεων της ΡΑ (που είναι πιθανότερο να αντιμετωπιστούν με στεροειδή) και της ΥΠ. Μέχρι σήμερα παραμένει αδιευκρίνιστο κατά πόσον η αποτελεσματική μείωση της ενεργότητας της νόσου στους ασθενείς με ΡΑ μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο εμφάνισης ΥΠ στους νορμοτασικούς και να συμβάλλει στο καλύτερο έλεγχο της ΑΠ στους υπερτασικούς. Απαιτούνται μακροπρόθεσμες προοπτικές μελέτες για να δώσουν απάντηση σε αυτά τα ερωτήματα.

2. ΕΛΛΕΙΨΗ ΦΥΣΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ

Μια προοπτική μελέτη στην οποία συμμετείχαν άνδρες, απόφοιτοι του Πανεπιστημίου του Χάρβαρντ και η οποία άρχισε στη δεκαετία του 1960, έδειξε ότι η έλλειψη σχετικά έντονης αθλητικής δραστηριότητας, η παχυσαρκία και το οικογενειακό ιστορικό ΥΠ (γονείς με ΥΠ) συσχετίζονταν ανεξάρτητα με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΥΠ [93]. Ορισμένες κλινικές εκδηλώσεις της ΡΑ, όπως ο πόνος, η δυσκαμψία και η μόνιμη βλάβη των αρθρώσεων [94], μπορούν να οδηγήσουν σε μείωση της σωματικής δραστηριότητας [99]. Επιπλέον, ο φόβος ότι η ασθένεια θα επιδεινωθεί και ο περιορισμός της άσκησης που συστήνεται συχνά (και αδικαιολόγητα) από τους

ρευματολόγους, αποτελούν επιπρόσθετους παράγοντες που συμβάλλουν για την επιλογή ενός καθιστικού τρόπου ζωής από πολλούς ασθενείς με RA [95]. Η σωματική αδράνεια έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη παχυσαρκίας [96], η οποία είναι ιδιαίτερα συχνή [97] και σχετίζεται ανεξάρτητα με την εμφάνιση ΥΠ σε ασθενείς με RA [10].

Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι ακόμη και η ήπια σωματική άσκηση, όπως το να πάει κανείς με τα πόδια στη δουλειά, μειώνει σημαντικά την επίπτωση της ΥΠ [98]. Αυτό θα μπορούσε να συστηθεί στους ασθενείς με RA ως μέρος ενός «υγιεινού τρόπου διαβίωσης» [99]. Η συμμετοχή τους σε οργανωμένα προγράμματα άσκησης μπορεί να παρέχει σαφώς μεγαλύτερα κλινικά οφέλη [100]. Στις πρόσφατες οδηγίες του Αμερικανικού Κολλεγίου Ρευματολογίας (American College of Rheumatology ACR) [101] καθίσταται σαφές ότι η έντονη άσκηση είναι μια ασφαλής και αποτελεσματική παρέμβαση για τους ασθενείς με RA με πρόσφατη έναρξη νόσου [102], καθώς και για εκείνους με μακροχρόνια ενεργή [103] ή ανενεργή [108] νόσο.

3. ΦΑΡΜΑΚΑ

Η πολυφαρμακία αποτελεί χαρακτηριστικό των ασθενών που πάσχουν από RA [104]. Πολλά από τα φάρμακα που συνήθως χρησιμοποιούνται στη θεραπεία της RA μπορούν να αυξήσουν τα επίπεδα της ΑΠ ή να παρεμποδίσουν την αποτελεσματική ρύθμιση της ΥΠ. Αυτά περιλαμβάνουν τα μη εκλεκτικά μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ), τους αναστολείς της κυκλοξυγενάσης II (coxibs), τα γλυκοκορτικοστεροειδή (ΚΣs) και μερικά DMARDs.

3.1. Μη εκλεκτικά ΜΣΑΦ και Coxibs

Δεδομένου ότι τα μη εκλεκτικά ΜΣΑΦ και οι coxibs χρησιμοποιούνται συνήθως στη RA, η χορήγησή τους πρέπει να γίνεται με προσοχή, ιδιαίτερα στους ασθενείς με προϋπάρχουσα ΥΠ, έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας και στους ηλικιωμένους, στους οποίους οι παρενέργειες είναι συχνότερες και εντονότερες [105]. Τα τελευταία χρόνια, η συσχέτιση της θεραπείας με μη εκλεκτικά ΜΣΑΦ/coxibs με δυσμενείς καρδιαγγειακές εκβάσεις έχει αποτελέσει το αντικείμενο αντιπαραθέσεων στη βιβλιογραφία [106-109]. Στην παρούσα ανασκόπηση, επικεντρώσαμε το ενδιαφέρον μας μόνο στις δημοσιεύσεις

που αφορούν τη χορήγηση μη εκλεκτικών ΜΣΑΦ/coxibs σε σχέση με την αύξηση της ΑΠ και τον έλεγχο της ΥΠ σε ασθενείς με ΡΑ.

Μια πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση τυχαιοποιημένων μελετών [110], με ασθενείς που λάμβαναν μη εκλεκτικά ΜΣΑΦ για τουλάχιστον 4 εβδομάδες, έδειξε σημαντική αύξηση της ΑΠ στους ασθενείς που πήραν ιβουπροφαίνη (ΣΑΠ/ΔΑΠ: 3,54/1,16 mmHg) και ινδομεθακίνη (ΣΑΠ/ΔΑΠ: 2,9/1,58 mmHg) σε σύγκριση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου. Οι μεταβολές της ΣΑΠ δεν ήταν στατιστικά σημαντικές στην περίπτωση της ναπροξένης, της σουλινδάκης και ναβουμετόνης. Σε μια μεγάλη μετα-ανάλυση των επιπτώσεων των μη εκλεκτικών ΜΣΑΦ στην ΑΠ, αποδείχθηκε πως αυτή η κατηγορία φαρμάκων αυξάνει την ΑΠ κατά 5 mmHg [95% confidence interval (CI), 1,2-8,7 mmHg] [111]. Αυτό θα ήταν ικανό να προκαλέσει μια αύξηση κατά 15% στον κίνδυνο ΚΑΝ και κατά 67% του κινδύνου εμφάνισης ΑΕΕ [112]. Πράγματι, η πιροξικάμη, η ινδομεθακίνη και η ναπροξένη προκάλεσαν τις μεγαλύτερες αυξήσεις της ΑΠ, ενώ η ασπιρίνη (σε αντιφλεγμονώδεις δόσεις), η σουλινδάκη και φλουρβιπροφαίνη τις μικρότερες. Βρέθηκε ότι η υπερτασική δράση των μη εκλεκτικών ΜΣΑΦ είναι πιο έντονη στους υπό αγωγή υπερτασικούς ασθενείς σε σχέση με τα νορμοτασικά άτομα [111].

Πολλές μελέτες έδειξαν ότι τα μη εκλεκτικά ΜΣΑΦ μειώνουν την αντιυπερτασική δράση των διουρητικών [111,113,114], των β-αποκλειστών [111,114], των αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου (α-ΜΕΑ) [115,116], των αποκλειστών των υποδοχέων της αγγιοτενσίνης II (angiotensin II receptor blockers, ARBs) [115] και άλλων αγγειοδιασταλτικών παραγόντων, όπως της πραζοσίνης [111,117]. Ωστόσο, τα μη εκλεκτικά ΜΣΑΦ δεν έχουν καμία επίδραση στην μείωση της ΑΠ που επιτυγχάνεται από τους αναστολείς των διαύλων ασβεστίου (calcium channel blockers CCBs) [118,119], οι οποίοι ως εκ τούτου μπορεί να είναι η πιο κατάλληλη επιλογή αντιυπερτασικού εάν απαιτείται η χορήγηση ενός μη εκλεκτικού ΜΣΑΦ.

Παρόμοια ισχύουν και για τις coxibs. Σύμφωνα με τις βρετανικές κατευθυντήριες οδηγίες (National Institute of Health and Clinical Excellence (NICE) guidance), αυτά τα φάρμακα δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται συστηματικά στους ασθενείς με ΡΑ ή οστεοαρθρίτιδα [120]. Προτιμώνται έναντι των μη εκλεκτικών ΜΣΑΦ σε ασθενείς «υψηλού κινδύνου» εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών από το γαστρεντερικό, ενώ συνιστάται να αποφεύγονται σε ασθενείς με συνυπάρχουσα ΚΑΝ [120].

Σε μια μετα-ανάλυση [121] που συνέκρινε τη δράση των coxibs (celecoxib, rofecoxib και etoricoxib) στην ΑΠ σε σύγκριση με ένα μη εκλεκτικό ΜΣΑΦ (ναπροξένη) και με εικονικό φάρμακο (placebo), ο σχετικός κίνδυνος εμφάνισης ΥΠ ήταν υψηλότερος, αλλά όχι στατιστικά σημαντικός για τις coxibs έναντι του μη εκλεκτικού ΜΣΑΦ ή του placebo. Με τη χρήση των coxibs, φαίνεται να υπάρχει μια δυσανάλογη αύξηση της ΣΑΠ έναντι της ΔΑΠ [122]. Φαίνεται ότι η rofecoxib προκαλεί μεγαλύτερη αύξηση της ΑΠ έναντι της celecoxib ή της etoricoxib [123-125].

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μιας πρόσφατης μετανάλυσης του Zhang και συν. [126], μόνο η ροφεκοξίμπη οδήγησε στην εμφάνιση ΥΠ (σχετικός κίνδυνος, RR=1,55 95%CI 1,29-1,85), σε αντίθεση με τη θεραπεία με celecoxib που συσχετίστηκε με χαμηλότερο κίνδυνο ΥΠ (RR=0.83, 95%CI 0.71-0.97). Για τα υπόλοιπα φάρμακα (valdecoxib/parecoxib, etoricoxib και lumiracoxib) δεν αναδείχθηκε κάποια σημαντική συσχέτιση [126].

Άλλες μελέτες που εστιάστηκαν στην επίδραση των μη εκλεκτικών ΜΣΑΦ και των coxibs στις διακυμάνσεις της 24ωρης καταγραφής της ΑΠ, έδειξαν πάλι σημαντικές αυξήσεις στη ΣΑΠ στην ομάδα των ασθενών που έπαιρναν ροφεκοξίμπη, αλλά όχι σε εκείνους που έπαιρναν celecoxib ή ναπροξένη [127].

Εν συντομία, τα μέχρι σήμερα δεδομένα και η κοινή λογική υποστηρίζουν ότι τα μη εκλεκτικά ΜΣΑΦ και οι coxibs έχουν κατά ένα μεγάλο μέρος παρόμοιες επιδράσεις στον έλεγχο της ΑΠ και τη νεφρική λειτουργία, και η χρήση τους στη ΡΑ πρέπει να αποφεύγεται. Σχετική αντένδειξη για τη χορήγηση αυτών των φαρμάκων αποτελούν οι καταστάσεις με μειωμένο ενδοαγγειακό όγκο ή περιφερικά οιδήματα, όπως η συμφορητική ΚΑ, το νεφρωσικό σύνδρομο ή η κίρρωση του ήπατος, καθώς και ανεύρεση επιπέδων κρεατινίνης ορού $\geq 2,5$ mg/dL [128]. Η Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία (American Heart Association, AHA) [129] συστήνει στους ασθενείς με γνωστή ΚΑΝ (ή σε κίνδυνο για στεφανιαία νόσο) που έχουν παράλληλα μυοσκελετικά προβλήματα, ότι πρέπει να δοκιμαστεί πρώτα το λιγότερο επικίνδυνο φάρμακο (ακεταμινοφαίνη, ακετυλσαλικυλικό οξύ, tramadol, βραχείας δράσης ναρκωτικά αναλγητικά) και στη συνέχεια ΜΣΑΦ εφόσον τα προηγούμενα δεν είναι αποτελεσματικά (κατά σειρά προτίμησης: μη κυκλο-οξυγενάση-2 εκλεκτικά ΜΣΑΦ > ΜΣΑΦ με ενός βαθμού δραστηριότητα COX-2 > COX-2 εκλεκτικά ΜΣΑΦ). Τονίζεται ότι η αποτελεσματική ανακούφιση του πόνου που επιτυγχάνεται μπορεί να αποβεί σε βάρος μιας μικρής, αλλά

πραγματικής αύξησης του κινδύνου εμφάνισης καρδιο- ή εγκεφαλο- αγγειακών επιπλοκών.

Προτείνουμε ότι εφόσον η χρήση ενός ΜΣΑΦ κρίνεται απολύτως αναγκαία, πρέπει να ελέγχονται στενά η ΑΠ (και η νεφρική λειτουργία) και στις περιπτώσεις εμφάνισης ΥΠ ή απορρύθμισης προϋπάρχουσας ΥΠ, οι αναγωνιστές ασβεστίου αποτελούν αντιυπερτασική θεραπεία εκλογής.

3.2. DMARDs

Μερικά από τα DMARDs μπορούν να οδηγήσουν στην εμφάνιση ΥΠ, ενώ η ταυτόχρονη χορήγηση ΜΣΑΦ/coxibs ή/και γλυκοκορτικοστεροειδών (ΚΣ) μπορεί να επιδεινώσει περαιτέρω την υπερτασική τους δράση.

3.3. Λεφλουνομίδη

Εμφάνιση ΥΠ που σχετίζεται με τη λεφλουνομίδη αναφέρεται στο 2-4,7% των ατόμων που παίρνουν το φάρμακο [130-132], χωρίς επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας. Έχει αποδειχθεί, ότι σε ασθενείς που παίρνουν ΜΣΑΦ σε σταθερές δόσεις και κορτικοστεροειδή, παρατηρείται αύξηση της ΣΑΠ και της ΔΑΠ τις πρώτες 2-4 εβδομάδες από την έναρξη θεραπείας με λεφλουνομίδη [133].

Η λεφλουνομίδη μπορεί να προκαλέσει αύξηση της ΑΠ με δύο κυρίως μηχανισμούς:

1. Διεγείρει τη δραστηριότητα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος με αποτέλεσμα την αύξηση των περιφερικών αντιστάσεων
2. Στον εντερικό βλεννογόνο και το πλάσμα μετατρέπεται στον ενεργό μεταβολίτη της malononitrilamide A77 1726. Ο τελευταίος έχει μεγάλη τάση να συνδέεται με τις πρωτεΐνες του πλάσματος [134] και κατά συνέπεια εκτοπίζει ουσίες με υψηλή πρωτεϊνική δέσμευση, όπως η δικλοφενάκη και η ιβουπροφαίνη, αυξάνοντας έτσι το ποσοστό του ελεύθερου και βιολογικά δραστικού κλάσματός τους στο πλάσμα. Το αυξημένο ελεύθερο κλάσμα των ΜΣΑΦ οδηγεί σε μειωμένη νεφρική ροή αίματος και κατά συνέπεια σε κατακράτηση άλατος και ύδατος [135] και τελικά στην εμφάνιση ΥΠ.

Σύμφωνα με τις οδηγίες της Βρετανικής Ρευματολογικής εταιρείας [British Society for Rheumatology (BSR)] [136] συνιστάται να διενεργούνται μετρήσεις της ΑΠ ανά

δεκαπενθήμερο για τους πρώτους 6 μήνες της θεραπείας με λεφλουνομίδη και στη συνέχεια κάθε 2 μήνες. Αν και η λεφλουνομίδη δεν αντενδείκνυται σε ασθενείς με ΥΠ, πρέπει να προτιμούνται άλλα DMARD. Εάν η ΥΠ εμφανίζεται λίγο μετά την έναρξη της αγωγής με λεφλουνομίδη, μπορεί να χρειαστεί μείωση της δόσης ή διακοπή της θεραπείας ή ακόμη και χορήγηση αντιυπερτασικής θεραπείας για τον έλεγχο της ΥΠ εφόσον η θεραπεία με λεφλουνομίδη κρίνεται απαραίτητη.

3.4 Κυκλοσπορίνη

Η θεραπεία με κυκλοσπορίνη συνοδεύεται από ποικίλες ανεπιθύμητες ενέργειες, όπως η εμφάνιση ΥΠ και η νεφροτοξικότητα [137-142] και αντενδείκνυται σε ανθρώπους με επηρεασμένη νεφρική λειτουργία ή αρρυθμιστή ΥΠ [136].

Οι μηχανισμοί που έχουν προταθεί για να εξηγήσουν την εμφάνιση ΥΠ από τη χορήγηση θεραπείας με κυκλοσπορίνη [143,144] συμπεριλαμβάνουν:

- (i) την αύξηση των περιφερικών αγγειακών αντιστάσεων ως αποτέλεσμα της γενικευμένης αγγειοσύσπασης εξαιτίας των αυξημένων επιπέδων ενδοθηλίνης,
- (ii) τη μείωση της αγγειοδιαστολής λόγω μείωσης των επιπέδων του νιτρικού οξειδίου ή της ανασταλτικής της δράσης στις αγγειοδιασταλτικές προσταγλανδίνες, όπως η προστακυκλίνη,
- (iii) την αγγειοσύσπαση στο επίπεδο της νεφρικής κυκλοφορίας με συνέπεια τη μείωση της πειραματικής διήθησης και την κατακράτηση νατρίου.

Μετά από την έναρξη της αγωγής με κυκλοσπορίνη, συνιστάται η μέτρηση των επιπέδων της κρεατινίνης του ορού και των τιμών της ΑΠ ανά δεκαπενθήμερο μέχρις ότου η δόση σταθεροποιηθεί για 3 μήνες, ενώ στη συνέχεια η παρακολούθηση γίνεται ανά μήνα. Η αύξηση της κρεατινίνης του ορού κατά 30% απαιτεί επείγουσα προσαρμογή της δόσης του φαρμάκου ή ακόμα και τη διακοπή της θεραπείας [145].

Η εμφάνιση ΥΠ κατά τη διάρκεια θεραπείας με κυκλοσπορίνη απαιτεί επίσης εφαρμογή ορισμένων μέτρων: Οι ανταγωνιστές ασβεστίου, με την εξαίρεση της διλτιαζέμης, της βεραπαμίλης και της νικαρδιπίνης (που αυξάνουν τα επίπεδα κυκλοσπορίνης πλάσματος), είναι τα φάρμακα εκλογής δεδομένου ότι ανταγωνίζονται την αγγειοσυσπαστική της δράση και ελέγχουν αποτελεσματικά την ΥΠ [146]. Η μείωση της δόσης κυκλοσπορίνης ή ακόμα και η πλήρης διακοπή μπορεί να είναι απαραίτητη σε περιπτώσεις ανθεκτικής ΥΠ.

3.5 Βιολογική θεραπεία με χορήγηση παραγόντων ενάντια στον παράγοντα νέκρωσης των όγκων (tumor necrosis factor, TNF) α και υπόλοιπα DMARD

Η επίδραση των βιολογικών παραγόντων κατά του TNF-α στον καρδιαγγειακό κίνδυνο δεν είναι ακόμα γνωστή [147,148]. Δεν υπάρχει καμία αναφορά εμφάνισης ΥΠ σε συνδυασμό με παράγοντες αντι-TNF-α. Σε μια ομάδα ασθενών με ΡΑ έχει αναφερθεί ότι αυτοί οι παράγοντες μπορεί να προκαλέσουν ή να επιδεινώσουν την ΚΑ [149].

Ορισμένα DMARDs έχει βρεθεί ότι έχουν ευνοϊκά αποτελέσματα στους παράγοντες κινδύνου για ΚΑΝ και επομένως μπορεί να είναι κατάλληλα για την αντιμετώπιση υπερτασικών ασθενών με ΡΑ. Για παράδειγμα, η υδροξυχλωροκίνη έχει βρεθεί ότι βελτιώνει το προφίλ των λιπιδίων του ορού [150-152] και κατά συνέπεια θα μπορούσε να βελτιώσει ένα παράγοντα κινδύνου [153] στους ασθενείς με ΡΑ. Ωστόσο, αυτό παραμένει να αποδειχθεί.

3.6 Γλυκοκορτικοστεροειδή (ΚΣ)

Στο γενικό πληθυσμό, η χορήγηση αυξημένων δόσεων ΚΣ από του στόματος ($\geq 7,5$ mg/day) έχει σχετιστεί με αυξημένα ποσοστά εμφραγμάτων του μυοκαρδίου, ΑΕΕ, ανακοπής, ΚΑ, καθώς και της συνολικής θνησιμότητας [154,155]. Ωστόσο, η ταυτόχρονη παρουσία διαφόρων συγχυτικών παραγόντων μπορεί να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο και κατά συνέπεια τα αποτελέσματα των μελετών παρατήρησης πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή.

Αν και είναι ευρέως αποδεκτό ότι η θεραπεία με ΚΣ μπορεί να αυξήσει την ΑΠ τόσο στους νορμοτασικούς όσο και στους υπερτασικούς, τα βιβλιογραφικά δεδομένα που αφορούν αυτό το θέμα είναι περιορισμένα και οι πιθανοί μηχανισμοί δεν είναι καλά κατανοητοί [156,157]. Τα επίπεδα της ενδογενούς κορτιζόλης πλάσματος ή ούρων είναι αυξημένα στα υπερτασικά άτομα [158,159]. Επιπρόσθετα, υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ της κορτιζόλης του πλάσματος και της εμφάνισης ΥΠ της «λευκής μπλούζας» [160].

Οι περισσότερες από τις ανασκοπήσεις σχετικά με τις ανεπιθύμητες ενέργειες των ΚΣ [161-163] ή τους μηχανισμούς διαμέσου των οποίων τα ΚΣ προκαλούν ΥΠ [164], παραπέμπουν σε πολύ παλιές αναφορές [165-167]. Ο σχεδιασμός αυτών των μελετών δεν παρέχει επαρκή απόδειξη της ύπαρξης μιας τέτοιας συσχέτισης. Αυτή η έλλειψη δεδομένων επισημαίνεται στις οδηγίες της European League Against Rheumatism

(EULAR) σχετικά με τη στρατηγική της συστηματικής θεραπείας με γλυκοκορτικοστεροειδή στη ρευματική νόσο [168]. Συγκεκριμένα, στη σύσταση αριθ. 5, που αναφέρεται στον έλεγχο της ΑΠ, οι συντάκτες δηλώνουν ότι «δεν υπάρχει καμιά άμεση απόδειξη από κατάλληλα σχεδιασμένες μελέτες που να υποστηρίζει αυτή την πρόταση (κατηγορία IV)».

Η εμφάνιση ΥΠ που αποδίδεται στη θεραπεία με ΚΣ είναι πολυπαραγοντική [156,157]. Τα ΚΣ αναστέλλουν τη δράση της κατεχολ-ο-μεθυλτρανσφεράσης (ενός ενζύμου που εμπλέκεται στο μεταβολισμό της νοραδρεναλίνης) και αυξάνουν τα επίπεδα της νοραδρεναλίνης στη συναπτική σχισμή [169,170]. Επιπρόσθετα, αυξάνουν τον αριθμό α-1 αδρενεργικών υποδοχέων [171] με αποτέλεσμα την αύξηση της ευαισθησίας των περιφερικών αγγείων στη δράση των αδρενεργικών αγωνιστών. Έχει βρεθεί ότι τα ΚΣ αυξάνουν την παραγωγή αγγειοτενσινογόνου από το λιπώδη ιστό [172] και αναστέλλουν την παραγωγή προσταγλανδινών με αποτέλεσμα την κατακράτηση νατρίου από τους νεφρούς και την αύξηση του κυκλοφορούντος δραστικού όγκου [173].

Τα μέχρι σήμερα δεδομένα συγκλίνουν στη χορήγηση ΚΣ σε χαμηλές δόσεις (< 7,5 mg πρεδνιζολόνη ημερησίως) ώστε να μην προκαλούν κλινικά σημαντική αύξηση της ΑΠ [92,174]. Οι ασθενείς με ΡΑ που πρέπει να πάρουν υψηλότερες δόσεις πρεδνιζολόνης πρέπει να ελέγχονται τακτικά για την εμφάνιση ΥΠ και να θεραπεύονται αποτελεσματικά με τη χορήγηση αντιυπερτασικών.

4. ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ

Η αλληλεπίδραση μεταξύ περιβαλλοντολογικών και γενετικών παραγόντων καθιστά την ανεύρεση γενετικών πολυμορφισμών, που σχετίζονται με την εμφάνιση ΥΠ, ένα ιδιαίτερα δύσκολο εγχείρημα. Βασική αιτία της αποτυχίας μεγάλων μελετών γονιδιακής συσχέτισης [genome-wide association (GWA)] [175] να εντοπίσουν γενετικούς πολυμορφισμούς που να σχετίζονται με την ΥΠ στον γενικό πληθυσμό αποτελεί η έλλειψη δεδομένων για την επίδραση διαφόρων περιβαλλοντολογικών παραγόντων στην έκφραση των πολυμορφισμών. Στην παρούσα διδακτορική διατριβή, επιχειρήσαμε να μελετήσουμε γενετικούς πολυμορφισμούς που σχετίζονται με τη ρύθμιση του τόνου του τοιχώματος των αγγείων, καθώς και με τη ρύθμιση των παραγόντων της φλεγμονής στους ασθενείς με ΡΑ.

Είναι γνωστό ότι η υποκλινική αγγειακή νόσος, που χαρακτηρίζεται από δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, αυξημένο πάχος του διάμεσου χιτώνα της καρωτίδας και μειωμένη ελαστικότητα του αρτηριακού τοιχώματος, είναι ένα συχνό εύρημα από τα πρώτα κιάλας στάδια της ΡΑ. Κατά συνέπεια, υποθέσαμε πως οι γενετικοί πολυμορφισμοί που ρυθμίζουν τον αγγειακό τόνο, μπορεί να σχετίζονται πολύ πιο ισχυρά με την ΥΠ σε ασθενείς με ΡΑ παρά σε άτομα του γενικού πληθυσμού.

Όπως αναφέρθηκε, μέρος της δυσμενούς επίδρασης της αυξημένης συστηματικής φλεγμονής στο καρδιαγγειακό σύστημα των ασθενών με ΡΑ επιτελείται μέσω αύξησης της ΑΠ. Γενετικοί πολυμορφισμοί των γονιδίων της ιντερλευκίνης (IL) 6 (μιας προφλεγμονώδους κυτταροκίνης) και του αντιφλεγμονώδους μετατρεπτικού αυξητικού παράγοντα β1 [transforming growth factor (TGF) β1] έχουν συσχετιστεί με την εμφάνιση ΥΠ σε κάποιες, αλλά όχι σε όλες, τις μελέτες στο γενικό πληθυσμό. Υποθέσαμε λοιπόν πως η μελέτη αυτών των πολυμορφισμών σε ασθενείς με ΡΑ θα είχε ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Λεπτομέρειες για τα ανωτέρω παρατίθενται στα επιμέρους κεφάλαια.

Στη συνέχεια παρουσιάζουμε τις τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες για την αντιμετώπιση της ΥΠ στο γενικό πληθυσμό και προτείνουμε την εφαρμογή τους προσαρμοσμένη για τους ασθενείς με ΡΑ (**Πίνακες 1, 2, 3**).

5. ΥΓΕΙΝΟΔΙΑΙΤΗΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ

Οι παρεμβάσεις που στοχεύουν στην αλλαγή του τρόπου ζωής που οδηγούν στο βελτιωμένο έλεγχο της ΑΠ συμπεριλαμβάνουν:

- (i) τη διατήρηση του ιδανικού βάρους (στους ασθενείς με ΡΑ η συνιστώμενη τιμή δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ) είναι $<23 \text{ kg/m}^2$) [97],
- (ii) τον περιορισμό της καθημερινής πρόσληψης νατρίου ($<3,8 \text{ g/ημέρα}$) [176],
- (iii) το μετριασμό της κατανάλωσης αλκοόλ $<20\text{-}30 \text{ g}$ αιθανόλης ανά ημέρα για τους άνδρες και $<10\text{-}20 \text{ g}$ για τις γυναίκες [177],
- (iv) τη διακοπή του καπνίσματος [178],
- (v) την εφαρμογή διαιτητικών προτύπων με στόχο την αντιμετώπιση της ΥΠ [Dietary Approaches to Stop HT (DASH): δίαιτα πλούσια σε φρούτα και λαχανικά και γαλακτοκομικά προϊόντα χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά, με μειωμένο

περιεχόμενο χοληστερόλης στη διαίτα, καθώς επίσης των κορεσμένων λιπαρών οξέων και της συνολικής ποσότητας λίπους] [179],

- (vi) λήψη συμπληρωμάτων ωμέγα-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων [180],
- (vii) ικανή πρόσληψη καλίου, ασβεστίου και μαγνήσιου) [181,182]
- (viii) και συστηματική αεροβική άσκηση [183].

Πίνακας 1. Οδηγίες για την αντιμετώπιση της ΥΠ σε ασθενείς με PA

Τα ακόλουθα 6 βήματα πρέπει να ακολουθούνται...	
Βήματα	Συστάσεις
1: Έχει ο ασθενής ΥΠ;	1A. Η διάγνωση της ΥΠ στους ασθενείς με PA δε διαφέρει από εκείνη στο γενικό πληθυσμό (σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες). 1B. Υγειονομιακές συμβουλές πρέπει να παρέχονται σε όλους τους ασθενείς με PA ανεξαρτήτως της παρουσίας ή όχι ΥΠ.
2: Ποια είναι η αιτιολογία;	2A. Εκτός του τυπικού ελέγχου για την ανεύρεση ενός αιτίου δευτερογενούς ΥΠ (π.χ. νεφραγγειακή νόσος, ενδοκρινικά αίτια), πρέπει να ελέγχεται εάν ο ασθενής λαμβάνει οποιοδήποτε από τα παρακάτω φάρμακα: ΜΣΑΦ, coxibs, ΚΣ, λεφλουνομίδη, κυκλοσπορίνη.
3: Είναι απαραίτητη η έναρξη αντιυπερτασικής αγωγής;	3A. Εφόσον ο ασθενής βρίσκεται σε αγωγή με οποιοδήποτε από τα παραπάνω φάρμακα, πρέπει να εξετιάζεται το ενδεχόμενο διακοπής τους και η παρουσία ΥΠ να επανεκτιμάται μετά τη διακοπή του ενοχοποιούμενου φαρμάκου. 3B. Βλ. πίνακα 2.
4: Ποια κατηγορία αντιυπερτασικών πρέπει να χρησιμοποιηθεί και γιατί;	4A. Στην περίπτωση ιδιοπαθούς ΥΠ προτιμάται η χορήγηση α-MEA ή ARB ως πρώτη γραμμή θεραπείας. 4B. Εφόσον η ΥΠ αποδίδεται στη χορήγηση ΜΣΑΦ/Coxib, που δεν μπορούν να διακοπούν, οι CCB αποτελούν την πρώτη γραμμή θεραπείας. Εάν ο ασθενής παίρνει ΚΣ, πρέπει να επιχειρηθεί μείωση της δόσης τους. C. Εάν ο ασθενής έχει αντίσταση στην ινσουλίνη, πρέπει να αποφεύγεται η χορήγηση β-αποκλειστών και διουρητικών. 4D. Σε ασθενείς με φαινόμενο Raynaud, πρέπει να αποφεύγονται οι β-αποκλειστές και να προτιμούνται ως θεραπεία εκλογής CCB, α-MEA ή ARBs.
5: Χρειάζονται περαιτέρω εξετάσεις ή ειδική αγωγή για ΚΑΝ ή άλλα συμπαραμαρτούντα νοσήματα;	5A. Δες πίνακα 2. 5B. Πρέπει να εξετάζεται η παραπομπή σε καρδιολόγο ή άλλον ειδικό κατά περίπτωση
6: Πώς πρέπει να παρακολουθείται η ΑΠ των ασθενών με PA?	6A. Συστηματική παρακολούθηση της ΑΠ σε κάθε επίσκεψη σε ιατρείο πρωτοβάθμιας/δευτεροβάθμιας φροντίδας τουλάχιστον κάθε 6 μήνες. 6B. Εάν ο ασθενής έχει διαγνωσθείσα ΥΠ, απαιτείται μηνιαία παρακολούθηση μέχρι να επιτευχθεί επαρκής ρύθμιση της ΑΠ. Ακολουθως, παρακολουθήση όπως στο 6A). 6Γ. Σε ασθενείς που άρχισαν θεραπεία με ΜΣΑΦ, coxibs ή ΚΣ, απαιτείται μηνιαίος έλεγχος της ΑΠ για τους πρώτους 6 μήνες (κατόπιν όπως στο 6A). 6Δ. Σε ασθενείς που άρχισαν θεραπεία με λεφλουνομίδη/κυκλοσπορίνη, απαιτείται δεκαπενθήμερος έλεγχος της ΑΠ για τους πρώτους 6 μήνες (κατόπιν όπως στο 6A). 6E. Σε κάθε κλινική επίσκεψη πρέπει να εκτιμάται η ανάγκη συνέχισης φαρμάκων για τη PA που δυνητικά αυξάνουν τον κίνδυνο της ΥΠ.

Πίνακας 2. Αξιολόγηση του κινδύνου και οδηγίες για την έναρξη της αντιυπερτασικής θεραπείας στο γενικό πληθυσμό (συνεχής μαύρη γραμμή) και στους ασθενείς με ΡΑ (στικτή μαύρη γραμμή)

Αριθμός παραγόντων κινδύνου και ιστορικό	0	1	2	≥3 ή ΒΟΣ ή Δ ή ΜΣ	KAN ή νεφρική νόσος
Φυσιολογική ΣΑΠ 120-129 & ΔΑΠ 80-84	μέσος κίνδυνος	Χαμηλός επιπρόσθετος κίνδυνος	χαμηλός επιπρόσθετος κίνδυνος	μέτριος επιπρόσθετος κίνδυνος	υψηλός επιπρόσθετος κίνδυνος
Υψηλή φυσιολογική ΣΑΠ 130-139 ή ΔΑΠ 85-89	μέσος κίνδυνος	χαμηλός επιπρόσθετος κίνδυνος	χαμηλός επιπρόσθετος κίνδυνος	υψηλός επιπρόσθετος κίνδυνος	πολύ υψηλός επιπρόσθετος κίνδυνος
1^ο βαθμού ΥΠ ΣΑΠ 140-159 ή ΔΑΠ 90-99	χαμηλός επιπρόσθετος κίνδυνος	μέτριος επιπρόσθετος κίνδυνος	μέτριος επιπρόσθετος κίνδυνος	υψηλός επιπρόσθετος κίνδυνος	πολύ υψηλός επιπρόσθετος κίνδυνος
2^ο βαθμού ΥΠ ΣΑΠ 160-179 ή ΔΑΠ 100-109	μέτριος επιπρόσθετος κίνδυνος	μέτριος επιπρόσθετος κίνδυνος	μέτριος επιπρόσθετος κίνδυνος	υψηλός επιπρόσθετος κίνδυνος	πολύ υψηλός επιπρόσθετος κίνδυνος
3^ο βαθμού ΥΠ ΣΑΠ >180 ή ΔΑΠ >110	υψηλός επιπρόσθετος κίνδυνος	πολύ υψηλός επιπρόσθετος κίνδυνος	πολύ υψηλός επιπρόσθετος κίνδυνος	πολύ υψηλός επιπρόσθετος κίνδυνος	πολύ υψηλός επιπρόσθετος κίνδυνος

Στους ασθενείς με ΡΑ η έναρξη αντι-υπερτασικής αγωγής είναι απαραίτητη σε χαμηλότερα επίπεδα (στικτή γραμμή) ΑΠ σε σχέση με το γενικό πληθυσμό (συνεχής γραμμή). Ο λόγος είναι η παρουσία ιδιαίτερα αυξημένου «φορτίου φλεγμονής» στους ασθενείς με ΡΑ που αυξάνει τα επίπεδα του κινδύνου.

Με πορτοκαλί χρώμα φαίνονται οι ασθενείς με ΡΑ που θα υποθεραπεύονταν εάν κανείς ακολουθούσε τα όρια έναρξης αντι-υπερτασικής αγωγής που ισχύουν για το γενικό πληθυσμό.

Παράγοντες Κινδύνου: ηλικία (Άνδρας >55, Γυναίκα >65), κάπνισμα, δυσλιπιδαιμία (Ολική χοληστερόλη >5 mmol/l ή LDL-χοληστερόλη >3 mmol/l ή HDL-χοληστερόλη <1 mmol/l στους άνδρες ή <1,2 mmol/l στις γυναίκες ή TG >1,7mmol/l), γλυκόζη αίματος νηστείας (ΓΑΝ) 5,6 < ΓΑΝ < 7 mmol/l, διαταραχή ανοχής της γλυκόζης, οικογενειακό ιστορικό πρώιμης ΚΑΝ (<55 άρρενες, <65 θήλυ), κεντρομελική παχυσαρκία (>102 cm στους άνδρες, >88 cm στις γυναίκες).

Βλάβη οργάνου (ΒΟΣ): υπερτροφία της αριστερής κοιλίας, υπερηχογραφική ένδειξη πάχυνσης αρτηριακού τοιχώματος (πάχος έσω-μέσου χιτώνα των καρωτίδων ≥0,9 mm ή παρουσία αθηρωματικής πλάκας), ταχύτητα μετάδοσης του σφυγμικού κύματος από τις καρωτίδες στις μηριαίες (pulse wave velocity) >12 m/s, σφυρο-βραχιόνιος δείκτης <0,9, ήπια αύξηση των επιπέδων της κρεατινίνης του ορού (άνδρες: 115-133 μmol/l, γυναίκες: 107-124 μmol/l), μείωση του υπολογιζόμενου ρυθμού σπειραματικής διήθησης (<60 ml/min/1,73 m²), μικροαλβουμινουρία.

KAN ή νεφρική νόσος: ΑΕΕ, στεφανιαία νόσος, νεφρική νόσος (διαβητική νεφροπάθεια, χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, πρωτεϊνουρία), περιφερική αγγειακή νόσος, αμφιβληστροειδοπάθεια.

ΜΣ: μεταβολικό σύνδρομο

Πίνακας 3. Θεραπευτικοί στόχοι της αντι-υπερτασικής θεραπείας στη PA

Κίνδυνος KAN <20% στα επόμενα 10 χρόνια		Κίνδυνος KAN >20% στα επόμενα 10 χρόνια		Αθρωματική νόσος		Σαχαρώδης διαβήτης	
Φυσιολογική ΑΠ (<140/90)	Υψηλή ΑΠ (≥140/90)	Φυσιολογική ΑΠ (<140/90)	Υψηλή ΑΠ (≥140/90)	Φυσιολογική ΑΠ (<130/80)	Υψηλή ΑΠ (≥130/80)	Φυσιολογική ΑΠ (<130/80)	Υψηλή ΑΠ (≥130/80)
Αλλαγή του τρόπου ζωής	Αλλαγή του τρόπου ζωής	Αλλαγή του τρόπου ζωής	Αλλαγή του τρόπου ζωής	Αλλαγή του τρόπου ζωής	Αλλαγή του τρόπου ζωής	Αλλαγή του τρόπου ζωής	Αλλαγή του τρόπου ζωής
Παρακολούθηση (κάθε 6 μήνες)	Αντι-υπερτασικά ²	Ασπιρίνη *	Ασπιρίνη *	Ασπιρίνη *	Ασπιρίνη *	Ασπιρίνη *	Ασπιρίνη *
Αντι-υπερτασικά ²		Στατίνη ¹	Στατίνη ¹	Στατίνη ¹	Στατίνη ¹	Στατίνη ¹	Στατίνη ¹
		Αντι-υπερτασικά ²	Αντι-υπερτασικά	α-MEA/ARBs ^{3,6}	α-MEA/ARBs	α-MEA/ ARBs ^{4,6}	α-MEA/ARBs ⁴
				β-αποκλειστές ³	β-αποκλειστές ³		
					άλλα αντι-υπερτασικά ⁵		άλλα αντι-υπερτασικά ⁵

1. Στόχοι

- Ολική χοληστερόλη <4 mmol/L ή μείωση κατά 25%.
- LDL-χοληστερόλη <2 mmol/L ή μείωση κατά 30%.

2. Αντι-υπερτασική θεραπεία όπως απαιτείται (βλ. πίνακα 1).

3. Σε ασθενείς με ΚΑ ή δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας, σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο και φυσιολογική λειτουργία αριστερής κοιλίας.

4. Σε ασθενείς με νεφρική δυσλειτουργία και μικροαλβουμινουρία.

5. Εφόσον δεν έχει επιτευχθεί ικανοποιητική ρύθμιση της υπέρτασης με α-MEA, ARB, ή β-αποκλειστές.

6. Σύμφωνα με τον πίνακα 1 οι ασθενείς αυτοί ανήκουν σε κατηγορία που απαιτεί άμεση έναρξη αντι-υπερτασικής αγωγής. Η χορήγηση α-MEA ή ARB θεωρείται δόκιμη αρχική επιλογή καθώς πρόκειται για φάρμακα πρώτης επιλογής σε ασθενείς με ΣΔ και αθηροσκληρωτική νόσο.

***η ταυτόχρονη χρήση ασπιρίνης και ΜΣΑΦ πρέπει να αποφεύγεται. Αν αυτό δεν είναι δυνατό η χαμηλότερη δόση ΜΣΑΦ πρέπει να χορηγείται μαζί με αναστολέα αντλίας πρωτονίων.**

ΙΔΙΑΙΤΕΡΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΤΑΣΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ

- (i) Η ανάγκη χορήγησης αντιυπερτασικής θεραπείας πρέπει πάντα να εξετάζεται στα πλαίσια της ειδικής θεραπείας της νόσου.
- (ii) Οι α-MEA αποτελούν φάρμακα 1^{ης} επιλογής, ιδιαίτερα στους ασθενείς με ενεργό PA, δεδομένου ότι οι τελευταίοι έχουν αυξημένη δραστηριότητα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος [184,185], η οποία συσχετίζεται με αυξημένα επίπεδα ρενίνης ορού [186,187]. Επιπλέον, αυτά τα φάρμακα μπορεί να έχουν ευνοϊκή επίδραση στην εξέλιξη της PA, δεδομένου ότι καταστέλλουν τους διαμεσολαβητές της φλεγμονής, συμπεριλαμβανομένων των ελευθέρων ριζών οξυγόνου και της CRP και αυξάνουν την έκφραση του αναστολέα του πυρηνικού παράγοντα κΒ (inhibitor of nuclear factor kappa B) [188];
- (iii) Η παρουσία συστηματικής φλεγμονής (που εκφράζεται με την αυξημένη σύνθεση TNF-α και IL-1) προκαλεί μείωση του αριθμού και της δραστηριότητας (down-regulation) των καρδιαγγειακών υποδοχέων, συμπεριλαμβανομένων των β-αδρενεργικών [189] και των λ-τύπου υποδοχέων των καρδιακών διαύλων ασβεστίου [190]. Καμία τέτοια επίδραση δεν έχει αναφερθεί για τους τύπου 1 υποδοχείς της αγγειοτενσίνης II. Αυτό, θεωρητικά, μπορεί να επηρεάσει την αποτελεσματικότητα των β-αποκλειστών και των ανταγωνιστών ασβεστίου. Αντίθετα, η αντιυπερτασική δράση των ARBs, π.χ. της valsartan [191] και της losartan [192], σε ασθενείς RA έχει αποδειχθεί ότι δεν επηρεάζεται.
- (iv) Η αντίσταση ισοουλίνης αποτελεί συχνό εύρημα των ασθενών με PA [193], ειδικά μεταξύ εκείνων που παίρνουν θεραπεία με ΚΣ [194]. Κατά συνέπεια, κατά την επιλογή των αντιυπερτασικών παραγόντων σε αυτούς τους ασθενείς, συνιστάται η αποφυγή των β-αποκλειστών και των θειαζιδικών διουρητικών εξαιτίας των δυσμενών επιδράσεών τους στο μεταβολισμό των λιπιδίων και των υδατανθράκων. Σε αυτές τις περιπτώσεις προτιμητέα είναι η χορήγηση α-MEA, ARB ή CCB [195,196].

- (v) Σε περιπτώσεις ασθενών που εμφανίζουν φαινόμενο Raynaud, οι CCBs [197], οι α -ΜΕΑ και οι ARBs [198,199] αποτελούν πρώτης γραμμής αντιυπερτασική θεραπεία, ενώ οι β -αποκλειστές πρέπει να αποφεύγονται.
- (vi) Τέλος, οι ασθενείς με RA είναι πιθανότερο ότι ωφελούνται από τη χορήγηση α -ΜΕΑ ή ARBs, ανεξάρτητα από την ηλικία. Η θεραπεία με CCBs μπορεί να είναι χρήσιμη σε συγκεκριμένες καταστάσεις.

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή μελετούνται:

1. Ο επιπολασμός της ΥΠ σε έναν μεγάλο πληθυσμό ασθενών με ΡΑ, στη δευτεροβάθμια φροντίδα, καθώς επίσης και ο επιπολασμός της αδιάγνωστης και αρρυθμιστής ΥΠ σε αυτούς τους ασθενείς σε συνδυασμό με τους παράγοντες που μπορεί να σχετίζονται με την παρουσία και την ανεπαρκή ρύθμιση της ΥΠ. Επιπρόσθετα, εξετάζεται η ύπαρξη συσχέτισης της ΥΠ με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά της ΡΑ [παρατεταμένη πορεία νόσου, παρουσία εξωαρθρικών κλινικών εκδηλώσεων, ειδικές κατηγορίες φαρμάκων (ΜΣΑΦ, κοξίμπες, DMARDs)].
2. Κατά πόσον τα επίπεδα του ουρικού οξέος είναι αυξημένα σε υπερτασικούς ασθενείς με ΡΑ και κατά πόσο αυτή η συσχέτιση είναι ανεξάρτητη από τους άλλους παραγόντες κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ, καθώς και από τη λήψη αντι-υπερτασικής αγωγής (και ιδιαίτερα διουρητικών).
3. Η συσχέτιση μεταξύ της έκθεσης στα ΚΣ και της παρουσίας ΥΠ στους ασθενείς με ΡΑ, και κατά πόσον αυτή η συσχέτιση είναι ανεξάρτητη από άλλους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ και από τη σοβαρότητα της ΡΑ.
4. Ο επιπολασμός συγκεκριμένων σημειακών μεταλλάξεων (που βρίσκονται σε γενετικούς τόπους που ρυθμίζουν τον τόνο του τοιχώματος των αγγείων ή την παρουσία συστηματικής φλεγμονής) μεταξύ υπερτασικών και νορμοτασικών ασθενών με ΡΑ και συγκεκριμένα:
 - σημειακές μεταλλάξεις του γονιδίου της ενδοθηλίνης (*rs1800541, rs5370*)
 - σημειακή μετάλλαξη του γονιδίου της IL-6 IL-6-174G/C (*rs1800795*)
 - σημειακή μετάλλαξη του γονιδίου του TGF-β1 869 T/C (*rs1982073*)
 - σημειακή μετάλλαξη του γονιδίου της συνδετικής πρωτεΐνης του νουκλεοτιδίου γουανίνη [guanine nucleotide binding protein, beta 3 GNB3 825C/T] (*rs5443*)

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Συνολικά μελετήθηκαν 830 εθελοντές. Από αυτούς τετρακόσιοι ήταν ασθενείς με RA [200], που παρακολουθούνταν στα τακτικά εξωτερικά Ιατρεία στο τμήμα ρευματολογίας της ομάδας νοσοκομείων Dudley, Dudley (Black Country), West Midlands του Ηνωμένου Βασιλείου. Οι υπόλοιποι 430 συμμετέχοντες ήταν εθελοντές που εγγράφηκαν ανώνυμα σε μία γονιδιακή βάση. Τα μόνα δεδομένα που καταγράφηκαν για τους υγιείς εθελοντές ήταν η ημερομηνία γέννησης, το φύλο και η εθνικότητα. Η διδακτορική διατριβή είχε την έγκριση της αρμόδιας τοπικής επιτροπής ηθικής δεοντολογίας για την έρευνα και την ανάπτυξη και όλοι οι συμμετέχοντες έδωσαν τη γραπτή συγκατάθεσή τους σύμφωνα με τη Διακήρυξη του Ελσίνκι.

Όλοι οι συμμετέχοντες με RA υποβλήθηκαν σε μια λεπτομερή αρχική αξιολόγηση που συμπεριελάμβανε:

- (i) ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά,
- (ii) λεπτομερή ανασκόπηση του ιατρικού τους ιστορικού και των αρχείων τους στο νοσοκομείο,
- (iii) παραμέτρους αξιολόγησης της σοβαρότητας και της ενεργότητας της ρευματοειδούς νόσου, και
- (iv) παραμέτρους καρδιαγγειακού κινδύνου.

1.1. Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά

Το ύψος μετρήθηκε με τον/την ασθενή σε όρθια στάση χρησιμοποιώντας τη φορητή συσκευή Seca 214 Road Rod portable stadiometer (Seca GmbH & Co. kg., Hamburg, Germany). Το βάρος των συμμετεχόντων μετρήθηκε στο πλησιέστερο 0,1 kg. Ο ΔΜΣ υπολογίστηκε από τις μετρήσεις του ύψους και του βάρους χρησιμοποιώντας τον τύπο: $\Delta\text{Μ}\Sigma = \text{βάρος σε kg}/(\text{ύψος σε m})^2$. Η μέτρηση της περιφέρειας της μέσης πραγματοποιήθηκε με τη χρήση μετρικής ταινίας Seca 200 Circumference measuring tape (Seca GmbH & Co. kg., Hamburg, Germany). Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε

τοποθετώντας την ταινία στο μέσο της απόστασης από την πρόσθια λαγόνια άκανθα μέχρι την κατώτερη ψηλαφόμενη πλευρά κατά την πρόσθια μασχαλιαία γραμμή, κατά τη διάρκεια μιας πλήρους εκπνοής [201]. Οι τιμές που χρησιμοποιήθηκαν για το χαρακτηρισμό ενός ασθενούς ως κεντρομελικά παχύσαρκου ήταν >102 εκ. για τους άνδρες και > 88εκ. για τις γυναίκες [202].

Η μέτρηση της σύστασης του σώματος πραγματοποιήθηκε με την ανάλυση της βιοηλεκτρικής αντίστασης του ανθρώπινου σώματος με τη χρήση της συσκευής Tanita BC-418 MA Segmental Body Composition Analyzer, που συμπεριλαμβάνει 8 ηλεκτρόδια αφής (Tanita Corporation, Tokyo, Japan). Αυτή η συσκευή παρέχει μετρήσεις σχετικά με το ποσοστό του λίπους του σώματος, τη μάζα του λίπους του σώματος, την ελεύθερη-λίπους μάζα, το ολικό ποσό ύδατος, καθώς και την κατανομή του λίπους στα διάφορα μέρη του σώματος. Το σφάλμα μέσου όρου (standard error) της συσκευής υπολογίζεται σε 3% όταν ακολουθούνται οι ακριβείς διαδικασίες.

1.2. Λεπτομερής ανασκόπηση του ιστορικού, των χορηγούμενων φαρμάκων και των νοσοκομειακών αρχείων

Καταγράφηκαν λεπτομερώς τα χορηγούμενα φάρμακα και οι ακριβείς ενδείξεις χορήγησής τους, συμπεριλαμβανομένων των διουρητικών της αγκύλης και των θειαζιδικών διουρητικών, των β-αποκλειστών, των α-MEA και των ARBs, των CCBs (παραγώγων και μη-παραγώγων της διυδροπυριδίνης), των α-αδρενεργικών αποκλειστών, των αντιυπερτασικών με κεντρική δράση, πρεδνιζολόνης, παρακεταμόλης, ΜΣΑΦ, Coxibs και DMARDs.

Η από του στόματος δόση πρεδνιζολόνης ορίστηκε ως χαμηλή εάν ήταν <7,5 mg/ημέρα, μέση εάν ήταν ≥7,5 mg/ημέρα και υψηλή εάν ήταν >30 mg/ημέρα [203]. Σε όλες τις περιπτώσεις καταγράφηκαν τόσο η δόση των ΚΣ όσο και ο χρόνος χορήγησης (exposure time) και οι ασθενείς ταξινομήθηκαν με βάση την καθιερωμένη ονοματολογία (standardized nomenclature [203]) σε: χαμηλής δόσης (<7,5), μέσης δόσης (7,5 ≤ 30) και υψηλής δόσης (>30), βραχυχρόνιας (<3 μήνες), μέσης διάρκειας (3-6 μήνες) ή μακροχρόνιας διάρκειας (>6 μήνες) χορήγησης.

Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες σύμφωνα με τη δόση και το χρόνο χορήγησης των ΚΣ: καθόλου ή περιορισμένης έκθεσης (none or low exposure N/L-E) (σε αυτούς που ποτέ δεν πήραν κορτικοστεροειδή ή είχαν εκτεθεί για <3 μήνες κατά το

χρόνο της εκτίμησής τους), χαμηλής δόσης/μακροχρόνιας έκθεσης σε ΚΣ (low dose/long term exposure LD/LT-E) (ασθενείς που πήραν από του στόματος πρεδνιζολόνη <7,5 για >6 μήνες) και μέσης δόσης/μακροχρόνιας έκθεσης (medium dose/long term exposure MD/LT-E) (ασθενείς σε από του στόματος πρεδνιζολόνη ≥7,5 για >6 μήνες).

1.3. Μέτρηση παραμέτρων αξιολόγησης της σοβαρότητας και της ενεργότητας της ΡΑ

1.3.1. Ταχύτητα καθίζησης ερυθρών (ΤΚΕ) και μέθοδος προσδιορισμού της

Η ΤΚΕ μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της ενεργότητας της ΡΑ. Αντιπροσωπεύει, ωστόσο, πιο μακροχρόνιες επιδράσεις της νόσου σε σχέση με την CRP.

Η μέθοδος προσδιορισμού της ΤΚΕ είναι η ακόλουθη: 10 ml αίματος μαζί με ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) ως αντιπηκτικό τοποθετούνται σε κάθετο σωλήνα. Η καθίζηση (σε mm) των ερυθρών σε μία ώρα δίνει την τιμή της ΤΚΕ.

1.3.2. CRP

Η CRP ως δείκτης της ενεργότητας της ΡΑ σχετίζεται με την παρουσία συστηματικής φλεγμονής. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το σύστημα Vitros[®] 5.1 FS (Johnson and Johnson Inc., Langhorne, PA, USA).

1.3.3. Δείκτης ενεργότητας της νόσου-Disease activity score for 28 joint indices (DAS-28)

Το DAS-28 αναπτύχθηκε για να εκτιμηθεί η ενεργότητα της νόσου. Αποτελεί μια σύνθετη μέτρηση της οξείας και χρόνιας δραστηριότητας της νόσου και υπολογίζεται από 3 παραμέτρους:

1. Παρουσία άλγους και οιδήματος σε κάθε μία από 28 επιλεγμένες αρθρώσεις (άκρας χειρός-20, καρπών-2, αγκώνων-2, ώμων-2, γονάτων-2).
2. Εκτίμηση της γενικής κατάστασης του ασθενούς την τελευταία εβδομάδα χρησιμοποιώντας μία οπτική αναλογική κλίμακα από το μηδέν = καλύτερα από ποτέ, έως το 100 = χειρότερα από ποτέ.
3. Πρόσφατη τιμή της ΤΚΕ.

1.3.4. Σοβαρότητα της νόσου - φυσιολογική λειτουργικότητα

Η φυσιολογική λειτουργικότητα αντικατοπτρίζει τη χρόνια ενεργότητα της νόσου και συσχετίζεται με τη σοβαρότητα της νόσου. Αυτή υπολογίζεται χρησιμοποιώντας την αγγλική έκδοση του Stanford Health Assessment Questionnaire (HAQ) [204].

1.3.5. Κυτταροκίνες

Τα επίπεδα IL-6 ορού μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας τον αναλυτή Evidence® (Randox Laboratories), ένα πλήρως αυτοματοποιημένο σύστημα (protein Biochip Array System) που χρησιμοποιεί δείγματα ορού που αποθηκεύονται στους -70°C μετά από φυγοκέντρηση στις 4000 στροφές για 10 λεπτά.

1.3.6. Ρευματοειδής παράγοντας (RF) και αντισώματα κατά κιτρουλλίνης (αντι-CCP)

Η ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των αντισωμάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της μεθόδου ELISA.

1.4. Άλλες παράμετροι

Από την ανασκόπηση των φακέλων των ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη καταγράφηκαν στοιχεία που αφορούσαν την ηλικία κατά τη διάγνωση της νόσου, τη διάρκεια της νόσου, την παρουσία εξωαρθρικών εκδηλώσεων (ρευματοειδή οζίδια, αγγειίτιδα, ξηροφθαλμία και ξηροστομία, περικαρδίτιδα/πλευρίτιδα), την παρουσία διαβρώσεων (σε ακτινογραφίες άκρων χειρών και ποδών γνωματευμένες από δύο ανεξάρτητους ρευματολόγους), καθώς και το ιστορικό ολικής αρθροπλαστικής.

1.4.1. Παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου

1.4.1.1 Αρτηριακή πίεση (ΑΠ)

Καταγράφηκε ο μέσος όρος τριών μετρήσεων της ΑΠ που ελήφθησαν με μεσοδιαστήματα πέντε λεπτών, στο δεξιό βραχίονα, με τον ασθενή σε καθιστή θέση, μετά από τουλάχιστον πέντε λεπτά ανάπαυσης, με τη χρήση κατάλληλου μεγέθους περιχειρίδας του πιεσομέτρου CRITICARE 506DXN (Systems Inc). Ως πίεση σφυγμού (pulse pressure PP) ορίστηκε η διαφορά της ΔΑΠ από την ΣΑΠ.

Η παρουσία ΥΠ ορίστηκε ως ανεύρεση ΣΑΠ ≥ 140 mmHg ή/και ΔΑΠ ≥ 90 mmHg ή/και λήψη αντιυπερτασικών φαρμάκων, σύμφωνα με τις ισχύουσες κατευθυντήριες

οδηγίες (British HT Society/NICE) [51]. Οι ασθενείς ταξινομήθηκαν σε δύο κύριες ομάδες: νορμοτασικούς και υπερτασικούς.

Ακολούθως οι υπερτασικοί χωρίστηκαν σε εκείνους με:

- (i) Ρυθμισμένη ΥΠ (εάν έπαιρναν αντιυπερτασικά με ένδειξη τη θεραπεία της ΥΠ και είχαν ΣΑΠ <140 mmHg και ΔΑΠ <90 mmHg (εάν δεν είχαν ιστορικό ΚΑΝ ή ΣΔ) ή ΣΑΠ <130 mmHg και ΔΑΠ <80 mmHg (εάν είχαν ιστορικό ΚΑΝ ή διαβήτη)
- (ii) Αρρυθμιστη ΥΠ (εάν η ΣΑΠ ή η ΔΑΠ ήταν υψηλότερες από τις προαναφερθείσες τιμές ενώ ο ασθενής ήταν υπό θεραπεία),
- (iii) Αδιάγνωστη ΥΠ (εάν η ΣΑΠ \geq 140 mmHg ή η ΔΑΠ \geq 90 και ο ασθενής δεν έπαιρνε ειδική αντιυπερτασική αγωγή).

1.4.1.2. Λιπιδαιμικές παράμετροι

Η ολική χοληστερόλη (TC), τα τριγλυκερίδια (TG), και η υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (HDL) μετρήθηκαν με τη χρήση του Vitros[®] 5.1 FS chemistry system (Johnson and Johnson Inc., Langhorne, PA, USA).

1.4.1.3. Αντίσταση στην ινσουλίνη

Για τον προσδιορισμό των επιπέδων γλυκόζης ορού χρησιμοποιήθηκε το σύστημα Vitros[®] 5.1 FS chemistry system (Johnson and Johnson Inc., Langhorne, PA, USA). Οι μετρήσεις της ινσουλίνης πραγματοποιήθηκαν με το Immulite 2000 Analyser (Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, USA) χρησιμοποιώντας δείγματα ορού αποθηκευμένα στους -20°C.

Η παρουσία ΣΔ ορίστηκε ως επίπεδα γλυκόζης νηστείας >7 mmol/L σε δύο τουλάχιστον μετρήσεις ή λήψη αντιδιαβητικών φαρμάκων ή ινσουλίνης.

Η παρουσία αντίστασης στην ινσουλίνη εκτιμήθηκε από τη γλυκόζη νηστείας και την ινσουλίνη με τη χρήση των Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA IR) [205] και του δείκτη Quantitative Insulin sensitivity Check Index (QUICKI) [206]. Ως αντίσταση στην ινσουλίνη ορίστηκε η παρουσία διαβήτη ή HOMA IR \geq 2,5 και/ή QUICKI \leq 0,333.

1.4.1.4. Κάπνισμα

Οι ασθενείς ταξινομήθηκαν ως καπνιστές, πρώην καπνιστές, και ως άτομα που δεν κάπνισαν ποτέ. Υπολογίσθηκε η τιμή pack-years, πολλαπλασιάζοντας τον αριθμό των πακέτων που το άτομο κάπνιζε ημερησίως επί τον αριθμό των χρόνων της συνήθειας του καπνίσματος.

1.4.1.5. Παχυσαρκία

Η ταξινόμηση των ασθενών ως νορμοβαρή, υπέρβαρα και παχύσαρκα άτομα έγινε με τη χρήση του ΔΜΣ όπως προαναφέρθηκε.

1.4.1.6. Οικογενειακό ιστορικό ΚΑΝ

Σε όλους τους ασθενείς καταγράφηκε λεπτομερώς το οικογενειακό ιστορικό ΚΑΝ όπως ορίζεται παρακάτω.

1.4.1.7. Ατομικό ιστορικό ΚΑΝ

Οι ασθενείς ταξινομήθηκαν ως έχοντες θετικό ιστορικό ΚΑΝ (PA+KAN) εάν είχαν οποιαδήποτε από τα παρακάτω: στηθάγχη (διεγνωσμένη από τον ιατρό είτε αν είχαν αξιολογηθεί με βάση το ερωτηματολόγιο **Rose** [207]), εμφράγματα του μυοκαρδίου, ΚΑ, ΑΕΕ ή παροδικό ισχαιμικό ΑΕΕ, περιφερική αρτηριακή νόσου, ιστορικό αγγειοπλαστικής των στεφανιαίων αρτηριών ή επέμβασης επαναγγείωσης (coronary artery bypass grafting, CABG).

1.4.2. Εκτίμηση της νεφρικής λειτουργίας

Η νεφρική λειτουργία αξιολογήθηκε από την εκτίμηση του ρυθμού της σπειραματικής διήθησης (GFR), χρησιμοποιώντας την εξίσωση των έξι-μεταβλητών τροποποίησης της διατροφής στη νεφρική νόσο [six-variable Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) equation] [208] [estimated GFR= $170 \times (\text{creatinine})^{-0.999} \times (\text{age})^{-0.176} \times (\text{serum urea nitrogen})^{-0.170} \times (\text{albumin})^{+0.318} \times (0.762 \text{ if patient female})$].

1.4.3. Ουρικό οξύ

Οι μετρήσεις του ουρικού οξέως ορού πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το σύστημα Vitros[®] 5.1 FS (Johnson and Johnson Inc., Langhorne, PA, USA). Το ουρικό οξύ ορού μετρήθηκε σε mg dL⁻¹ (οι τιμές μπορούν να μετατραπούν σε μmol L⁻¹ εάν πολλαπλασιασθούν επί 59,48). Ως υπερουριχαιμία ορίστηκε η ανεύρεση τιμών ουρικού οξέως ορού >8,41 mg/dl στους άνδρες και >6,73 mg/dl στις γυναίκες.

1.4.4. Ενδοθηλίνη ορού

Η ενδοθηλίνη του ορού μετρήθηκε χρησιμοποιώντας ένα σύστημα ενζυμικού ανοσομετρικού ελέγχου της ET-1 [endothelin-1 (ET-1) enzyme immunoassay (EIA) -

kit Assay Designs Inc, Michigan, USA]. Τα επίπεδα της ET-1 θεωρήθηκαν αυξημένα εάν υπερέβαιναν τα 3 pg/ml.

2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

2.1. Απομόνωση του DNA

Το DNA εξήχθη από πλήρες αίμα χρησιμοποιώντας το σύστημα QuickGene-810 [209]. Το αίμα συλλέχθηκε σε σωληνάρια με EDTA, στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε ένα αγγείο απομόνωσης μέσα στο οποίο έγινε λύση των ερυθροκυττάρων. Τα λευκοκύτταρα του αίματος απομονώθηκαν σε μια μήτρα φίλτρων και προκλήθηκε η λύση τους έτσι, ώστε το DNA να «παγιδευτεί» φυσικά γύρω από τις ίνες. Το απομονωμένο DNA απελευθερώθηκε από τη μήτρα και εκπλύθηκε σε ένα δοχείο συλλογής στο εσωκλειόμενο περιβάλλον του συστήματος QuickGene 810.

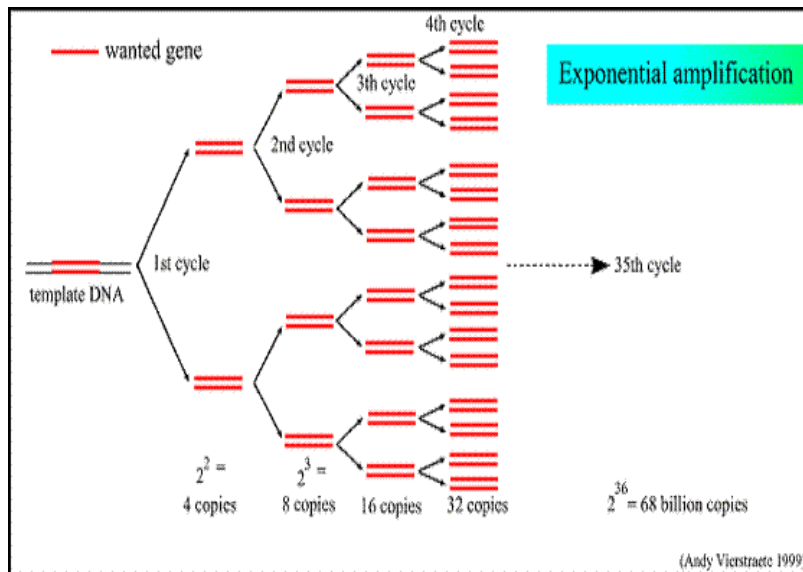
Τα δείγματα του DNA αποθηκεύτηκαν σε 4°C μέχρι την ανάλυση. Ο ποιοτικός έλεγχος σε κάθε σειρά απομονωμένου DNA πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας έναν «κενό – blank» σωλήνα και ακολουθώντας όλα τα ανωτέρω βήματα, παραλείποντας μόνο την προσθήκη του αίματος. Εάν στον σωλήνα αυτό ανευρίσκονταν DNA, ολόκληρη η σειρά του DNA απορρίπτονταν.

2.2. Καθορισμός των γονοτύπων (Genotyping)

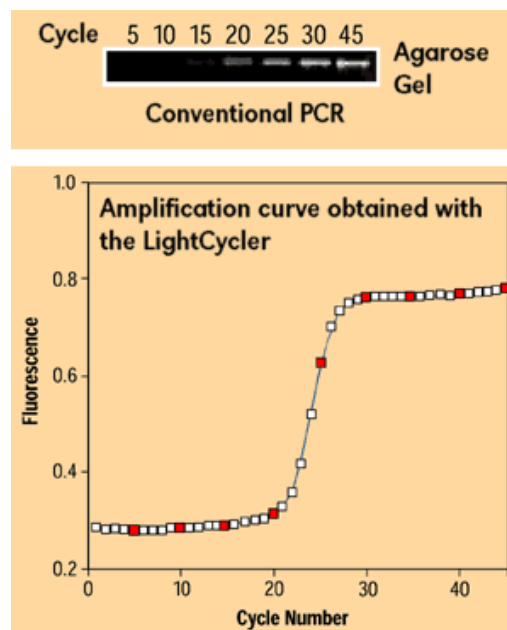
Όλες οι σημειακές υποκαταστάσεις νουκλεοτιδίων (SNPs) προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας το σύστημα Roche LightCycler® 2.0 (2007 c), το οποίο είναι βασισμένο στη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης [real time polymerase chain reaction (PCR)] (**Σχήμα 1**) και της ανάλυσης τήξης καμπυλών (melting curve). Η PCR εκτελέστηκε σε έναν όγκο αντίδρασης 10 μl που περιέχει:

- 1 μl του DNA,
- 0,5 μM κάθε ένα από τους πριμοδότες (primers)
- 2 μL του αντιδραστηρίου LightCycler Faststart DNA master plus hybridization probes 10 x buffer; (Roche Diagnostics),
- PCR grade water και
- MgCl₂.

Ονομάζεται real time γιατί το προϊόν της PCR μπορεί να παρακολουθείται με τη χρήση ανιχνευτών υβριδοποίησης (hybridization probes) που εκπέμπουν φθορίζουσα χρωστική (Σχήμα 2).



Σχήμα 1. Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης [real time polymerase chain reaction (PCR)].

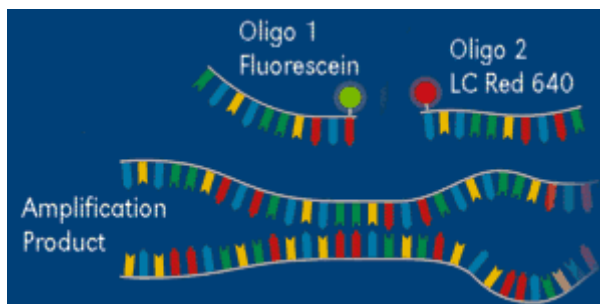


Σχήμα 2. Συμβατική PCR. Amplification curve

Hybridization Probes Ανιχνευτές υβριδοποίησης

Τα Probes (oligo 1-sensor και oligo 2- anchor) είναι δυο ολιγονουκλεοτίδια με συγκεκριμένη αλληλουχία βάσεων, τα οποία στις άκρες τους έχουν προσκολλημένες φθορίζουσες ουσίες. Το oligo 1 (sensor) έχει φλουοροσκεΐνη (fluorescein) στο 3' άκρο

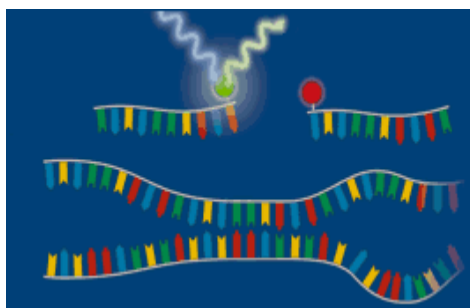
του, ενώ το oligo 2 (anchor) έχει τη φθορίζουσα ουσία LC red 640 στο 5' άκρο του (**Σχήμα 3**). Ο αισθητήρας (sensor) προσκολλάται στην περιοχή του που περιέχει την υπό μελέτη μετάλλαξη ενώ ο ανιχνευτής anchor στην ακριβώς γειτονική (με απόσταση 1-5 νουκλεοτίδια).



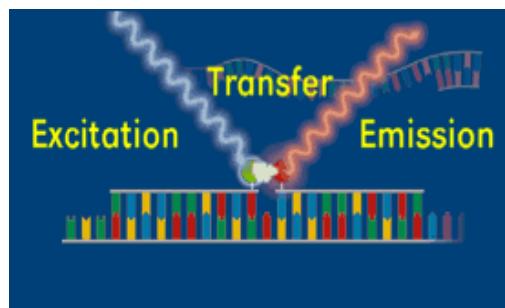
Σχήμα 3. Amplification product

Η αλληλουχία των βάσεων επιλέγεται έτσι ώστε τα probes να προσκολλώνται στο συγκεκριμένο του τμήμα DNA υπό μελέτη με προσανατολισμό 5' προς 3' έτσι, ώστε οι δύο φθορίζουσες ουσίες να βρίσκονται κοντά.

Η φλουορεσκεΐνη oligo 1 διεγείρεται ενεργειακά από την πηγή φωτός του LightCycler LightCycler's LED (Light Emitting Diode), και εκπέμπει πράσινο φθορίζον φως σε λίγο μεγαλύτερο μήκος κύματος (**Σχήμα 4**). Στη συνέχεια, αυτό απορροφάται από το LC red 640 oligo 2 που στη συνέχεια εκπέμπει φθορίζον φως σε μεγαλύτερα ακόμα μήκη κύματος (**Σχήμα 5**). Αυτή η ενεργειακή μεταφορά (από φλουορεσκεΐνη σε LC red) ονομάζεται FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer), και εξαρτάται απόλυτα από την απόσταση των δυο χρωστικών. Για να πραγματοποιηθεί η μεταφορά ενέργειας, οι χρωστικές πρέπει να έχουν απόσταση μεταξύ 1-5 νουκλεοτιδίων. Το LC red ανιχνεύεται κατόπιν από συγκεκριμένα φθοριόμετρα του LightCycler.



Σχήμα 4. Διέγερση της φλουορεσκεΐνης από πηγή φωτός



Σχήμα 5. FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) ενεργειακή μεταφορά από φλουορεσκεΐνη σε LC red

Όταν λοιπόν τα probes (sensor και anchor) προσκολλώνται στο υπό μελέτη τμήμα του DNA, πραγματοποιείται η μεταφορά ενέργειας, όπως έχει ήδη περιγραφεί, και η φθορίζουσα ενέργεια που εκπέμπεται μετράται από δέκτες του LightCycler. Όταν όμως η θερμοκρασία αυξηθεί πάνω από την θερμοκρασία αποκόλλησης (θερμοκρασία τήξης) των probes από το DNA η FRET σταματά (αφού η απόσταση μεταξύ των δύο χρωστικών αυξάνεται) και το φθορίζον σήμα που ανιχνευόταν από τον LightCycler χάνεται.

Τι καθορίζει ωστόσο τη θερμοκρασία τήξης των δεσμών υδρογόνου μεταξύ των probes και της αλυσίδας του υπό μελέτη DNA; Ο αριθμός των δεσμών υδρογόνου. Όσο περισσότεροι δεσμοί υδρογόνου υπάρχουν τόσο πιο υψηλή θερμοκρασία απαιτείται για την τήξη τους. Εύκολα λοιπόν συμπεραίνει κανείς ότι όσο πιο μακρύς είναι ο probe και όσο μεγαλύτερη η περιεκτικότητά του σε γουανίνη/κυτοσίνη (3 δεσμοί υδρογόνου), τόσο πιο υψηλή θερμοκρασία απαιτείται για να αποκολληθεί. Επίσης, εάν υπάρχει μια σημειακή μετάλλαξη στην περιοχή προσκόλλησης του probe sensor, αυτό συνεπάγεται ότι οι δύο γενετικές αλυσίδες δε θα ταιριάζουν απόλυτα και άρα το probe θα αποκολληθεί σε μικρότερη θερμοκρασία.

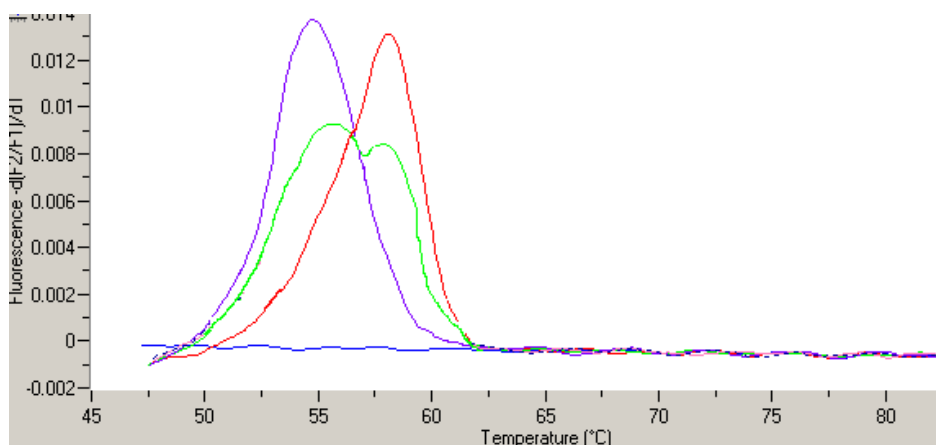
Στις ανωτέρω αρχές βασίζεται η ανάλυση της καμπύλης τήξης, που χρησιμεύει για την ανίχνευση σημειακών μεταλλάξεων. Η ανάλυση της καμπύλης τήξης αποτελείται από τα παρακάτω βήματα:

1. ταχεία θέρμανση του γενετικού υλικού για τη μετουσίωσή του,
2. ψύξη του δείγματος σε θερμοκρασίες μικρότερες από αυτές που απαιτούνται για την προσκόλληση των probe,
3. πολύ σταδιακή αύξηση της θερμοκρασίας που επιτρέπει την εντόπιση των θερμοκρασιών που αποχωρίζεται το probe sensor από το υπό μελέτη DNA.

Σε αυτό το σημείο πρέπει να σημειωθεί ότι η θερμοκρασία τήξης των δεσμών του probe anchor πρέπει να είναι υψηλότερη, τουλάχιστον κατά 4°C από τις θερμοκρασίες τήξης α (χωρίς σημειακή μετάλλαξη στο υπό μελέτη DNA) και β (με σημειακή μετάλλαξη στο υπό μελέτη DNA) του probe sensor που προσκολλάται με το τμήμα του που δύναται να φέρει τη μετάλλαξη.

Από τα ανωτέρω συμπεραίνει κανείς ότι σε έναν υπό μελέτη πληθυσμό για μια σημειακή μετάλλαξη θα υπάρχουν τρεις ομάδες (**Σχήμα 6**) που θα εμφανίζονται στις καμπύλες τήξης:

- Οι ομοζυγότες χωρίς τη μετάλλαξη: θα έχουν μία κορυφή στις καμπύλες τήξης σε θερμοκρασία α (κόκκινο)
- Οι ετεροζυγότες για τη μετάλλαξη: θα έχουν δύο κορυφές στις καμπύλες τήξης, στις θερμοκρασίες α και β (πράσινο)
- Οι ομοζυγότες για τη μετάλλαξη: θα έχουν μία κορυφή στις καμπύλες τήξης στη θερμοκρασία β (μωβ)



Σχήμα 6. Καμπύλες τήξης: Οι ομοζυγότες χωρίς τη μετάλλαξη: θα έχουν μία κορυφή στις καμπύλες τήξης σε θερμοκρασία α (κόκκινο). Οι ετεροζυγότες για τη μετάλλαξη: θα έχουν δύο κορυφές στις καμπύλες τήξης, στις θερμοκρασίες α και β (πράσινο). Οι ομοζυγότες για τη μετάλλαξη: θα έχουν μία κορυφή στις καμπύλες τήξης στη θερμοκρασία β (μωβ)

2.3. Συνθήκες καθεμίας από τις υπό μελέτη σημειακές μεταλλάξεις

2.3.1. Σημειακές μεταλλάξεις του γονιδίου της ενδοθηλίνης

rs1800541 SNP

Οι συνθήκες του κύκλου της PCR και της ανάλυσης των καμπυλών τήξης ήταν ως ακολούθως:

- Μετουσίωση του πρότυπου DNA και ενεργοποίηση της Taq πολυμεράσης για έναν κύκλο των 95°C για 10 λεπτά (με προγραμματισμένο ρυθμό αύξησης της θερμοκρασίας στους 20°C/s).
- Κατόπιν, πολλαπλασιασμός του υπό μελέτη τμήματος DNA σε 35 κύκλους των: 95°C για 6 s (διαχωρισμός της διπλής έλικας), 46°C για 10 s (προσκόλληση των primers) και 72°C για 10 s (παραγωγή νέων γενετικών αλυσίδων με τη χρήση της Taq πολυμεράσης), μεταβαίνοντας από το ένα στάδιο στο άλλο με ρυθμό 20°C/s.
- Ανάλυση καμπυλών τήξης για 1 κύκλο των: 95°C για 10 s (διαχωρισμός της διπλής έλικας) και 45°C για 30 s (προσκόλληση των probes), (με ρυθμό μετάβασης από

τους 95°C στους 45°C με 20°C/s), και έπειτα σταδιακή αύξηση στους 80°C, 0 s με ρυθμό 0,2°C/s. Οι θερμοκρασίες κορυφής των καμπυλών τήξης ήταν 53,5°C για τον TT γονότυπο και 63,5°C για τον GG γονότυπο. Ο γονότυπος ετεροζυγωτών (GT) είχε αιχμές και στους 53,55°C και 63,5°C.

rs5370 SNP

Οι συνθήκες του κύκλου της PCR και της ανάλυσης των καμπυλών τήξης ήταν ως ακολούθως:

- Μετουσίωση του πρότυπου DNA και ενεργοποίηση της Taq πολυμεράσης για 1 κύκλο των 95°C για 10 λεπτά (με προγραμματισμένο ρυθμό αύξησης της θερμοκρασίας στους 20°C/s).
- Κατόπιν, πολλαπλασιασμός του υπό μελέτη τμήματος DNA σε 35 κύκλους των: 95°C για 6 s (διαχωρισμός της διπλής έλικας), 54°C για 10 s (προσκόλληση των primers) και 72°C για 15 s (παραγωγή νέων γενετικών αλυσίδων με τη χρήση της Taq πολυμεράσης), μεταβαίνοντας από το ένα στάδιο στο άλλο με ρυθμό 20°C/s.
- Ανάλυση των καμπυλών τήξης για 1 κύκλο των: 95°C για 0 s (διαχωρισμός της διπλής έλικας) και 48°C για 30 s (προσκόλληση των probes), (με ρυθμό μετάβασης από τους 95°C στους 45°C με 20°C/s), και έπειτα σταδιακή αύξηση στους 74°C, για 0 s με ρυθμό 0.1°C/s. Οι θερμοκρασίες κορυφής των καμπυλών τήξης ήταν 61°C για τον GG γονότυπο και 57°C για τον TT γονότυπο. Ο γονότυπος των ετεροζυγωτών (GT) είχε αιχμές και στους 57°C και 61°C.

2.3.2. Σημειακές μεταλλάξεις του γονιδίου του TGF-β1 rs1982073 (869 T/C)

Οι συνθήκες του κύκλου της PCR και της ανάλυσης των καμπυλών τήξης ήταν ως ακολούθως:

- Μετουσίωση του πρότυπου DNA και ενεργοποίηση της Taq πολυμεράσης για 1 κύκλο των 95°C για 10 λεπτά (με προγραμματισμένο ρυθμό αύξησης της θερμοκρασίας στους 20°C/s).
- Κατόπιν, πολλαπλασιασμός του υπό μελέτη τμήματος DNA σε 40 κύκλους των: 95°C για 8s (διαχωρισμός της διπλής έλικας), 61°C για 20 s (προσκόλληση των primers) και 72°C για 15 s (παραγωγή νέων γενετικών αλυσίδων με τη χρήση της Taq πολυμεράσης), μεταβαίνοντας από το ένα στάδιο στο άλλο με ρυθμό 20°C/s.

- Ανάλυση των καμπυλών τήξης για 1 κύκλο των: 95°C για 8 s (διαχωρισμός της διπλής έλικας) και 40°C για 20 s (προσκόλληση των probes), (με ρυθμό μετάβασης από τους 95°C στους 45°C με 20°C/s), και έπειτα σταδιακή αύξηση στους 75°C με ρυθμό 0,2°C/s. Οι θερμοκρασίες κορυφής των καμπυλών τήξης ήταν 53°C για τον TT γονότυπο και 62°C για τον CC γονότυπο. Η καμπύλη του γονοτύπου των ετεροζυγωτών (CT) είχε κορυφές και στους 53°C και στους 62°C.

3.2.3. Σημειακές μεταλλάξεις του γονιδίου της IL-6 rs1800795 (-174G/C)

- Μετουσίωση του πρότυπου DNA και ενεργοποίηση της Taq πολυμεράσης για 1 κύκλο των 95°C για 10 λεπτά (με προγραμματισμένο ρυθμό αύξησης της θερμοκρασίας στους 20°C/s).
- Κατόπιν, πολλαπλασιασμός του υπό μελέτη τμήματος DNA σε 40 κύκλους των: 95°C για 5 s (διαχωρισμός της διπλής έλικας), 57°C για 10 s (προσκόλληση των primers) και 72°C για 15 s (παραγωγή νέων γενετικών αλυσίδων με τη χρήση της Taq πολυμεράσης), μεταβαίνοντας από το ένα στάδιο στο άλλο με ρυθμό 20°C/s.
- Ανάλυση των καμπυλών τήξης για 1 κύκλο των: 95°C για 8 s (διαχωρισμός της διπλής έλικας) και 40°C για 20 s (προσκόλληση των probes), (με ρυθμό μετάβασης από τους 95°C στους 45°C με 20°C/s), και έπειτα σταδιακή αύξηση στους 75°C με ρυθμό 0,2°C/s. Οι θερμοκρασίες κορυφής των καμπυλών τήξης ήταν 53 °C για τον TT γονότυπο και 62°C για τον CC γονότυπο. Η καμπύλη του γονοτύπου των ετεροζυγωτών (CT) είχε κορυφές και στους 53°C και στους 62°C.

2.3.4. Σημειακές μεταλλάξεις του γονιδίου της συνδετικής πρωτεΐνης του νουκλεοτιδίου γουανίνη[GNB3 rs5443 (825C/T)]

- Μετουσίωση του πρότυπου DNA και ενεργοποίηση της Taq πολυμεράσης για 1 κύκλο των 95°C για 10 λεπτά (με προγραμματισμένο ρυθμό αύξησης της θερμοκρασίας στους 20°C/s).
- Κατόπιν, πολλαπλασιασμός του υπό μελέτη τμήματος DNA σε 35 κύκλους των: 95°C για 5 s (διαχωρισμός της διπλής έλικας), 56°C για 10 s (προσκόλληση των primers) και 72°C για 10 s (παραγωγή νέων γενετικών αλυσίδων με τη χρήση της Taq πολυμεράσης), μεταβαίνοντας από το ένα στάδιο στο άλλο με ρυθμό 20°C/s.

- Ανάλυση των καμπυλών τήξης για 1 κύκλο των: 95°C για 0 s (διαχωρισμός της διπλής έλικας) και 40°C για 30 s (προσκόλληση των probes), (με ρυθμό μετάβασης από τους 95°C στους 45°C με 20°C/s), και έπειτα σταδιακή αύξηση στους 80°C με ρυθμό 0,3°C/s. Οι θερμοκρασίες κορυφής των καμπυλών τήξης ήταν 62,5°C για τον CC γονότυπο και 51,5°C για τον TT γονότυπο. Η καμπύλη του γονοτύπου των ετεροζυγωτών (CT) είχε κορυφές και στους 62,5°C και στους 51,5°C.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Όλες οι μεταβλητές αξιολογήθηκαν και εξετάστηκαν ως προς τη απόκλισή τους από την κανονική κατανομή με τη χρήση ιστογραμμάτων και τη στατιστική δοκιμασία Kolmogorov-Smirnov.

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή (mean) \pm σταθερή απόκλιση (standard deviation, SD), διάμεση τιμή (median) [τιμές εκατοστημορίου (25-75th percentile values)] ή ποσοστά (percentages), ανάλογα με την περίπτωση.

1. ΜΟΝΟΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

Οι συγκρίσεις μεταξύ των μεταβλητών πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση των δοκιμασιών Student's t-test/ANOVA, Mann Whitney U/Kruskal-Wallis test, χ^2 τετράγωνο/Fisher's exact test για παραμετρικές, μη-παραμετρικές και κατηγορικές μεταβλητές, αντίστοιχα, και ανάλογα με την περίπτωση κάθε φορά.

2. ΠΟΛΥΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

Η ανάλυση *δυναμικής λογιστικής παλινδρόμησης* (binary logistic regression analysis) χρησιμοποιήθηκε για την:

1. Ανίχνευση παραγόντων που σχετίζονται ανεξάρτητα (i) με την παρουσία ΥΠ και (ii) με την παρουσία αρρυθμίας ΥΠ.
2. Αξιολόγηση της συσχέτισης του ουρικού οξέος με την παρουσία ΥΠ σε συνάρτηση με την ταυτόχρονη παρουσία και άλλων παραγόντων κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ (όπως ηλικία, φύλο, κατάσταση καπνίσματος, ΔΜΣ, HDL, TG, HOMA IR, MDRD), μεταβλητών που σχετίζονται με τα χαρακτηριστικά της ΡΑ (διάρκεια νόσου, HAQ, DAS-28) καθώς και με τη χρήση φαρμάκων που μπορεί να αυξήσουν την ΑΠ (όπως ΜΣΑΦ, coxibs, πρεδνιζολόνης, κυκλοσπορίνη, λεφλουνομίδη και ασπιρίνη).
3. Εκτίμηση της συσχέτισης της ΥΠ με την έκθεση σε ΚΣ.

4. διερεύνηση της επίδρασης του κάθε SNP της ET-1 και του T-T απλότυπου στη συχνότητα της ΥΠ λαμβάνοντας υπόψη συγχυτικούς παράγοντες (ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, μέση δόση πρεδνιζολόνης) [10]. Για τα SNPs υιοθετήθηκε ένα συγκυρίαρχο μοντέλο, ενώ για τους απλότυπους χρησιμοποιήθηκε ένα αθροιστικό γονιδιακό μοντέλο με μια κωδικοποίηση που αντιστοιχεί στον αριθμό μεταλλαγμένων αλληλίων που φέρει κάθε άτομο [210].
5. Διερεύνηση της συσχέτισης του *IL-6-174 C-* αλληλίου και του *TGF-β1 869 T* αλληλίου με την παρουσία ΥΠ λαμβάνοντας υπόψη την ηλικία, το φύλο, το ΔΜΣ και τη χορήγηση πρεδνιζολόνης [10]). Για να εξετάσουμε την αλληλεπίδραση των σοβαρών μορφών της νόσου (οροθετικότητα στο RF, αντι-CCP) ή της μέτριας/σοβαρής ενεργής νόσου (DAS-28 >3,2) με το αλληλίο TGF-β1 869T σε σχέση με τον επιπολασμό της ΥΠ, δημιουργήθηκαν τρία επιπρόσθετα λογιστικά μοντέλα έκθεσης με την προσθήκη κάθε μιας από τις ακόλουθες μεταβλητές, στο αρχικό μοντέλο: TGF-β1 869C/T *RF θετικότητα (όχι/ναι), TGF-β1 869T/C *anti-CCP θετικότητα (όχι/ναι), TGF-β1 869T/C* δραστηριότητα της νόσου [καμία –ήπια (DAS-28 ≤3,2) /μέτρια –σοβαρή (DAS-28 >3,2)].

Σε όλα τα μοντέλα της λογιστικής παλινδρόμησης εφαρμόστηκε η δοκιμασία Hosmer-Lemeshow για τον έλεγχο καλής προσαρμογής (goodness of fit).

Ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκε για τη διερεύνηση

1. της συσχέτισης του απλότυπου T-T της ET-1 με τη ΣΑΠ, τη ΔΑΠ, τη ΡΡ και τα επίπεδα της ενδοθηλίνης (μετά από λογαριθμική μετατροπή) συνυπολογίζοντας τους συγχυτικούς παράγοντες,
2. της συσχέτισης του αλληλίου TGF-β1 869T με τη ΣΑΠ.

Η *ανάλυση συνδιακύμανσης (ANCOVA)* χρησιμοποιήθηκε για τη μελέτη της επίδρασης των γονοτύπων GNB3 στη ΣΑΠ και τη ΔΑΠ αδρά (crudely) και μετά από την προσαρμογή για πολλαπλούς πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες (όπως η ηλικία, το φύλο, παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ στη ΡΑ και δείκτες φλεγμονής).

3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΜΕΛΕΤΩΝ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

Οι συχνότητες των απλότυπων της EDN1 υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα PHASE 2,0 [211]. Η εκτίμηση των συχνοτήτων των απλότυπων και ο

υπολογισμός της τιμής της ανισοροπίας σύνδεσης [Linkage Disequilibrium (LD)] έγινε με τη συμμετοχή όλων των ατόμων του πληθυσμού της μελέτης. Η δομή του LD και η δύναμη του LD μεταξύ των δύο SNPs αξιολογήθηκαν με τις σταθερές συσχέτισης Lewontin's D' and Pearson product-moment correlation r [212]. Η αθροιστική επίδραση των απλότυπων στην ΥΠ υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία Kendall's tau-b.

Η συσχέτιση μεταξύ της ΥΠ και του γονοτύπου TGF- β 1 T869C πραγματοποιήθηκε με βάση μια δικτυακή λειτουργική μονάδα (web based module) [213] με τη χρήση λόγων πιθανοφάνειας (likelihood ratio tests) για τη σύγκριση φωλιασμένων μοντέλων (nested models) ώστε να καθοριστεί ποιο από τα έξι πρότυπα (γενικό [general], πολλαπλασιαστικό [multiplicative], αθροιστικό [additive], επικρατούν [dominant], υπολειπόμενο [recessive], άνευ συσχέτισης [no association]) είναι το πιο κατάλληλο για ένα δεδομένο σύνολο στοιχείων. Οι λόγοι πιθανοφάνειας ανέδειξαν ότι τα πολλαπλασιαστικά (multiplicative), αθροιστικά (additive) και τα υπολειπόμενα (recessive) πρότυπα δεν υπερείχαν ενός προτύπου που υποθέτει την απουσία συσχέτισης ($p=0,08$, $p=0,07$ και $p=0,32$, αντίστοιχα). Το επικρατούν μοντέλο (Τ επικρατούν αλληλόμορφο, dominant allele) ήταν καλύτερο από το μηδενικό μοντέλο (null model, $p=0,03$) και δεν ήταν χειρότερο από το γενικό μοντέλο (general model, $p=0,82$). Για το λόγο αυτό υιοθετήθηκε ένα επικρατούν (dominant) μοντέλο στην ανάλυση. Όσον αφορά την *IL-6-174G/C*, κανένα από τα ανωτέρω πρότυπα δεν ήταν καλύτερο από το μηδενικό. Ωστόσο, δεδομένου ότι οι προηγούμενες μελέτες κατέδειξαν μια συσχέτιση των φορέων του *IL-6-174C-allele* αλληλόμορφου με την παρουσία ΥΠ [214] και με την παρουσία υψηλότερων επιπέδων IL-6 [215], πραγματοποιήσαμε συγκρίσεις και για τους φορείς του αλληλόμορφου *174C-allele* έναντι των *GG* ομοζυγωτών.

Ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε η τιμή $p < 0,05$ (διπλής κατεύθυνσης, two-tailed). Οι διορθώσεις πολλαπλών δοκιμών έγιναν με τη δοκιμασία Bonferroni, όπου απαιτήθηκε.

Για τις ανάγκες της στατιστικής ανάλυσης χρησιμοποιήθηκαν τα στατιστικά προγράμματα SPSS 14.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois) και STATA 10 (College Station, TX: STATA corporation).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ο όγκος των ευρημάτων της παρούσας διατριβής επιβάλλει την παρουσίαση και τη συζήτησή τους σε ξεχωριστά κεφάλαια ανάλογα με τις επιμέρους αναλύσεις των αποτελεσμάτων.

1. ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

1.1. Εκτίμηση του επιπολασμού της ΥΠ και των παραγόντων που σχετίζονται με την ΑΠ και τη ρύθμισή της σε ασθενείς με ΡΑ

1.1.1. Αποτελέσματα

1.1.1.1. Δημογραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης

Η ομάδα απαρτιζόταν σχεδόν αποκλειστικά (96%) από Καυκάσιους και κυρίως γυναίκες (~73%). Η μέση ηλικία ήταν $61,56 \pm 12,02$ έτη, και η μέση τιμή της ΣΑΠ και της ΔΑΠ ήταν $142,24 \pm 20,74$ και $78,85 \pm 11,24$ mmHg, αντίστοιχα.

Από τους 400 ασθενείς (**Πίνακας 4**), 350 (87,5%) έπαιρναν DMARDs: 225 (56,3%) μεθοτρεξάτη, 118 (29,5%) σουλφασαλαζίνη, 80 (20%) υδροξυχλωροκίνη, 46 (11,5%) anti-TNF- α , 16 (4%) λεφλουνομίδα, 7 (1,8%) αζαθειοπρίνη, και 2 (0,5%) κυκλοσπορίνη. Διακόσιοι είκοσι επτά (56,8%) ασθενείς ήταν σε μονοθεραπεία με DMARD, ενώ 123 (30,8%) ήταν σε θεραπεία με συνδυασμό δύο ή περισσότερων DMARDs. Εκατόν είκοσι πέντε ασθενείς (31,3%) έπαιρναν καθημερινά από του στόματος πρεδνιζολόνη, [54 (13,4%) χαμηλή δόση, 71 (17,9%), μέση δόση και 0 (0%) υψηλή δόση], 79 (19,8%) ΜΣΑΦ και 32 (8%) κοξίμπες.

Από το σύνολο των ασθενών, 118 (29,5%) ήταν νορμοτασικοί και 282 (70,5%) υπερτασικοί (άρρηνες έναντι θήλεων: 79,6% έναντι 67,1%, $p=0,015$). Από τους υπερτασικούς, 171 (60,6%) ήταν διεγνωσμένοι και έπαιρναν αντι-υπερτασική αγωγή, ενώ 111 (39,4%) είχαν αδιάγνωστη ΥΠ (άνδρες vs. γυναίκες: 35,3% vs. 41,3%, $p=6,37$). Η αδιάγνωστη ΥΠ ήταν σημαντικά συχνότερη στις μικρότερες ηλικιακές ομάδες (35-44 έτη:

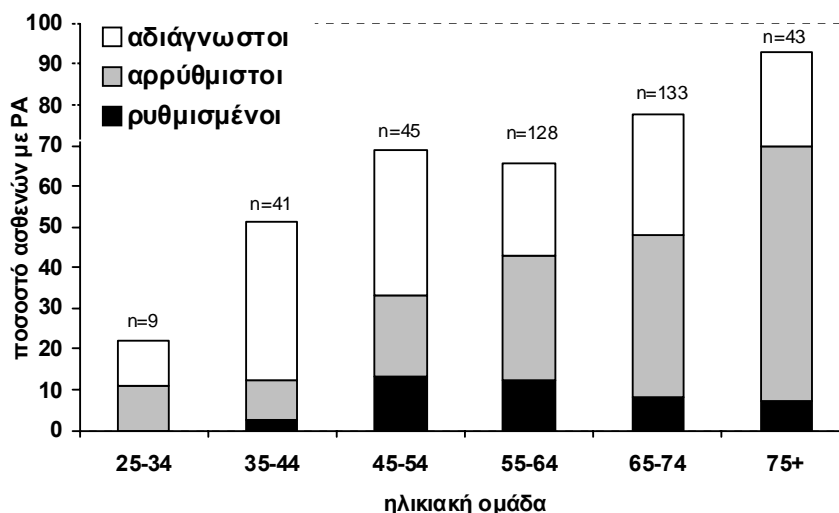
Πίνακας 4: Δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης

	Σύνολο (N=400)	Νορμοτασικοί (N=118)	Υπερτασικοί (N=282)	p
Γενικά δημογραφικά χαρακτηριστικά				
Ηλικία (χρόνια)	63,1 (55,5-69,6)	58,86 (46,82-66)	65,35 (57,55-71,22)	<0,001
Γυναίκες, n (%)	292 (73)	96 (81,4)	196 (69,5)	0,015
Καπνιστική συνήθεια n (%)				
Μη καπνιστές	171 (45)	59 (50,9)	117 (42,4)	0,005
Πρώην καπνιστές	145 (38,2)	31 (26,7)	120 (43,5)	
Καπνιστές	64 (16,8)	26 (22,4)	39 (14,1)	
Pack years (Πακέτα ημερησίως x χρόνια καπνίσματος)	3 (0-20)	0,5 (0-20)	5 (0-20)	NS
Χαρακτηριστικά της RA				
Γενικά χαρακτηριστικά				
Θετικός RF n (%)	296 (75,7)	86 (74,8)	210 (76,1)	
Anti-CCP θετικό n (%)	198 (66,4)	51 (63,8)	147 (67,4)	NS
Διάρκεια της νόσου (χρόνια)	10 (4-18)	9,5 (4-17,25)	10 (4-19)	NS
Ενεργότητα της νόσου				
CRP (mg/L)	8 (5-20)	9 (4-18,25)	8 (5-20)	NS
ΤΚΕ	21 (9-36,5)	9 (5-17)	10 (5-22)	NS
DAS-28	4,21±1,4	4,23±1,49	4,21±1,37	NS
Σοβαρότητα της νόσου				
HAQ	1,5 (0,63-2,13)	1,63 (0,59-2)	1,5 (0,63-2,25)	NS
Εξω-αρθρική νόσος n (%)	269 (67,3)	77 (65,3)	192 (68,1)	NS
Ολική αρθροπλαστική n (%)	116 (29)	37 (31,4)	79 (28)	NS
Φάρμακα				
DMARDs n (%)	350 (87,5)	104 (88,1)	246 (87,2)	NS
Μεθοτρεξάτη n (%)	225 (56,3)	71 (60,2)	154 (54,6)	NS
Αντι-TNF n (%)	46 (11,5)	14 (11,9)	32 (11,3)	NS
Λεφλουνομίδη n (%)	16 (4)	6 (5,1)	10 (3,5)	NS
Πρεδνιζολόνη n (%)	125 (31,3)	28 (23,7)	97 (34,4)	0,036
Μέση δόση πρεδνιζολόνης n (%)	71 (17,9)	11 (9,3)	60 (21,5)	0,004
ΜΣΑΦ n (%)	79 (19,8)	27 (22,9)	52 (18,4)	NS
Κοξίμπη n (%)	32 (8)	10 (8,5)	22 (7,8)	NS
Στατίνη n (%)	78 (19,5)	10 (8,5)	68 (24,1)	<0,001
Συνοσηρότητες				
Δυσλιπιδαιμία				
Ιστορικό υπερχοληστερολαιμίας n (%)	78 (19,5)	12 (10,2)	66 (23,4)	0,002
TC mmol/L ¹	5,44±1,15	5,26±1	5,54±1,16	0,032
TG mmol/L ¹	1,2 (0,9-1,6)	1,1 (0,9-1,5)	1,3 (1-1,6)	0,013
HDL mmol/L ¹	1,6 (1,3-1,9)	1,5 (1,3-1,8)	1,6 (1,3-1,9)	NS
LDL mmol/L ¹	3,24±1,15	3,13±1,09	3,3±1,17	NS
Αντίσταση στην Ινσουλίνη				
Αντίσταση στην ινσουλίνη n (%)	147 (38,2)	25 (22,3)	122 (44,7)	<0,001
Σαχαρώδης διαβήτης n (%)	28 (7)	3 (2,5)	25 (8,9)	0,015
Γλυκόζη mmol/L	4,9 (4,6-5,375)	4,8 (4,5-5,2)	5 (4,6-5,48)	0,009
Ινσουλίνη pmol/L	60,05 (41,28-102,75)	53,05 (34,18-76,43)	66,5 (43,78-118)	0,001
HOMA IR	1,96 (1,25- 3,35)	1,55 (1,01-2,42)	2,09 (1,33-3,72)	0,001
QUICKI	0,35 (0,32-0,37)	0,36 (0,33-0,38)	0,34 (0,31-0,37)	0,001
Νεφρική λειτουργία				
Πλήρης MDRD	82±21,24	88,56±18,76	79,13±21,63	<0,001
Παχυσαρκία				
ΔΜΣ	27,67±5,03	26,42±4,9	28,27±4,98	0,001

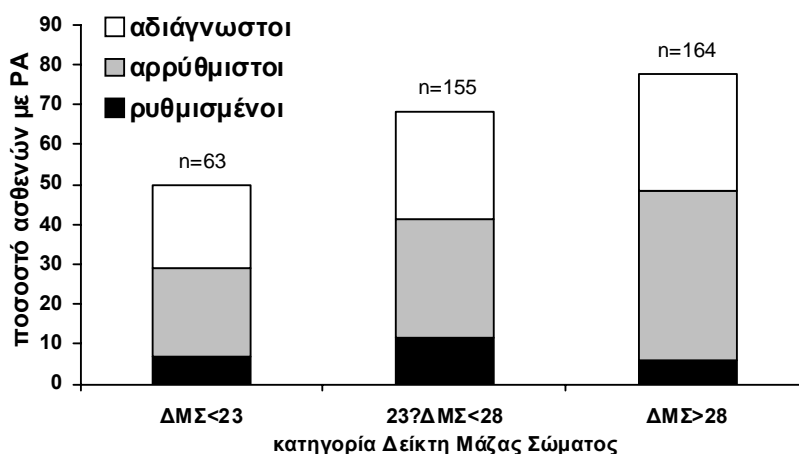
Αποτελέσματα εκπεφρασμένα ως ποσοστά (%), διάμεσους (25-75η εκατοστιαία θέση) ή μέσες τιμές ± SD όπως απαιτείται NS: non significant μη στατιστικά σημαντικό, MDRD: Modification of Diet in Renal Disease, ¹ασθενείς που δεν έπαιρναν στατίνες (N=322, 80,5%)

76,2%, 45-54 έτη: 51,6%) σε σύγκριση με τις μεγαλύτερες ηλικίες (55-64 έτη: 34,5%, 65-74 έτη: 37,9%, 75+ έτη: 25%) ($p=0,003$) (Σχήμα 7).

Από τους 171 διαγνωσθέντες υπερτασικούς που βρίσκονταν υπό αντι-υπερτασική αγωγή, 37 (21.63%) είχαν ρυθμισμένη ΥΠ και 134 (78.36%) είχαν αρρυθμιστη ΥΠ. Η αρρυθμιστη ΥΠ ήταν πιο συχνή στους ηλικιωμένους ($p=0.003$) (Σχήμα 7) και στους υπέρβαρους/παχύσαρκους ασθενείς ($p=0.029$) (Σχήμα 8).



Σχήμα 7. Ποσοστά ασθενών με ΡΑ, με αδιάγνωστη, αρρυθμιστη και ρυθμισμένη ΥΠ ανάλογα με την ηλικιακή ομάδα.



Σχήμα 8. Ποσοστά ασθενών με ΡΑ, με αδιάγνωστη, αρρυθμιστη και ρυθμισμένη ΥΠ ανάλογα με την κατηγορία ΔΜΣ.

Το ποσοστό της ρυθμισμένης ΥΠ (ρυθμισμένη ΥΠ προς τη συνολικής ΥΠ) ήταν 37/282 (13.12%). Αυτό ήταν πολύ χαμηλό στη νεότερη ηλικιακή ομάδα (35-44 έτη: 4.8%)

και στις ομάδες μεγαλύτερης ηλικίας (65-74 έτη: 10.7% και 75+ έτη: 7.5%), και αρκετά χαμηλό στους μεσήλικες ασθενείς (45-54 έτη: 19.4%, 55-64 έτη: 19%).

1.1.1.2. Διαφορές μεταξύ υπερτασικών και νορμοτασικών:

Οι υπερτασικοί ασθενείς με PA, σε σχέση με τους νορμοτασικούς, ήταν πιο ηλικιωμένοι [65,4 (57,5-71,2) έναντι 58,9 (46,8-66,0) ετών, $p < 0,001$], ήταν πιο συχνά άνδρες (30,5% vs. 18,6%, $p = 0,015$), είχαν υψηλότερο ΔΜΣ ($28,27 \pm 4,98$ vs. $26,42 \pm 4,9$, $p = 0,001$), πιο συχνά ήταν πρώην καπνιστές (43,5% vs. 26,7%, $p = 0,005$), έπαιρναν μέση δόση πρεδνιζολόνης (21,5% vs. 9,3%, $p = 0,004$), είχαν αντίσταση στην ινσουλίνη (44,7% vs. 22,3%, $p < 0,001$), υψηλότερο επιπολασμό ΣΔ (8,9% vs. 2,5%, $p = 0,015$), ψηλότερο HOMA IR [$2,06$ (1,27-3,52) vs. $1,52$ (0,93-2,37), $p < 0,001$] και μικρότερες τιμές QUICKI [$0,34$ (0,32-0,37) vs. $0,36$ (0,33-0,39), $p < 0,001$]. Είχαν επίσης, υψηλότερα επίπεδα λιπιδίων [TC ($5,54 \pm 1,16$ vs. $5,26 \pm 1$ mmol/L, $p = 0,032$) και TG ($1,3$ (1-1,6) vs. $1,1$ (0,9-1,5) mmol/L, $p = 0,013$)] και χειρότερη νεφρική λειτουργία ($79,13 \pm 21,63$ vs. $88,56 \pm 18,76$ ml/min/1,73m², $p < 0,001$). Δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των υπερτασικών και των νορμοτασικών ασθενών όσον αφορά τα επίπεδα συστηματικής φλεγμονής (ESR, CRP, DAS-28), της φυσιολογικής λειτουργικότητας (HAQ) ή της χρήσης των ΜΣΑΦ, coxibs, λεφλουνομίδης ή άλλων DMARDs.

Οι ασθενείς με αρρυθμιστη ΥΠ σε σύγκριση με εκείνους με ρυθμισμένη ΥΤ, δεν είχαν σημαντικές διαφορές στην ηλικία ($66,22 \pm 10,32$ έναντι $62,7 \pm 9,28$ ετών, $p = 0,06$). Αντίθετα, είχαν σημαντικά υψηλότερο ΔΜΣ ($28,97 \pm 5,12$ έναντι $26,87 \pm 4,83$, $p = 0,03$) και μεγαλύτερη συχνότητα ΚΑΝ (36,8% έναντι 13,5%, $p = 0,007$). Η χρήση των α-MEA /ARBs, ήταν συχνότερη στην ομάδα με την αρρυθμιστη ΥΤ έναντι των ασθενών με ρυθμισμένη ΗΤ (63,9% vs. 45,9%, $p = 0,049$). Δεν υπήρχε καμία διαφορά σε οποιοσδήποτε από τις άλλες κατηγορίες αντιυπερτασικών φαρμάκων (**Πίνακας 5**).

1.1.1.3. Πολυπαραγοντική ανάλυση

Το μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης συμπεριλάμβανε την ηλικία, το φύλο, το ΔΜΣ, το κάπνισμα, την TC, τα TG, την αντίσταση στην ινσουλίνη, τον εκτιμώμενο ρυθμό σπειραματικής διήθησης (φόρμουλα MDRD), τη χρήση της καθημερινής από του στόματος μεσέας δόσης πρεδνιζολόνης, τη λήψη ΜΣΑΦ ή coxibs, λεφλουνομίδης καθώς και στατινών. Το μοντέλο αυτό κατασκευάστηκε προκειμένου να αξιολογηθεί ποιοι από τους ανωτέρω παράγοντες σχετίζονται ανεξάρτητα με την παρουσία ΥΠ.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα οι παράγοντες αυτοί είναι η ηλικία [λόγος αναλογιών (odds ratio), OR=1,05, 95% CI: 1,02-1,07, $p < 0,001$], ο ΔΜΣ (OR=1,06, 1,003-1,12, $p = 0,038$) και η χρήση μέσης δόσης από του στόματος πρεδνιζολόνης (OR=2,39, 1,02-5,6, $p = 0,045$).

Πίνακας 5. Αντιυπερτασική θεραπεία σε ρυθμισμένους και αρρυθμιστούς υπερτασικούς ασθενείς με PA

Φάρμακα, N (%)	Σύνολο (N=171)	Ρυθμισμένοι (N=37)	Αρρυθμιστοι (N=134)	p
Θειαζιδικά διουρητικά	78 (45,9)	19 (51,4)	59 (44,4)	NS
Φουροσεμίδη	16 (9,4)	2 (5,4)	14 (10,5)	NS
β-αποκλειστές (ένδειξη ΥΤ)	47 (27,6)	10 (27)	37 (28,7)	NS
β-αποκλειστές (όλες τις ενδείξεις*)	61 (35,9)	12 (32,4)	49 (36,8)	NS
αΜΕΑ/ARBs	102 (60)	17 (45,9)	85 (63,9)	0,049
Διυδροπυριδίνες CCBs	41 (24,1)	6 (16,2)	35 (26,3)	NS
Μη διυδροπυριδίνες CCBs	6 (3,5)	0 (0)	6 (4,5)	NS
Σύνολο CCBs	46 (27,1)	6 (16,2)	40 (30,1)	NS
Κεντρικώς δρώντα αντιυπερτασικά	5 (2,9)	1 (2,7)	4 (3)	NS
α-αδρενεργικοί αποκλειστές	9 (5,3)	2 (5,4)	7 (5,3)	NS

* αρρυθμίες, ΚΑ, στηθάγχη, μετά από έμφραγμα μυοκαρδίου

NS: not significant, μη στατιστικά σημαντικό

Μια παρόμοια προσέγγιση χρησιμοποιήθηκε για να προσδιορίσει τους παράγοντες που σχετίζονται με αρρυθμιστή ΥΠ στους ασθενείς με PA. Το μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης περιελάμβανε την ηλικία, το φύλο, καθώς και τους παράγοντες που ήταν σημαντικοί στην ανωτέρω μονοπαραγοντική ανάλυση (ΔΜΣ και την παρουσία ΚΑΝ) και τις τέσσερες κύριες κατηγορίες αντιυπερτασικών φαρμάκων (τα θειαζιδικά διουρητικά, τους β-αποκλειστές, τους α-MEA και τους CCBs. Ο αυξημένος ΔΜΣ (OR=1,11, 1,02 έως 1,21, $p = 0,018$) και η παρουσία ΚΑΝ (OR=4,01, 1,27 έως 12,69, $p = 0,018$) ήταν οι μόνοι παράγοντες που διατήρησαν τη σημαντική συσχέτισή τους με την παρουσία αρρυθμιστής ΥΠ.

1.1.2. Συζήτηση

Ο επιπολασμός της ΥΤ ήταν 70%, ποσοστό υψηλότερο και από τον επιπολασμό της ΥΠ σε άτομα άνω των 75 ετών στην Αγγλία, με βάση τα στοιχεία από την εθνική έρευνα υγείας του 2003 για την Αγγλία (National Health Survey for England NHSE) [216]. Ο επιπολασμός της ΥΠ φαίνεται ότι είναι υψηλός σε όλες τις ηλικιακές ομάδες των ασθενών με PA. Στη μελέτη μας, ο καθορισμός της ΥΠ βασίστηκε στο μέσο όρο τριών

κλινικών μετρήσεων της ΑΠ: αυτό μπορεί να μην είναι τόσο αξιόπιστο όσο η 24ωρη καταγραφή της ΑΠ, η οποία μπορεί να αποκλείσει τις περιπτώσεις της ΥΠ της λευκής μπλούζας [217]. Ωστόσο, και η NHSE βασίστηκε σε 3 μετρήσεις της ΑΠ για να καθορίσει την ΥΠ. Η NHSE πραγματοποιήθηκε σε επίπεδο κοινότητας, ενώ ο πληθυσμός της μελέτης μας ήταν αποκλειστικά ασθενείς δευτεροβάθμιας φροντίδας, και κατά συνέπεια η συχνότητα της ΥΠ στο γενικό πληθυσμό των ασθενών με ΡΑ μπορεί να έχει υπερεκτιμηθεί. Επιπλέον, η μελέτη μας δεν είχε ομάδα ελέγχου από τον τοπικό πληθυσμό. Είναι γνωστό ότι η συχνότητα της ΥΠ μπορεί να ποικίλει από τοποθεσία σε τοποθεσία: οι βόρειες περιοχές της Μ. Βρετανίας έχουν υψηλότερα ποσοστά ΥΠ σε σύγκριση με τις περιοχές στο νότο [218]. Ωστόσο, σε μια πρόσφατη έρευνα από το γεωγραφικά γειτονικό (<6 μίλια) Wolverhampton, ο επιπολασμός της ΥΠ στον ενήλικο μη διαβητικό τοπικό πληθυσμό εκτιμήθηκε περίπου στο 28%, ποσοστό ίσο με τον εθνικό μέσο όρο [219].

Ένα σημαντικό ποσοστό υπερτασικών ασθενών με ΡΑ (35% των αντρών και 41% των γυναικών) ήταν αδιάγνωστοι και ως εκ τούτου δε έπαιρναν ειδική αντιυπερτασική αγωγή. Τα νούμερα αυτά είναι υψηλότερα από τα αντίστοιχα της NHSE (άντρες 6,4-33,1%, γυναίκες 1,7-33,9%) γεγονός αρκετά απογοητευτικό, δεδομένου ότι οι ασθενείς με ΡΑ παρακολουθούνται τακτικά στα εξωτερικά ιατρεία νοσοκομείων και συχνά χρησιμοποιούν τις υπηρεσίες πρωτοβάθμιας περίθαλψης [220] όπου θα μπορούσε να γίνεται τακτικός έλεγχος της ΑΠ τους. Είναι ιδιαίτερα ανησυχητικό ότι η αδιάγνωστη ΥΠ είναι πολύ πιο συχνή στους ασθενείς νεαρής ηλικίας, δηλ. εκείνους που θα ωφελούνταν περισσότερο από την έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία της ΥΠ. Από το σύνολο των ασθενών με ΡΑ και ΥΠ, το ποσοστό ρυθμισμένης ΥΠ (ρυθμισμένη/σύνολο ΥΠ) ήταν 13,2%, σημαντικά μικρότερο από αυτό που έχει παρατηρηθεί στο γενικό πληθυσμό στους άντρες (21,5%) και στις γυναίκες (22,8%) [65]. Στους νεότερους ασθενείς, αυτό το ποσοστό ανεπαρκούς ελέγχου της ΑΠ οφείλεται κυρίως στο γεγονός ότι παρέμεναν αδιάγνωστοι, ενώ στους πιο ηλικιωμένους ασθενείς και εκείνους με ΚΑΝ, οφείλεται στην αδυναμία ρύθμισης της ΥΠ (είτε λόγω υπο-θεραπευτικής αντιυπερτασικής αγωγής, είτε λόγω έλλειψης συμμόρφωσης [221] -η οποία μπορεί να είναι αποτέλεσμα της πολυφαρμακίας που χαρακτηρίζει την πλειονότητα των ασθενών με ΡΑ [222]). Η αποτελεσματική αντιυπερτασική θεραπεία έχει συσχετισθεί με μέση μείωση κατά 40% της επίπτωσης των ΑΕΕ, 20% των εμφραγμάτων μυοκαρδίου και σε περισσότερο από

50% της ΚΑ [70] στο γενικό πληθυσμό. Μπορούμε να συμπεράνουμε πως το μεγάλο ποσοστό αρρυθμιστής ΥΠ στη ΡΑ μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα εξαιτίας ΚΑΝ.

Παρόμοια αυξημένος επιπολασμός ΥΠ με ανεπαρκή ρύθμιση ήταν χαρακτηριστικό των ασθενών με ΣΔ. Ωστόσο η εφαρμογή επιθετικών, συστηματικών μεθόδων ελέγχου (screening) και αντιμετώπισης της ΥΠ σε αυτήν την ομάδα των ασθενών φαίνεται να έχουν βελτιώσει τον έλεγχο της ΑΠ [223] και τη συνολική καρδιαγγειακή έκβαση [224] στην τελευταία δεκαετία. Οι ομοιότητες μεταξύ ΡΑ και ΣΔ όσον αφορά τις καρδιαγγειακές τους επιπλοκές έχουν συζητηθεί σε προηγούμενες μελέτες [225]. Κατά συνέπεια εξίσου επιθετικά προγράμματα διάγνωσης και αντιμετώπισης πρέπει να εφαρμοστούν και στην περίπτωση ασθενών με ΡΑ. Η τακτική αξιολόγηση του καρδιαγγειακού κινδύνου έχει προταθεί επίσημα από την Arthritis and Musculoskeletal Alliance (ARMA) [226] ως ένας από τους “κανόνες φροντίδας” ασθενών με ΡΑ, αλλά δεν φαίνεται ακόμη να έχει γίνει κοινή πρακτική στο Ηνωμένο Βασίλειο.

Ένας από τους κύριους στόχους της παρούσας μελέτης ήταν ο προσδιορισμός των παραγόντων κινδύνου που σχετίζονται με την εμφάνιση ΥΠ στη ΡΑ. Στη μονοπαραγοντική ανάλυση σημαντικές συσχετίσεις της ΥΠ βρέθηκαν με το κάπνισμα και με την αντίσταση στην ινσουλίνη, συσχετίσεις που έχουν περιγραφεί προηγουμένως στο γενικό πληθυσμό [227]. Εντούτοις, αυτές οι συσχετίσεις δεν παρέμειναν ισχυρές στην πολυπαραγοντική ανάλυση, η οποία αποκάλυψε ότι αυτές οι παράμετροι σχετίζονταν με την ΥΠ δια μέσου της αύξησης του ΔΜΣ [228]. Οι μόνες μεταβλητές που σχετίζονται ανεξάρτητα με την ΥΠ στην ΡΑ ήταν η προχωρημένη ηλικία και ο ΔΜΣ. Πρόσφατα έχει προταθεί ότι τα όρια ταξινόμησης των ασθενών με ΡΑ στην κατηγορία των υπέρβαρων (ΔΜΣ >23) και των παχύσαρκων (ΔΜΣ >28) πρέπει να χαμηλώσουν, έτσι ώστε να αντανακλούν τη διαφορετική σωματική τους σύσταση (αυξημένο ποσοστό λίπους για δεδομένο ΔΜΣ) [229].

Η πολυφαρμακία είναι χαρακτηριστικό πολλών ασθενών με ΡΑ [222] και πολλά από τα χορηγούμενα φάρμακα έχουν τη δυνατότητα να προκαλέσουν μεγαλύτερες ή μικρότερες αυξήσεις των επιπέδων της ΑΠ. Στην παρούσα μελέτη δεν υπήρξε καμία προφανής συσχέτιση μεταξύ της ΥΠ και της χρήσης ΜΣΑΦ, coxibs ή DMARDs (λεφλουνομίδης και κυκλοσπορίνης). Όσον αφορά τα DMARDs η απουσία συσχέτισης μπορεί να οφείλεται στον πολύ μικρό αριθμό ασθενών που λάμβαναν αυτά τα φάρμακα.

Σε σχέση με τα ΜΣΑΦ/coxibs, η εξήγηση της απουσίας συσχέτισης είναι δυσκολότερη, δεδομένου ότι στη βιβλιογραφία υπάρχουν επαρκή στοιχεία που υποστηρίζουν την ύπαρξή της [121,225]. Παρόλο που η ακριβής συχνότητα και δόση της θεραπευτικής αγωγής με ΜΣΑΦ/coxibs ήταν διαθέσιμη, η ακριβής χρήση αυτών των φαρμάκων από τους ασθενείς δεν καταγράφηκε λεπτομερώς στην παρούσα μελέτη. Είναι γνωστό ότι η συμμόρφωση στη θεραπεία μπορεί να είναι χαμηλή στις συγχρονικές (cross-sectional) μελέτες στη ΡΑ, σε αντίθεση με τις τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες που συνήθως συσχετίζονται με υψηλά ποσοστά συμμόρφωσης [221].

Η σημαντική συσχέτιση που βρέθηκε μεταξύ της ΥΠ και της καθημερινής χρήσης μέσης δόσης ($\geq 7,5$ mg/ημέρα) από του στόματος πρεδνιζολόνης, θα μπορούσε να οφείλεται είτε στις παρενέργειες των ΚΣ, είτε στην επιλογή ασθενών με υψηλό φορτίο συστηματικής φλεγμονής (που απαιτούν ΚΣ για το έλεγχο της ασθένειας). Αυξημένα επίπεδα συστηματικής φλεγμονής έχουν επίσης συνδεθεί με ΥΠ στο γενικό πληθυσμό. Μια προοπτική μελέτη κοόρτης [77] έδειξε πρόσφατα ότι τα επίπεδα CRP σχετίζονται με τη μελλοντική ανάπτυξη ΥΠ. Οι αυξημένες τιμές των δεικτών της φλεγμονής, όπως η CRP έχει βρεθεί ότι συσχετίζεται με χειρότερη έκβαση στους ασθενείς με ΡΑ [225,230], αλλά όχι άμεσα με την παρουσία ΥΠ.

Τέλος, η παρούσα μελέτη σχεδιάστηκε προκειμένου να εκτιμηθούν οι παράγοντες που μπορεί να σχετίζονται με ανεπαρκή ρύθμιση της ΥΠ στους ασθενείς με ΡΑ. Ισχυρές συσχετίσεις βρέθηκαν μεταξύ της αρρυθμιστής ΥΠ και του αυξημένου ΔΜΣ καθώς και με την παρουσία ΚΑΝ. Σε άτομα με ΚΑΝ η ρύθμιση της ΑΠ είναι πιο δύσκολο να επιτευχθεί, καθώς τα επιθυμητά επίπεδα ΑΠ είναι χαμηλότερα ($<130/80$ mmHg) από εκείνα που αφορούν το γενικό πληθυσμό ($<140/90$ mmHg). Μπορεί, λοιπόν, να συμπεράνει κανείς ότι οι ηλικιωμένοι και υπέρβαροι ασθενείς με ΡΑ και ΚΑΝ πρέπει να αποτελέσουν κύριο στόχο επιθετικού ελέγχου της ΥΠ. Κανένα από τα αντιυπερτασικά φάρμακα στην παρούσα μελέτη δεν αποδείχθηκε ανώτερο από τα υπόλοιπα, ενώ η υψηλή συχνότητα χρήσης α -ΜΕΑ/ΑΡΒ μεταξύ των αρρυθμιστών ασθενών με ΡΑ και ΥΠ μπορεί απλά να αντανakλά τα υψηλότερα ποσοστά ΚΑΝ και του ΣΔ (μιας και οι α -ΜΕΑ και τα ΑΡΒ χρησιμοποιούνται ευρέως σε αυτούς τους ασθενείς). Είναι πιθανό ότι αυτοί οι ασθενείς απαιτούν συνδυασμό αντιυπερτασικής θεραπείας με πολύ στενή παρακολούθηση λόγω της πολυφαρμακίας τους [222], της αυξημένης συνοδού νοσηρότητας [231] και της φτωχής συμμόρφωσης [221].

1.2. Συσχέτιση ΥΠ και ουρικού οξέος σε ασθενείς με PA

1.2.1. Εισαγωγή

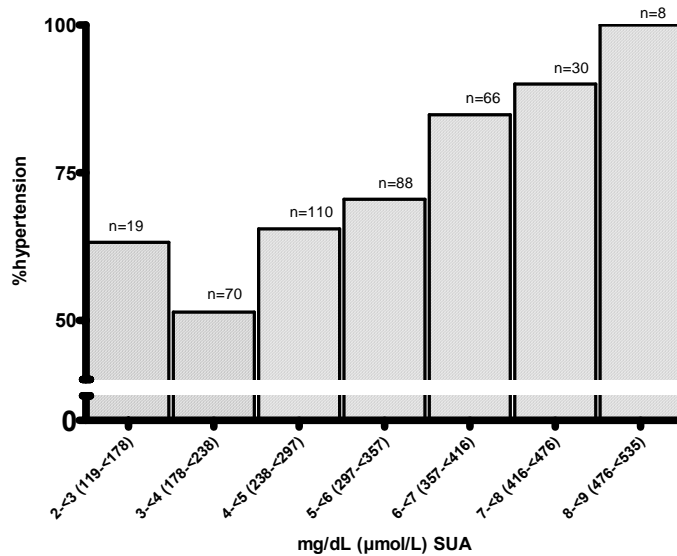
Το ουρικό οξύ αποτελεί υποπροϊόν του μεταβολισμού της πουρίνης και θεωρείται ότι ασκεί ευνοϊκές επιδράσεις ως αντιοξειδωτικό [232]. Τα επίπεδα του ουρικού οξέος είναι συχνά υψηλά στους υπερτασικούς ασθενείς. Υπάρχουν δεδομένα που δείχνουν ότι το 25% των ασθενών με αρρυθμιστη ΥΠ, το 50% των ασθενών υπό αγωγή με διουρητικά και ένα ποσοστό >75% των ατόμων με κακοήθη ΥΠ ή νεφρική δυσλειτουργία έχουν αυξημένο ουρικό οξύ [233]. Το ουρικό οξύ έχει συσχετισθεί παθοφυσιολογικά με την ΚΑΝ και την ΥΠ. Μελέτες έδειξαν ότι το ουρικό οξύ αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση ΚΑΝ στο γενικό πληθυσμό [234], και ενδεχομένως στους ασθενείς με PA [4] και μετά τη διόρθωση για τους παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου, όπως η ηλικία, το φύλο και η χορήγηση διουρητικών. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η ταυτόχρονη εμφάνιση PA και ουρικής αρθρίτιδας σε έναν ασθενή είναι εξαιρετικά σπάνια παρότι πρόκειται για δύο ευρέως διαδεδομένες ρευματολογικές νόσους [235]. Κατά συνέπεια θα μπορούσε να υποτεθεί ότι η αύξηση των επιπέδων του ουρικού οξέος πιθανόν ασκεί κατασταλτική επίδραση στη φλεγμονή της PA.

Στην παρούσα μελέτη αξιολογήσαμε κατά πόσον τα επίπεδα του ουρικού οξέος είναι αυξημένα σε υπερτασικούς ασθενείς με PA και κατά πόσον αυτή η συσχέτιση είναι ανεξάρτητη από την παρουσία άλλων παραγόντων κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ καθώς και από τη λήψη ειδικής αντι-υπερτασικής αγωγής και ιδιαίτερα διουρητικών παραγόντων.

1.2.2. Αποτελέσματα

Τριάντα επτά (9,3%) ασθενείς (6 άνδρες και 31 γυναίκες) είχαν υπερουριχαιμία, με επίπεδα ουρικού οξέος στον ορό >8,4 mg dL⁻¹ (500 μmol L⁻¹) για τους άντρες και >6,7 mg dL⁻¹ (400 μmol L⁻¹) για τις γυναίκες. Οι ασθενείς με ΥΠ είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ουρικού οξέος σε σύγκριση με τους νορμοτασικούς [5,44±1,6 mg dL⁻¹ (323,57±95,17 μmol L⁻¹) vs. 4,56±1,1 mg dL⁻¹ (271,23±65,43 μmol L⁻¹), p<0,001]. Για κάθε αύξηση κατά 1 mg dL⁻¹ (59,48 μmol L⁻¹) στα επίπεδα του ουρικού οξέος, ο λόγος αναλογιών για την παρουσία ΥΠ ήταν 1,6 (OR=1,59, CI: 1,34-1,9; p<0,001) (Σχήμα 9).

Αυτός παρέμεινε ουσιαστικά αμετάβλητος (OR=1.59, 95% CI: 1.21-2.1 $p=0.001$), όταν στο στατιστικό μοντέλο συνυπολογίστηκαν όλοι οι γνωστοί παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ που αξιολογούνται στην παρούσα μελέτη: η ηλικία, το φύλο, ο ΔΜΣ, το κάπνισμα, μεταβολικές διαταραχές, όπως η δισλιπιδαιμία και η αντίσταση στην ινσουλίνη, οι διαταραχές της νεφρικής λειτουργίας, χαρακτηριστικά της νόσου της PA (DAS-28, HAQ, διάρκεια της νόσου), και η χορήγηση φαρμάκων (ΜΣΑΦ, coxibs, ΚΣ, κυκλοσπορίνη, λεφλουνομίδη, ασπιρίνη). Η συσχέτιση παρέμεινε στατιστικά σημαντική ακόμα και όταν η ανάλυση πραγματοποιήθηκε μόνο με ασθενείς που δεν έπαιρναν διουρητικά (OR=1.5, 95%CI: 1.1-2.05 $p=0.011$) (Πίνακας 6).



Σχήμα 9. Επιπολασμός της ΥΠ για κάθε αύξηση του ουρικού οξέος του ορού κατά 1mg/dL.

1.2.3. Συζήτηση

Σύμφωνα με τα ευρήματα της μελέτης, τα αυξημένα επίπεδα του ουρικού οξέος στον ορό συσχετίζονται, ανεξάρτητα με την παρουσία ΥΠ στους ασθενείς με PA. Αυτή η συσχέτιση ήταν ανεξάρτητη από την παρουσία άλλων παραγόντων κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ, των χαρακτηριστικών της PA (διάρκεια της νόσου, DAS-28, HAQ), της χορήγησης φαρμάκων (συμπεριλαμβανομένου ΜΣΑΦ, coxibs, ΚΣ, λεφλουνομίδης, κυκλοσπορίνης, διουρητικών και χαμηλής δόσης ασπιρίνης) ή συμπαρομαρτούντων καταστάσεων όπως η αντίσταση στην ινσουλίνη και η έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας. Αν και ο πληθυσμός της μελέτης ήταν σχετικά μεγάλος, ο σχεδιασμός της ως συγχρονική μελέτη δεν αποδεικνύει τη σχέση αιτιότητας μεταξύ των αυξημένων

επιπέδων ουρικού οξέος και της ΥΠ και η ερμηνεία των αποτελεσμάτων πρέπει να γίνεται με σχετική επιφύλαξη. Ωστόσο, η μελέτη μας μπορεί να χρησιμεύσει ως βάση για την εξαγωγή συμπερασμάτων και το σχεδιασμό μελλοντικών προοπτικών μελετών.

Πίνακας 6. Λόγος αναλογιών (odds ratio, OR) για την εμφάνιση ΥΠ για κάθε αύξηση κατά 1 mg/dL ($59,48 \mu\text{molL}^{-1}$) του ουρικού οξέος του ορού σε ασθενείς με PA

	OR	95% CI	p
Μοντέλο 1 (n=397)	1,59	(1,34-1,9)	<0,001
Μοντέλο 2 (n=357)	1,39	(1,1-1,75)	0,006
Μοντέλο 3 (n=337)	1,48	(1,15-1,88)	0,002
Μοντέλο 4 (n=334)	1,6	(1,22-2,09)	0,001
Μοντέλο 5 (n=334)	1,6	(1,21-2,1)	0,001
Μοντέλο 6 (n=252)	1,5	(1,1-2,05)	0,011

Μοντέλο 1=crude, χωρίς διόρθωση για συγχυτικούς παράγοντες

Μοντέλο 2= Μοντέλο 1 και διόρθωση για την παρουσία ΥΠ και άλλους παράγοντες [ηλικία, γένος, καπνιστική συνήθεια, ΔΜΣ, πλήρες MDRD, TG, HDL, HOMA IR]

Μοντέλο 3= Μοντέλο 2 και διόρθωση για παραμέτρους της νόσου PA (διάρκεια της νόσου, HAQ, DAS-28)

Μοντέλο 4= Μοντέλο 3 και διόρθωση για τη λαμβανόμενη φαρμακευτική αγωγή [ΜΣΑΦ/Coxibs, μέση δόση ($\geq 7,5\text{mg}$) από του στόματος πρεδνιζολόνη ημερησίως, κυκλοσπορίνη, λεφλουνομίδη]

Μοντέλο 5= Μοντέλο 4, και διόρθωση για τη χορήγηση χαμηλών δόσεων ασπιρίνης

Μοντέλο 6= Μοντέλο 5 χωρίς τους ασθενείς που έπαιρναν διουρητικά

n: ο αριθμός των ασθενών που συμπεριλαμβάνονται σε κάθε μοντέλο

καπνιστική συνήθεια: μη καπνιστής, πρώην καπνιστής, καπνιστής

Η σχέση της ΥΠ και της αύξησης του ουρικού οξέος στους ασθενείς με PA διαμορφώνει μια καμπύλη J. Σχεδόν όλες οι μελέτες που διερεύνησαν τη συσχέτιση ουρικού οξέος και ΚΑΝ στο γενικό πληθυσμό ανέδειξαν μια παρόμοια καμπύλη J [232]. Ο πρώτος που παρατήρησε τη συσχέτιση του ουρικού οξέος με αυξημένα επίπεδα ΑΠ ήταν ο Frederick Mohamed το 1870. Έκτοτε διάφορες μελέτες έχουν επιβεβαιώσει αυτήν την συσχέτιση στο γενικό πληθυσμό [236,237]. Σε μια πρόσφατη μελέτη ο Coutinho και συν. [238] κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι στα υπερτασικά άτομα, τα επίπεδα του ουρικού οξέος συσχετίζονται αντίστροφα με τη ροή του αίματος στο αντιβράχιο στην ηρεμία και με αντιδραστική υπεραιμία. Αυτά τα στοιχεία υποδηλώνουν την ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ των αυξημένων επιπέδων του ουρικού οξέος και της δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου σε ασθενείς με ΥΠ. Αυτή η δυσλειτουργία θα μπορούσε να εξηγήσει το φαινόμενο «non dipping» κατά τη διάρκεια της νύχτας, που με τη σειρά του σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ΚΑΝ [239].

Είναι γενικά αποδεκτό ότι υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ της ουρικής αρθρίτιδας και της ΡΑ [240]. Δύο δεκαετίες πριν, ο Turner και συν. [241] έδειξαν σε ένα *in vitro* σύστημα ότι τα υψηλά επίπεδα του ουρικού οξέος αναστέλλουν την παραγωγή του RF και θα μπορούσαν επομένως να έχουν ανοσοκατασταλτικές ιδιότητες. Άλλοι μηχανισμοί περιλαμβάνουν τη μείωση της φαγοκυτταρικής λειτουργίας των ουδετεροφίλων στο υγρό της άρθρωσης ασθενών με ΡΑ [242] και την αναστολή της ενεργοποίησης των κυτταρικών μεσολαβητών της φλεγμονής και του ορού με την επένδυση των κρυστάλλων ουρικού μονονατρίου από RF [243]. Ο Agudelo και συν. [244] προτείνουν ότι η επιμένουσα υπερουριχαιμία μπορεί να αναστείλει την εκδήλωση της φλεγμονής της ΡΑ. Λαμβάνοντας υπόψη τη συσχέτιση μεταξύ της ΥΠ και της φλεγμονής [77] θα αναμένονταν ότι η συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων του ουρικού οξέος και της εμφάνισης ΥΠ στους ασθενείς με ΡΑ θα ήταν αρνητική. Ωστόσο, στη μελέτη μας αυτή η συσχέτιση ήταν θετική όπως και στο γενικό πληθυσμό και ανεξάρτητη από την παρουσία συστηματικής φλεγμονής, τη διάρκεια της νόσου, τη φαρμακευτική αγωγή, συμπεριλαμβανομένων των διουρητικών και της ασπιρίνης. Η ασπιρίνη μπορεί να είναι ένας σημαντικός συγχυτικός παράγοντας, δεδομένου ότι η αντιαιμοπεταλιακή δόση της ασπιρίνης (75 mg) που χορηγείται στην πρωτοπαθή και τη δευτεροπαθή πρόληψη της ΚΑΝ στους ηλικιωμένους ασθενείς με ΡΑ μπορεί να προκαλέσει σημαντικές αυξήσεις των επιπέδων του ουρικού οξέος [245,246].

Υπάρχουν πολλοί μηχανισμοί με τους οποίους η αύξηση των συγκεντρώσεων του ουρικού οξέος μπορεί να επάγει την εμφάνιση ΥΠ [232]. Το ουρικό οξύ συμβάλλει στη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου διαμέσου της αναστολής της απελευθέρωσής του. Τα αυξημένα επίπεδα ουρικού οξέος μειώνουν τα επίπεδα του νιτρικού οξειδίου και ενεργοποιούν το σύστημα ρενίνης αγγειοτασίνης. Επιπρόσθετα, το ουρικό οξύ διεγείρει επίσης τα ανθρώπινα μονοκύτταρα για την παραγωγή IL-1 β , IL-6 και TNF- α [232], που σηματοδοτούν λειτουργικές επιδράσεις στο αγγειακό ενδοθήλιο [230]. Επί του παρόντος, το ουρικό οξύ δεν θεωρείται παράγοντας κινδύνου για ΚΑΝ και η ασυμπτωματική υπερουριχαιμία θεωρείται καλοήθης και δεν απαιτεί θεραπεία [247]. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η χορήγηση αλλοπουρινόλης (ενός αναστολέα της οξειδάσης της ξανθίνης) μπορεί να μειώσει την ΑΠ σε ασθενείς με υψηλά επίπεδα ουρικού οξέος, ιδίως στα πρώτα στάδια της ΥΠ [248]. Ωστόσο, για την επιβεβαίωση των παραπάνω απαιτούνται μεγάλες μακροχρόνιες προοπτικές μελέτες.

1.3. Συσχέτιση της θεραπείας με κορτικοστεροειδή με την εμφάνιση ΥΠ στους ασθενείς με PA

1.3.1. Εισαγωγή

Στην καθημερινή πράξη, τα βραχυχρόνια σχήματα με τη χορήγηση κορτικοστεροειδών (ΚΣ) χρησιμοποιούνται συχνά ως ενδιάμεση θεραπεία αναμένοντας την έναρξη της δράσης των DMARDs ή στις εξάρσεις της νόσου, και θεωρείται ότι ασκούν την ευεργετική τους επίδραση για τουλάχιστον έξι μήνες [249]. Μια πρόσφατη ανασκόπηση [250] προτείνει ότι ΚΣ που δίνονται επιπρόσθετα στην κλασσική θεραπεία μπορούν ουσιαστικά να μειώσουν το ρυθμό των διαβρωτικών αλλοιώσεων στη PA. Η μακροχρόνια χρήση ΚΣ στη PA αμφισβητείται εξαιτίας της μείωσης της αποτελεσματικότητάς τους και του αυξανόμενου κινδύνου παρενεργειών [251]. Επτά δεκαετίες πριν, ο Cushing ήταν ο πρώτος που επισήμανε τη σχέση μεταξύ των υψηλών επιπέδων κορτιζόλης του πλάσματος και της ΥΠ σε έναν ασθενή με σύνδρομο Cushing [252]. Από τότε, σημαντικός αριθμός μελετών έχει δείξει ότι αυξημένη έκκριση της κορτιζόλης, ακόμη και μέσα στο φυσιολογικό εύρος, σχετίζεται με την εμφάνιση ΥΠ [158,159]. Ωστόσο, δεν έχει ερευνηθεί η επίδραση της εξωγενούς μακροχρόνιας χορήγησης ΚΣ στην ΑΠ.

Στην παρούσα μελέτη, διερευνήσαμε τη συσχέτιση μεταξύ της έκθεσης σε ΚΣ και της παρουσίας ΥΠ σε ασθενείς με PA σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ και τη σοβαρότητα της νόσου της PA.

1.3.2. Αποτελέσματα

Το 1/3 περίπου των ασθενών (131/400 – 32,8%) λάμβανε ΚΣ. Από αυτούς, 60 (45,8%) έπαιρναν χαμηλή δόση ΚΣ και 71 (54,2%) μέση δόση, ενώ κανένας ασθενής δεν έπαιρνε υψηλές δόσεις. Διακόσιοι ογδόντα ένας ασθενείς (70,6%) ανήκαν στην ομάδα N/L-E, 58 (14,6%) στην ομάδα LD/LT-E και 59 (14,8%) στην ομάδα MD/LT-E. Η μέση ημερήσια δόση ΚΣ ήταν $0,4 \pm 2,08$, $4,38 \pm 1,39$ και $9,17 \pm 2,28$ mg για κάθε μία από τις ομάδες αντίστοιχα ($p < 0,001$). Τα βασικά χαρακτηριστικά των ομάδων που μελετήθηκαν παρουσιάζονται στον **πίνακα 7**. Από τους 400 ασθενείς με PA 282 (70,5%) ήταν υπερτασικοί. Η συχνότητα της ΥΠ ήταν σημαντικά ψηλότερη στην ομάδα MD/LT-E

(50/59, 84,7%) σε σύγκριση με την N/L-E (189/281, 67,3%) και την ομάδα LD/LT-E (41/58, 70,7%) ($p=0,028$) (**Πίνακας 7**).

1.3.2.1. Διαφορές μεταξύ των ομάδων

Η ηλικία, η διάρκεια της νόσου (DD), το HAQ score και το ιστορικό χειρουργικής επέμβασης σε κάποια άρθρωση διέφεραν σημαντικά μεταξύ των ομάδων (**Πίνακας 7**). Η χρήση της σουλφασαλαζίνης ως DMARD ήταν σπανιότερη στις ομάδες MD/LT-E (18,6%) και LD/LT-E (19%) σε σύγκριση με την ομάδα N/L-E (34,2%) ($p=0,009$). Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στη χρήση οποιωνδήποτε άλλων DMARD ή στη συχνότητα των καθιερωμένων παραγόντων κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ, όπως το ιστορικό ΥΠ, η δυσλιπιδαιμία, η αντίσταση στην ινσουλίνη, η παχυσαρκία ή οι διαταραχές της νεφρικής λειτουργίας.

1.3.2.2. Συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας ΥΠ και της θεραπείας με ΚΣ

Δημιουργήθηκαν δύο μοντέλα λογιστικής παλινδρόμησης ώστε να συμπεριληφθούν όλοι οι πιθανοί συγχυτικοί παράγοντες. Στο πρώτο μοντέλο, εισήχθησαν οι κοινοί παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ: ο λόγος αναλογιών για την παρουσία ΥΠ κατά τη σύγκριση της ομάδας MD/LT-E με την ομάδα N/L-E, ήταν σημαντικά αυξημένος [OR=2,57 (1,01-6,56), $p=0,049$]. Στο δεύτερο μοντέλο, ελήφθησαν επιπρόσθετα υπόψη μεταβλητές που σχετίζονται με χαρακτηριστικά της PA (διάρκεια της νόσου, HAQ, χειρουργική επέμβαση στις αρθρώσεις): η συσχέτιση μεταξύ ΥΠ και χρήσης ΚΣ παρέμεινε ανεξάρτητη και ισχυρότερη [OR=3,64 (1,36-9,77), $p=0,01$].

1.3.3 Συζήτηση

Παρά τις δεκαετίες χρήσης ΚΣ στην καθημερινή κλινική πράξη, ελάχιστα είναι γνωστά σχετικά με τη δράση τους στην ΑΠ, ιδιαίτερα στους ασθενείς με PA. Στην παρούσα μελέτη βρέθηκε ότι ασθενείς με PA που εκτίθενται σε μέση ημερήσια δόση ΚΣ από το στόματος ($\geq 7,5$ mg) για μεγάλες περιόδους (>6 μήνες) είναι πιθανότερο να είναι υπέρτασικοί σε σύγκριση με ασθενείς με PA που δεν πήραν ή είχαν περιορισμένη έκθεση στα ΚΣ.

Εκτός από το σχεδιασμό της μελέτης (συγχρονική), άλλοι πιθανοί περιορισμοί είναι η δυσχέρεια υπολογισμού της ακριβούς διάρκειας του χρόνου έκθεσης στα ΚΣ και οι μεταβολές στη δοσολογία σε πρηγούμενες χρονικές στιγμές. Επίσης, το γεγονός ότι η

Πίνακας 7: Δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών που έλαβαν διαφορετικές δόσεις γλυκοκορτικοστεροειδών

	N/L E (N=281)	LD/LT E (N=58)	MD/LT E (N=59)	p
Γενικά δημογραφικά				
Ηλικία (χρόνια)	61,7 (52,9-68,4)	66,7 (59-72,1)	66,8 (60,2-70,5)	0,002
Γυναίκες n (%)	214 (76,2)	41 (70,7)	36 (61)	0,053
Κάπνισμα n (%)				
μη καπνιστές	119 (42,8)	31 (54,5)	26 (47,3)	0,486
πρώην καπνιστές	111 (39,9)	20 (35,1)	19 (34,5)	
καπνιστές	48 (17,3)	6 (10,5)	10 (18,2)	
ΥΠ n (%)	189 (67,3)	41 (70,7)	50 (84,7)	0,028
Χαρακτηριστικά RA				
Γενικά χαρακτηριστικά				
RF θετικός n (%)	210 (76,4)	42 (73,7)	43 (75,4)	0,909
Anti-CCP θετικά n (%)	139 (66,2)	27 (65,9)	32 (69,6)	0,901
Διάρκεια της νόσου (χρόνια)	7 (3-15)	16 (9,75-25,25)	18 (9,75-25,5)	<0,001
Ενεργότητα της νόσου				
TKE (mg/L)	8 (5-18)	8 (5-17)	9 (5-28)	0,421
DAS-28	4,15±1,38	4,09±1,37	4,59±1,47	0,08
Σοβαρότητα της νόσου				
HAQ	1,25 (0,5-2)	1,63 (0,72-2,16)	2,11 (1,41-3,79)	<0,001
Εξω-αρθρική νόσος n (%)	180 (64,1)	42 (72,4)	45 (76,3)	0,124
Αρθροπλαστική n (%)	65 (23,1)	21 (36,2)	30 (50,8)	<0,001
Φάρμακα				
Κατά της RA				
DMARDs n (%)	252 (89,7)	48 (82,8)	48 (81,4)	0,109
1 (monotherapy)	161 (57,3)	28 (48,3)	36 (61)	
>1 (combination therapy)	91 (32,4)	20 (34,5)	12 (20,3)	
Μεθοτρεξάτη n (%)	161 (57,3)	35 (60,3)	28 (47,5)	0,305
Αντι-TNF n (%)	29 (10,3)	9 (15,5)	7 (11,9)	0,518
Λεφλουνομίδη n (%)	11 (3,9)	1 (1,7)	4 (6,8)	0,374
Σουλφασαλαζίνη n (%)	96 (34,2)	11 (19)	11 (18,6)	0,009
Υδροξυχλωροκίνη n (%)	57 (20,3)	13 (22,4)	10 (16,9)	0,754
Καρδιοπροστατευτικά				
ΜΣΑΦ/Κοξίμπες n (%)	82 (29,2)	15 (25,9)	13 (22)	0,508
Ασπιρίνη n (%)	42 (14,9)	7 (12,1)	15 (25,4)	0,092
Στατίνη n (%)	50 (17,8)	10 (17,2)	18 (30,5)	0,073
Αντι-υπερτασικά n (%)	108 (38,4)	22 (37,9)	40 (67,8)	<0,001
Παράγοντες κινδύνου ΥΠ				
Ιστορικό ΥΠ	111 (39,5)	21 (36,2)	21 (35,6)	0,795
Δυσλιπιδαιμία				
TC mmol/L ¹	5,4±1	5,46±1,25	5,63±1,53	0,499
Αντίσταση στην ινσουλίνη				
Αντίσταση στην ινσουλίνη n (%)	99 (36,1)	22 (40)	24 (44,4)	0,484
ΣΔ n (%)	23 (8,2)	8 (14,3)	10 (17,2)	0,072
HOMA IR	1,76 (1,07-2,93)	1,94 (1,1-4,19)	2,11 (1,4-3,79)	0,097
QUICKI	0,35 (0,32-0,38)	0,35 (0,31-0,38)	0,34 (0,31-0,36)	0,091
Νεφρική λειτουργία				
πλήρης MDRD	83,36±20,09	80,33±21,96	76,64±25,1	0,073
Παχυσαρκία				
ΔΜΣ	27,85±5,03	27,28±5,4	27,56±4,66	0,721

Αποτελέσματα εκπεφρασμένα σε ποσοστά, διάμεσους (25-75η εκατοστιαία θέση) ή μέσες τιμές± SD όπως απαιτείται

¹ οι ασθενείς δεν ελάμβαναν στατίνες (N=322, 80.5%)

μελέτη αυτή στηρίζεται σε ομάδα δευτεροβάθμιας φροντίδας μπορεί να περιορίσει τη δυνατότητα γενίκευσης των αποτελεσμάτων. Ωστόσο, πρόκειται για τη μοναδική μελέτη που δίνει μια απάντηση στο ερώτημα της ύπαρξης μιας ανεξάρτητης συσχέτισης μεταξύ εξωγενούς χορήγησης ΚΣ και της εμφάνισης ΥΠ σε ασθενείς με ΡΑ. Ο λεπτομερής κλινικός και βιοχημικός έλεγχος των ασθενών της παρούσας κοόρτης επέτρεψε τη δημιουργία μοντέλων λογιστικής έκθεσης που συνυπολογίζουν την επίδραση άλλων παραγόντων στην ανωτέρω συσχέτιση.

Τα περισσότερα στοιχεία για μια συσχέτιση μεταξύ των ΚΣ και ΥΠ προέρχονται από μελέτες των ενδογενών επιπέδων κορτιζόλης. Οι συγκεντρώσεις της κορτιζόλης πλάσματος το πρωί είναι υψηλότερες στους υπερτασικούς σε σύγκριση με τα νορμοτασικά άτομα [158]. Έχει αποδειχθεί ότι οι νέοι ενήλικες με ΥΠ έχουν υψηλότερη συγκέντρωση κορτιζόλης πλάσματος [253] σε σχέση με νορμοτασικά άτομα παρόμοιας ηλικίας και φύλου. Έχει αναφερθεί ότι υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ κορτιζόλης του πλάσματος και της ΥΠ «της λευκής μπλούζας» [160]. Καμία ωστόσο μελέτη δεν είχε αποδείξει ότι η εξωγενής μακροχρόνια χορήγηση ΚΣ συνδέεται με την εμφάνιση ΥΠ.

Η περισσότερο σχετική μελέτη διεξήχθη πριν από 26 χρόνια από τους Jackson και συν. [254], οι οποίοι μελέτησαν την επίδραση της θεραπείας με ΚΣ στα επίπεδα της ΑΠ σε 129 ασθματικούς και 66 ασθενείς με ΡΑ. Σύμφωνα με τα ευρήματά τους, η μακροχρόνια (> 1 έτος) «χαμηλή-δόση» (<20 mg ημερησίως) ΚΣ δεν οδηγεί σε αύξηση της ΑΠ. Ωστόσο, νέα όρια τέθηκαν πρόσφατα για να καθορίσουν τη «χαμηλή», «μέση» και «υψηλή» δόση πρεδνιζολόνης [203]. Οι ασθενείς στη μελέτη του Jackson συν. [254] θα μπορούσαν να ανήκουν και στη «σύγχρονη» χαμηλή και στη μεσαία κατηγορία δόσεων και αυτό μπορεί να έχει επηρεάσει τα αποτελέσματά τους.

Μια άλλη μελέτη στις αρχές της δεκαετίας του '70 [255] έδειξε ότι η ακτινολογικά εμφανής «αρτηριοσκλήρωση» στην περιοχή της ποδοκνημικής άρθρωσης σε ασθενείς με ΡΑ που έπαιρναν ΚΣ σε μακροχρόνια βάση ήταν τρεις φορές συχνότερη σε σύγκριση με τους ασθενείς με ΡΑ που δεν έπαιρναν ΚΣ και με υγιείς μάρτυρες. Σε αυτή τη μελέτη ωστόσο δεν υπήρχε καμία πληροφορία σχετικά με τη δοσολογία και τη διάρκεια χορήγησης των ΚΣ, ενώ δεν ελήφθησαν υπόψη παράγοντες όπως η ηλικία, η ενεργότητα ή η σοβαρότητα της νόσου.

Σε μια πρόσφατη πληθυσμιακή μελέτη [154], ο Wei και συν. έδειξαν ότι η χορήγηση αυξημένων δόσεων ΚΣ συσχετίζεται με αυξημένο επιπολασμό εμφράγματος

μυοκαρδίου, ΑΕΕ και ΚΑ, καθώς και με αυξημένη θνησιμότητα. Οι συγκρίσεις αφορούσαν 68.781 ασθενείς που πήραν $\geq 7,5$ mg/ημέρα πρεδνιζολόνης ή ισοδύναμου φαρμάκου, για περισσότερο από έτος, και 82.202 που δεν έπαιρναν ΚΣ [256]. Τα ευρήματα της μελέτης ήταν ενδεικτικά ότι υπάρχει μια ανεξάρτητη σχέση μεταξύ της εξωγενούς χορήγησης ΚΣ και της εμφάνισης ΚΑΝ, που δεν μπορεί να αποδοθεί μόνο στην αυξημένη συχνότητα των κλασικών παραγόντων κινδύνου. Η μελέτη συμφωνεί με τα συμπεράσματα της δικής μας μελέτης, που τονίζει ότι η χορήγηση υψηλών δόσεων ($\geq 7,5$ mg) ΚΣ ημερησίως αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης ΥΠ και θα μπορούσε να σχετίζεται με αυξημένη ΚΑΝ νοσηρότητα και θνησιμότητα [18,257].

Ένα σημαντικό ερώτημα είναι εάν η συσχέτιση μεταξύ των ΚΣ και της ΥΠ αντιπροσωπεύει μια άμεση αιτιώδη σχέση ή αντανακλά απλά μια συσχέτιση μεταξύ της ΥΠ και της υποκείμενης σοβαρής νόσου για την οποία συνταγογραφήθηκαν τα ΚΣ (channeling bias). Διάφορες μελέτες υποστηρίζουν ότι τα κλινικά και τα εργαστηριακά ευρήματα σοβαρής φλεγμονώδους νόσου που συνήθως αντιμετωπίζεται με τη χορήγηση ΚΣ, συσχετίζονται με αυξημένη ΚΑΝ νοσηρότητα και θνησιμότητα [230,258]. Στην παρούσα μελέτη έγινε προσαρμογή για όλες αυτές τις μεταβλητές.

Έχει αποδειχθεί ότι η παρουσία αθηρωματικών πλακών και ασυμπιέστων αρτηριών είναι συχνότερη μεταξύ των ασθενών με ΡΑ που ανήκουν στο υψηλότερο τριτημόριο αθροιστικής έκθεσης σε ΚΣ (>16.338 mg πρεδνιζολόνης), σε σύγκριση με εκείνους που δεν πήραν ποτέ ΚΣ [259]. Επίσης, μελέτες έδειξαν ότι η ακαμψία του αρτηριακού τοιχώματος αποτελεί συνήθως εκδήλωση αποτιτάνωσης του διάμεσου χιτώνα της αρτηρίας [260], φαινόμενο που είναι επίσης γνωστό και ως σκλήρυνση Mockenbergl, και ανευρίσκεται στα 2/3 των ασθενών με ΡΑ που παίρνουν ΚΣ για μεγάλο χρονικό διάστημα [261]. Μελέτες στο γενικό πληθυσμό έχουν συσχετίσει την αρτηριακή ακαμψία (απώλεια ελαστικότητας) με συνεπακόλουθη ανάπτυξη ΥΠ [262]. Συνεπώς η αθροιστική έκθεση στα ΚΣ μπορεί να επάγει την αρτηριακή ακαμψία και συνεπακόλουθα να οδηγήσει στην εμφάνιση ΥΠ. Μια άλλη ενδιαφέρουσα υπόθεση είναι ότι η οστεοπόρωση που οφείλεται στα ΚΣ και η αρτηριακή αποτιτάνωση μοιράζονται κοινούς παθογενετικούς μηχανισμούς [263].

Άλλοι μηχανισμοί που έχουν προταθεί περιλαμβάνουν (i) την αύξηση της ευαισθησίας των περιφερικών αγγείων στους αδρενεργικούς αγωνιστές από τα ΚΣ [264], (ii) την ενεργοποίηση των νεφρικών υποδοχέων αλατοκορτικοειδών από την κορτιζόλη

σε περιπτώσεις μειωμένης δραστηριότητας της 11β-υδροξυστεροΐδοδευδρογενάσης 2 [265] ή πλεονάσματος ΚΣ και (iii) την αναστολή της παραγωγής προσταγλανδινών από την κορτιζόλη [173]. Κανένας από αυτούς τους μηχανισμούς δεν έχει εξεταστεί στους ασθενείς με τη ΡΑ και θα μπορούσαν να αποτελέσουν τη βάση των μελλοντικών μελετών.

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης που αναδεικνύει τη συσχέτιση μεταξύ της μακροχρόνιας χρήσης μέσης-δόσης ΚΣ και της παρουσίας ΥΠ στους ασθενείς με ΡΑ συνηγορούν στην έγκαιρη αναγνώριση και επιθετική αντιμετώπιση της ΥΠ σε ασθενείς με ΡΑ που βρίσκονται σε μακροχρόνια θεραπεία με ΚΣ.

2. ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

2.1. Συσχέτιση των πολυμορφισμών του γονιδίου της ET-1 με την εμφάνιση ΥΠ σε ασθενείς με ΡΑ

2.1.1. Εισαγωγή

Η ET-1 είναι ένα ισχυρό αγγειοσυσπαστικό πεπτίδιο που παράγεται από τα ενδοθηλιακά και τα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων [266] και μπορεί να προκαλέσει την εμφάνιση ΥΠ εξαιτίας των αγγειοσυσπαστικών και υπερτροφικών δράσεων της στα αιμοφόρα αγγεία [267]. Αυξημένα επίπεδα ET-1 πλάσματος έχουν αναφερθεί σε υπέρτασικούς ασθενείς με ορισμένα χαρακτηριστικά, όπως (i) η φυλή (Afro-Caribbean) [268], (ii) τα χαμηλά επίπεδα ρενίνης στο πλάσμα [269], και (iii) η παχυσαρκία [270] σε συνδυασμό με την εμφάνιση αντίστασης στην ισοουλίνη [271], και την παρουσία «αλατο-ευαίσθητου» (salt-sensitive) φαινοτύπου ΥΠ [272].

Η νουκλεοτιδική αλληλουχία του ανθρωπίνου γονιδίου της ET (ET-1) προσδιορίστηκε το 1989 [273] και χαρτογραφήθηκε στο χρωμόσωμα 6p24-p23 [274]. Το γονίδιο της ET-1 έχει μήκος 5,5 kb και περιέχει 5 εξόνια και 4 ιντρόνια. Η SNP της γουανίνης από τη θυμίνη (G>T) rs5370 (**Πίνακας 8**), που οδηγεί σε μια αλλαγή λυσίνης-ασπαργίνης στο αμινοξύ 198 (Lys198Asn), έχει αναφερθεί ότι σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα ΑΠ σε υπέρβαρους ενηλίκους μέσης ηλικίας [275,276].

Εντούτοις, πρόσφατες μελέτες γονιδιώματος (genome wide association studies, GWAs) [175,277] και μελέτες περιπτώσεων-μαρτύρων (case-control studies) [278] στο

γενικό πληθυσμό δεν ανέδειξαν καμία σημαντική συσχέτιση μεταξύ του rs5370 και της ΥΠ. Είναι πιθανό ότι οι πολυμορφισμοί του γονιδίου της EDN1 και τα επίπεδα της ET-1 να σχετίζονται με την εμφάνιση ΥΠ μόνο σε μια ιδιαίτερη κατηγορία ασθενών που εμφανίζουν αλατο-ευαισθησία, παχυσαρκία ή αντίσταση στην ινσουλίνη [279].

Μια άλλη SNP, το rs1800541 (**Πίνακας 8**), βρίσκεται στην περιοχή του υποκινητή (promoter region) του γονιδίου της EDN1 και θα μπορούσε να επηρεάσει την έκφραση του γονιδίου, οδηγώντας σε αυξημένα επίπεδα της ET-1, έναν πιθανό ενδιάμεσο φαινότυπο ΥΠ.

Πίνακας 8. Πολυμορφισμοί του γονιδίου της ET-1 σε ασθενείς με PA

SNP ID	Όνομα SNP	Θέση (NCBI_36)	Bp position from start codon	Location/amino acid change	Alleles	MAF
1	rs1800541	12397205	-1265	Promoter	G/T	G (0.19)
2	rs5370	12404241	5771	Lys>Asn	G/T	T (0.24)

MA (F), minor allele (frequency)

Οι ασθενείς με PA έχουν αυξημένα επίπεδα ET-1 [280,281], υψηλή συχνότητα αντίστασης στην ινσουλίνη [282] και αυξημένη ποσότητα λίπους σώματος [97]. Κατά συνέπεια η συσχέτιση των πολυμορφισμών της EDN1 και των επιπέδων της ET-1 του πλάσματος με την ΥΠ μπορεί να είναι πιο ισχυρή στους ασθενείς με PA σε σύγκριση με το γενικό πληθυσμό. Μέχρι σήμερα, δεν υπάρχουν στη βιβλιογραφία μελέτες που να εξετάζουν την συχνότητα των απλότυπων του γονιδίου της EDN1 και τη συσχέτισή τους με τα επίπεδα ET-1 και την ΥΠ στη PA.

Στην παρούσα μελέτη εξετάσθηκε: (i) κατά πόσον οι πολυμορφισμοί rs5370, rs1800541 και οι απλότυποί τους είναι πιο συχνοί σε ασθενείς με PA σε σχέση με άτομα του τοπικού γενικού πληθυσμού χωρίς PA και (ii) κατά πόσον μεταξύ των ασθενών με PA, υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας ΥΠ και των άλλων παραμέτρων της ΑΠ (ΣΑΠ, ΔΑΠ, ΡΡ) με το γονίδιο της EDN1 (rs1800541 και rs5370 SNPs και τους απλότυπούς τους) και τα επίπεδα της ET-1 στον ορό.

2.1.2. Αποτελέσματα

Η χαρτογράφηση των SNPs του γονιδίου της EDN1 πραγματοποιήθηκε σε 397 ασθενείς με PA (Καυκάσιοι 97%) με μέση ηλικία $61,5 \pm 12$ χρόνια [291 (73,3%) ήταν γυναίκες]. Επίσης ελέγχθηκε ο γονότυπος σε 401 μάρτυρες (Καυκάσιοι 97,2%) με μέση ηλικία $50,4 \pm 15,7$ χρόνια, σημαντικά χαμηλότερη από αυτή των ασθενών με PA ($p < 0,001$). Το ποσοστό των γυναικών στην ομάδα ελέγχου ήταν, επίσης, σημαντικά χαμηλότερο (60,3%, $p < 0,001$). Όλα τα αποτελέσματα ως εκ τούτου προσαρμόστηκαν στην ηλικία και το φύλο. Τα δύο SNPs ήταν σε ισχυρό LD, $D' = 0,91$, $r = 0,78$, επομένως μόνο εξετάστηκε ένα SNP τη φορά στα μοντέλα λογιστικής έκθεσης που περιείχαν SNPs. Οι πιθανότητες για τα καλύτερα ζεύγη (best pairs) των απλοτύπων ήταν υψηλότερες ή ίσες με 0.99. Επομένως, ο καταλογισμός ήταν σχεδόν ακριβής.

2.1.2.1. Η συχνότητα των γονοτύπων και των απλοτύπων των rs1800541 και rs5370.

Μεταξύ των ασθενών με PA και των μαρτύρων δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά (i) στη συχνότητα των SNP (και ως γονότυποι και ως αλληλία) και (ii) στη συχνότητα των συναγόμενων απλοτύπων (**Πίνακας 9**), ούτε πριν ούτε μετά από την προσαρμογή στην ηλικία και το φύλο. Τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια και όταν αποκλείστηκε ο μικρός αριθμός των μη-Καυκασίων από την ανάλυση.

Πίνακας 9. Συχνότητες απλοτύπων του γονιδίου ET-1, που προέκυψαν με τη χρήση του προγράμματος Phase 2.0, μεταξύ ασθενών με PA και μαρτύρων*.

Απλότυπος α/α	Απλότυπος		Συχνότητα (%)		
	rs1800541-rs5370	N	Ολική	PA	Μάρτυρες
1	TG	1182	74.3	74.4	74.3
2	TT	104	6.7	6.6	6.7
3	GG	25	1.3	1.3	1.4
4	GT	277	17.7	17.7	17.6

* $p = 0,61$, α/α: αύξων αριθμός

2.1.2.2. Φαινότυπος της νόσου και παράγοντες κινδύνου ΥΠ μεταξύ ασθενών με PA με διαφορετικούς γονοτύπους για κάθε SNP

Καμία σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε κατά τη σύγκριση των τριών γονοτύπων του κάθε SNP σε σχέση με τα χαρακτηριστικά της PA (συμπεριλαμβανομένων των αντι-CCP ή του θετικού RF, της διάρκειας της νόσου, της CRP, του DAS-28 ή του HAQ), τη θεραπεία (συμπεριλαμβανομένων των DMARDs, ΜΣΑΦ, coxibs) (στοιχεία που δεν παρουσιάζονται) ή τους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ [ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, και μέση δόση πρεδνιζολόνης ($\geq 7,5$ mg)] [10] (**Πίνακας 10**).

2.1.2.3. Φαινότυποι ΥΠ στους γονοτύπους rs1800541 και rs5370 της ET-1

Ο αδρός (crude) έλεγχος δεν αποκάλυψε σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των μεταβλητών της ΑΠ (ΣΑΠ, ΔΑΠ, ΡΡ) ή του επιπολασμού της ΥΤ και των γονοτύπων του κάθε SNP (**πίνακες 10, 11**). Μετά από την προσαρμογή στους κλασικούς παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ στους ασθενείς με PA (ηλικία, φύλο, ΔΜΣ και μέση δόση πρεδνιζολόνης) αποκάλυψε σημαντικά αυξημένο λόγο αναλογιών για την ΥΠ (OR=2,89, 95% CI: 1,02-8,19) (**Πίνακας 11**), σημαντικά ΑΠ παλμού ($\beta=5,72 \pm 2,89$, $p=0,040$) και μια τάση αύξησης της ΣΑΠ ($\beta=6,07 \pm 3,5$, $p=0,085$) στους ομοζυγώτες rs5370 TT σε σύγκριση με τους rs5370 GG.

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε η ανάλυση των απλοτύπων και των συχνοτήτων τους σε υπερτασικούς και νορμοτασικούς ασθενείς με PA (**Πίνακας 12**).

Μόνο ο απλότυπος T-T συσχετίστηκε σημαντικά με ΥΠ ($p=0.013$). Μετά την εισαγωγή των απλοτύπων (T-T, G-G, G-T με τον T-G ως απλότυπο αναφοράς) και των συγχυτικών παραγόντων (ηλικία, φύλο, ΔΜΣ και μέση δόση πρεδνιζολόνης) στο μοντέλο λογιστικής εξάρτησης, ο T-T απλότυπος ήταν ο μοναδικός που διατήρησε σημαντικά αυξημένο OR για παρουσία ΥΠ (OR 2,96, 95% CI: 1,28-6,86, $p=0,011$), ο οποίος παρέμεινε σημαντικός και μετά από διόρθωση με τη χρήση της δοκιμασίας Bonferroni multiple testing ($p=0,011 * 3=0,033 < 0,05$). Η απόδοση του μοντέλου ήταν καλή, με μια περιοχή κάτω από την καμπύλη ROC 0,75 (ευαισθησία = 70% και ειδικότητα 75%) και επαρκή διόρθωση των διαβαθμίσεων ($p=0,14$). Μετά από την προσθήκη στο ανωτέρω μοντέλο και της λήψης αντιυπερτασικής αγωγής, η αθροιστική επίδραση του EDN-1 T-T απλότυπου στη ΣΑΠ ήταν $6,75 \pm 2,57$ mmHg ($p=0,009$), στη ΔΑΠ $2,38 \pm 1,56$ mmHg ($p=0,128$) και στη ΡΡ $4,37 \pm 2,12$ mmHg ($p=0,040$).

Πίνακας 10. Δείκτες ΥΠ και παράγοντες κινδύνου μεταξύ των γονοτύπων των δύο SNPs του γονιδίου της ET-1 σε ασθενείς με PA

	Total	rs1800541				rs5370			
		TT (n=259)	GT (n=125)	GG (n=13)	p	GG (n=235)	GT (n=131)	TT (n=31)	p
Δείκτες ΥΠ									
Επιπολασμός ΥΤ n (%)	280 (70,5)	182 (70,3)	89 (71,2)	9 (69,2)	0,977	162 (68,9)	92 (70,2)	26 (83,9)	0,229
ΣΑΠ ² mmHg	136,7±18,7	137,4±18,2	135,3±19,4	134,8±25,3	0,717	136,5±18,3	135,7±18,9	144,2±20,3	0,287
ΔΑΠ ² mmHg	78,3±10,1	79,1±9,6	76,7±11,2	73,8±8,8	0,161	78,56±9,66	78,1±11,1	76,4±9,6	0,734
Πίεση παλμού ² mmHg	58,5±15,9	58,3±15,9	58,5±16,0	61,0±19,0	0,921	58,0±15,9	57,6±15,8	67,9±15,1	0,072
Παράγοντες κινδύνου ΥΠ									
Ηλικία (χρόνια)	63,1 (55,5-69,6)	63 (55,4-69,6)	63,9 (55,3-69,6)	60,1 (49,2-66,5)	0,552	63 (55,4-69,2)	63,5 (55,6-70,2)	62,7 (51,2-69,3)	0,637
Θηλυκό γένος n(%)	291 (73,3)	186 (71,8)	95 (76)	10 (76,9)	0,655	168 (71,5)	100 (76,3)	23 (74,2)	0,6
ΔΜΣ kg/m ²	27,75±5,02	27,8±4,8	27,7±5,4	27,2±6,1	0,912	27,88±4,7	27,6±5,6	27,32±5,05	0,783
Μέση δόση ΚΣ (mg)	71 (17,9)	53 (20,5)	17 (13,6)	1 (7,7)	0,161	48 (20,4)	19 (14,5)	4 (12,9)	0,276

Αποτελέσματα εκπεφρασμένα ως ποσοστά (%), διάμεσους (25-75η εκατοστιαία θέση) ή μέσες τιμές ± SD όπως απαιτείται

Πίνακας 11. Αδρός και προσαρμοσμένος λόγος αναλογιών για την ΥΠ συγκρίνοντας τις γονοτυπικές ομάδες των πολυμορφισμών της ET-1 rs1800541 και rs5370 σε ασθενείς με PA

ΥΠ			
SNP	Αδρός OR	OR προσαρμοσμένος ως προς ηλικία & γένος	OR προσαρμοσμένος για τους συγχυτικούς παράγοντες*
rs1800541			
GG	1	1	1
GT	1,10 (0,31 to 3,51)	0,94 (0,26 to 3,42)	0,87 (0,23 to 3,31)
TT	1,05 (0,31 to 3,51)	0,91 (0,26 to 3,20)	0,75 (0,21 to 2,8)
rs5370			
GG	1	1	1
GT	1,06 (0,67 to 1,69)	1,03 (0,63 to 1,68)	1,18 (0,7 to 1,98)
TT	2,34 (0,87 to 6,35)	2,62 (0,93 to 7,40)	2,89 (1,02 to 8,19)

*συγχυτικοί παράγοντες: ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, μέση ημερήσια δόση πρεδνιζολόνης

Πίνακας 12. Συχνότητες απλοτύπων του γονιδίου της ET-1 όπως προέκυψαν με τη χρήση του προγράμματος Phase 2.0 μεταξύ νορμοτασικών και υπερτασικών ασθενών με PA.

Απλότυπος (α/α)	Απλότυπος		Συχνότητα (%)			
	rs1800541- rs5370	N	Ολική	Νορμοτασικών	Υπερτασικών	p
1	TG	592	74,3	78,1	72,7	0,122
2	TT	52	6,6	3,1	8,1	0,013
3	GG	9	1,2	0,5	1,5	0,293
4	GT	143	17,9	18,3	17,7	0,954

α/α: αύξων αριθμός

Για να εξετασθεί η λειτουργικότητα του T-T απλοτύπου, τα επίπεδα του ορού της ET-1 μετρήθηκαν σε 272 ασθενείς με PA. Οι διάμεσες τιμές (διατεταρτημοριακό εύρος, interquartile range IQR) των επιπέδων ET-1 ήταν 3,08 (2,31 – 3,93) pg/ml. Παρατηρήθηκε μια τάση αύξησης των επιπέδων ET-1 στους υπερτασικούς σε σύγκριση με τους νορμοτασικούς ασθενείς με PA [3,15 (2,33-3,94) vs. 2,77 (1,93-3,56) pg/ml, p=0,09]. Το ποσοστό των ασθενών με αυξημένα επίπεδα ET-1 (≥ 3 pg/ml) ήταν σημαντικά υψηλότερο μεταξύ των υπερτασικών έναντι των νορμοτασικών ασθενών με PA (59,9% εναντίον 42,1%, p=0,008). Υπήρξε μια τάση συσχέτισης μεταξύ των επιπέδων της ET-1 και της ΣΑΠ ($\rho=0,108$, p=0,077), αλλά όχι με τη ΔΑΠ ($\rho=0,119$) ή την ΡΡ ($\rho=0,307$).

Δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική διαφορά στα επίπεδα του ορού της ET-1 κατά τη σύγκριση των ασθενών που έφεραν τον απλότυπο T-T σε σύγκριση με εκείνους που δεν έφεραν αυτό τον απλότυπο [3,48 (2,34-4,03) vs. 3,09 (2,30-3,93) pg/ml, p=0,298]. Υπήρξε, εντούτοις, μια τάση αυξημένου ποσοστού ασθενών με αυξημένα επίπεδα ET-1 (≥ 3 pg/ml) μεταξύ των ατόμων με τον απλότυπο T-T και εκείνων χωρίς τον απλότυπο

(68,6% vs. 52,8%, $p=0,08$). Τέλος, διερευνήσαμε τη συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων ET-1 και της παρουσίας ΥΠ, μετά τη διόρθωση για τους πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες. Καμία σημαντική συσχέτιση δεν παρατηρήθηκε για κάθε αύξηση 1 μονάδας στο log (ET-1) (OR=1,04, $p=0,841$).

2.1.3. Συζήτηση

Αυτή η μελέτη πραγματοποιήθηκε για να εκτιμήσει κατά πόσον το γονίδιο της ET-1 σχετίζεται με τα επίπεδα της ΑΠ στους ασθενείς με ΡΑ. Μεταξύ των ασθενών με ΡΑ και των υγιών μαρτύρων δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική διαφορά στις συχνότητες γονοτύπου ή του απλοτύπου της ET-1. Ωστόσο, μεταξύ των ασθενών με ΡΑ, οι ομοζυγώτες rs5370 TT είχαν 3 φορές υψηλότερες πιθανότητες να είναι υπερτασικοί έναντι των GG ομοζυγωτών. Η ανάλυση των απλοτύπων αποκάλυψε μια σημαντική συσχέτιση του απλότυπου T-T με την παρουσία ΥΠ και αυξημένης ΣΑΠ και πίεσης παλμού στη ΡΑ. Αυτό μπορεί μερικώς να οφείλεται στην αυξημένη παραγωγή ET-1, κάτι που υποδηλώνεται από την τάση παρουσίας αυξημένων επιπέδων ορού ET-1 μεταξύ των φορέων T-T.

Παρότι διάφορες μελέτες έχουν δείξει έναν αυξημένο επιπολασμό ΥΠ στη ΡΑ [283], μέχρι τώρα καμία συγκεκριμένη αιτία δεν έχει προσδιοριστεί. Η γενετική προδιάθεση για την εμφάνιση ΥΠ σε ασθενείς με ΡΑ δεν έχει διερευνηθεί. Ο ρόλος του γονιδίου της EDN1 σε συνδυασμό με τα επίπεδα της ET-1 ήταν ελκυστικός προς διερεύνηση, δεδομένου ότι στους ασθενείς με ΡΑ έχουν αναφερθεί αυξημένα επίπεδα ET-1 του ορού [280,281].

Η ET-1 συντίθεται από τα ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα [284], τα μακρόφαγα [285], τα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα [286] και τα κύτταρα του αρθρικού θυλάκου (synovialocytes) [287]. Τα επίπεδά της επηρεάζονται μόνο από το ρυθμό μεταγραφής των γονιδίων, αφού τα κύτταρα δεν αποθηκεύουν ενδοθηλίνη. Η ET-1 αυξάνει τη δραστηριότητα του συμπαθητικού που προκαλείται από το stress που επάγει αρτηριακή αγγειοσύσπαση [288]. Η αυξημένη δραστηριότητα της ET-1 οδηγεί σε μειωμένη αγγειοδιαστολή στους υπερτασικούς ασθενείς [289]. Επιπλέον, η ET-1 ρυθμίζει την ομοιοστασία του ενδαγγειακού όγκου διεγείροντας την έκκριση αλδοστερόνης και μειώνοντας τη νεφρική διήθηση με αποτέλεσμα την κατακράτηση νατρίου και νερού

[290]. Τα ανωτέρω υποδηλώνουν ότι η ET-1 είναι ένας ισχυρός ρυθμιστής της ΑΠ. Κατά συνέπεια, οι γενετικοί πολυμορφισμοί που επηρεάζουν τη μεταγραφή του γονιδίου της ET-1 μπορεί να συμβάλλουν στην εμφάνιση ΥΠ, ιδιαίτερα σε ασθενείς με υποκείμενη ευαισθησία στο αλάτι [291], παχυσαρκία [270,292] και αντίσταση στην ινσουλίνη [271], καταστάσεις που είναι αλληλένδετες [293] και ανευρίσκονται συχνά στους ασθενείς με ΡΑ.

Τα υψηλά επίπεδα της ET-1 στη ΡΑ μπορούν να δικαιολογηθούν είτε ως συνέπεια της συστηματικής φλεγμονής είτε ως προϊόν γενετικής προδιάθεσης. Μελέτες έδειξαν ότι η έκφραση της ET-1 επάγεται από τις κυτοκίνες της φλεγμονής όπως ο TNF- α [294,295], η IL-1 β [296], η IL-1 α και η IL-6 [297], οι οποίες υπερεκφράζονται στη ΡΑ [298]. Η μεταλλοπρωτεϊνάση-2 (matrix metalloprotease-2) είναι ένα μόριο παρόμοιο με το ένζυμο που διασπά την πρόδρομη πρωτεϊνική ενδοθηλίνη στην ενεργό μορφή της ET-1 [299]. Τα επίπεδα της matrix metalloprotease-2 είναι αυξημένα στους ασθενείς με ΡΑ [300] και κατά συνέπεια θα μπορούσαν να δικαιολογήσουν εν μέρει τα αυξημένα επίπεδα ενδοθηλίνης στον πληθυσμό αυτό.

Δύο μεγάλες γενετικές μελέτες συσχέτισης αποκάλυψαν τη σημασία του προσδιορισμού του γονοτύπου rs5370 SNP στην εκτίμηση του κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ, ιδιαίτερα μεταξύ των υπέρβαρων/παχύσαρκων ασθενών [275,276]. Στην παρούσα μελέτη, ο γονότυπος rs5370 TT συσχετίσθηκε με τριπλάσια πιθανότητα για την παρουσία ΥΠ συγκρινόμενος με τους ομοζυγώτες CC, μετά από την προσαρμογή για τους γνωστούς παράγοντες κινδύνου ΥΠ σε ασθενείς με ΡΑ. Η ανάλυση των απλοτύπων αποκάλυψε μια σημαντική αθροιστική επίδραση του απλοτύπου rs1800541-rs5370 T-T στη συχνότητα της ΥΠ, της ΣΑΠ και της ΡΡ. Το SNP rs1800541 βρίσκεται 1265bp πριν από την περιοχή έναρξης μεταγραφής, στην περιοχή των υποκινητών (promoter), και έτσι μπορεί να επηρεάζει μεταγραφή της ET-1. Η τάση για την εμφάνιση αυξημένων επιπέδων ET-1 μεταξύ των ασθενών με ΡΑ που ήταν φορείς του απλοτύπου T-T, αποκαλύπτει έναν πιθανό λειτουργικό ρόλο αυτού του ιδιαίτερου απλοτύπου στη ΡΑ. Η έλλειψη στατιστικώς σημαντικά διαφορετικών επιπέδων ενδοθηλίνης μεταξύ των φορέων T-T απλοτύπων σε σύγκριση με όσους δεν ήταν φορείς του T-T θα μπορούσε να θεωρηθεί ως αποτέλεσμα της έκκρισης ET-1 προς τη βασική μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων και όχι προς τον αυλό του αγγείου. Περίπου το 80% της ET-1 εκκρίνεται στο βασικό πλάγιο διαμέρισμα των ενδοθηλιακών κυττάρων προς τα

περιβάλλοντα λεία μυϊκά κύτταρα και το διάμεσο ιστό, όπου ενεργεί με έναν τρόπο αυτοκρινή και παρακρινή [301]. Τα κυκλοφορούντα επίπεδα της ET-1 ορού είναι το αποτέλεσμα του εισόδου (spillover) στην κυκλοφορία του αίματος και η συγκέντρωση που ανιχνεύεται στον αγγειακό ιστό είναι περίπου 100 φορές υψηλότερη από αυτή στο πλάσμα. Επομένως, οι μελλοντικές μελέτες πρέπει να εξετάσουν τις πιθανές διαφορές στην ενδοθηλίνη ιστού, και όχι ορού, μεταξύ των EDN1 απλοτύπων στους ασθενείς με PA.

Οι κλινικές επιπτώσεις αυτών των ευρημάτων μπορεί να είναι σημαντικές, δεδομένου ότι η ΥΠ είναι ένας ιδιαίτερα σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση ΚΑΝ στη PA [7,23,24,122,302]. Συνεπώς, οι φορείς του T-T απλοτύπου, που εμφανίζουν αυξημένη ΣΑΠ και ΡΡ, έχουν αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακών συμβαμάτων και συνεπώς πρέπει να ανιχνεύονται νωρίς και να αντιμετωπίζονται επιθετικά όλοι οι παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου.

Μελέτες στο γενικό πληθυσμό έδειξαν ότι τα επίπεδα ET-1 στον ορό είναι ελαφρώς αυξημένα ή φυσιολογικά μεταξύ των ατόμων με ΥΠ [303,304]. Ωστόσο, τα επίπεδα της ET-1 του ορού είναι αυξημένα στους υπερτασικούς με αλατοευαισθησία [268,279,291,305]. Το σημαντικά υψηλό ποσοστό των υπερτασικών ασθενών με PA που είχαν αυξημένα επίπεδα ET-1 στην παρούσα μελέτη είναι ενδεικτικό της παρουσίας ενός “αλατο-ευαίσθητου” φαινοτύπου ΥΠ, ο οποίος καθορίζει την εξάρτηση της ΑΠ από την αγγειοσυσπαστική δράση των ενδοθηλινών [291,305]. Αυτό το εύρημα, εάν επαληθευτεί σε μελλοντικές μελέτες, μπορεί να αποδειχθεί ένα χρήσιμο εργαλείο για την επιλογή της καταλληλότερης αντιυπερτασικής θεραπείας στους ασθενείς με PA. Είναι πιθανό ότι αυτοί οι ασθενείς, ιδιαίτερα οι φορείς των απλοτύπων T-T, μπορούν να ωφεληθούν περισσότερο από τη διαιτητική μείωση νατρίου [306] και τη θεραπεία με τη χορήγηση θειαζιδικού διουρητικού [307]. Οι α-MEA μπορεί να αποτελέσουν μια ελκυστική εναλλακτική λύση, δεδομένου ότι αναστέλλουν την έκκριση ET-1 από τα ενδοθηλιακά κύτταρα [308] και έχουν επιπρόσθετες αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες [309], ενώ οι ανταγωνιστές της ET μπορεί να αποδειχθούν χρήσιμοι στη θεραπεία των ανθεκτικών μορφών ΥΠ σε αυτήν την ομάδα ασθενών [310].

Ισχυρά σημεία της παρούσας μελέτης αποτελούν (i) ο λεπτομερής κλινικός και εργαστηριακός έλεγχος όλων των ασθενών με PA και η μελέτη της ομάδας υγείων μαρτύρων, (ii) το γεγονός ότι οι σημαντικές συσχετίσεις των απλοτύπων με την ΥΠ

παρέμειναν ισχυρές μετά από τη διόρθωση Bonferroni (iii) η συσχέτιση των EDN1 απλότυπων με τη ΣΑΠ και την ΡΡ ένα εύρημα το οποίο δεν υπόκειται σε σφάλμα κατηγοριοποίησης (categorization bias) και τελικά (iv) η ταυτόχρονη ανάλυση των απλότυπων EDN1, συμπεριλαμβανομένου ενός SNP στην περιοχή των υποκινητών, και των επιπέδων της ET-1 στον ορό. Στους περιορισμούς της μελέτης αναγνωρίζονται η έλλειψη στοιχείων για την ΑΠ και τα επίπεδα ET-1 στην ομάδα των μαρτύρων.

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, εφόσον επαληθευτούν σε περαιτέρω γενετικές/λειτουργικές μελέτες, θα μπορούσαν (i) να διευκολύνουν τις στρατηγικές διαλογής (screening) ασθενών με ΡΑ με αυξημένο κίνδυνο ΚΑΝ και (ii) να προσδιορίσουν υποομάδες ασθενών που είναι πιθανότερο να παρουσιάσουν καλή ανταπόκριση σε συγκεκριμένη αντι-υπερτασική αγωγή.

2.2. Συσχέτιση του πολυμορφισμού του TGF-β 869 T/C και της IL-6-174G/C με την εμφάνιση ΥΠ σε ασθενείς με ΡΑ

2.2.1. Εισαγωγή

Η IL-6 είναι μία από τις σημαντικότερες κυτοκίνες που επάγουν την φλεγμονή στη ΡΑ [311]. Είναι ο κύριος επαγωγέας της σύνθεσης των πρωτεϊνών οξείας φάσης από το ήπαρ και ρυθμίζει τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις, καθώς επίσης και το μεταβολισμό των οστών και τις ενδοκρινείς λειτουργίες [312]. Οι Fishman και συν. [215] ήταν οι πρώτοι που περιέγραψαν έναν πολυμορφισμό (χρωμόσωμα 7, θέση 22,539,885 harmap [313], rs1800795) στην περιοχή 5' του υποκινητή (promoter) του γονιδίου της IL-6 (IL-6-174G>C) ο οποίος αλλάζει in vitro τη μεταγραφική απάντηση σε ερεθίσματα όπως οι λιποπολυσακχαρίτες (LPS) και η IL-1 στα κύτταρα HeLa. Το αλληλόμορφο γονίδιο IL-6-174C έχει συσχετισθεί in vivo με αυξημένα επίπεδα IL-6 [314,315] και CRP [214] στο γενικό πληθυσμό. Μελέτες [316,317] έδειξαν ότι υψηλά επίπεδα IL-6 συσχετίζονται με αυξημένη ΑΠ και αποτελούν έναν ανεξάρτητο παράγοντα ΥΠ.

Ο TGF-β είναι αντίθετα μια αντιφλεγμονώδης κυτοκίνη [318] που θεωρείται ως ένας σημαντικός αναστολέας της φλεγμονής στη ΡΑ [319]. Το T-αλληλόμορφο γονίδιο του SNP TGF-β1 869T/C, (χρωμόσωμα 19, θέση 46,550,761 harmap [313], rs1982073) έχει συσχετισθεί με μειωμένα επίπεδα του TGF-β1 και χειρότερη έκβαση της νόσου σε μια μελέτη 208 ασθενών με ΡΑ [320]. Οι πολυμορφισμοί στο TGF-β1 γονίδιο έχουν

επίσης βρεθεί ότι σχετίζονται με αυξημένη συχνότητα ΥΠ [321] και εμφράγματος μυοκαρδίου [322] στο γενικό πληθυσμό, καθιστώντας έτσι το TGF-β1 έναν ιδιαίτερα ενδιαφέρον γονιδιακό τόπο για τη μελέτη της γονιδιακής ρύθμισης της ΥΠ στους ασθενείς με PA. Αξιοσημείωτο είναι ότι ,σε δύο πρόσφατες GWAs [175,277] δεν προσδιορίστηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών της IL-6-174G/C και του TGF-β1 869T/C με την ΥΠ. Εντούτοις, λαμβάνοντας υπόψη το υπόβαθρο της αυξημένης συστηματικής φλεγμονής στους ασθενείς με PA, μια τέτοια συσχέτιση μπορεί να ενισχύεται και κατά συνέπεια να είναι ευκολότερο να ανιχνευθεί.

Στην παρούσα μελέτη εξετάσθηκε: (i) κατά πόσον οι πολυμορφισμοί IL-6-174 G/C ή TGF-β1 869T/C έχουν διαφορετικές συχνότητες αλληλίων/γονοτύπων στους ασθενείς με PA σε σύγκριση με άτομα χωρίς PA (ii) κατά πόσον οι διάφορες παράμετροι της ΥΠ διαφέρουν μεταξύ των γονοτύπων των ανωτέρω SNPs σε συνδυασμό με τους άλλους καθιερωμένους παράγοντες κινδύνου εμφάνισης ΥΠ στους ασθενείς με PA [10].

2.2.2. Αποτελέσματα

Ο πολυμορφισμός IL-6-174 G/C χαρτογραφήθηκε με επιτυχία σε 383 ασθενείς με PA [μέση ηλικία 61,3±12,1 ετών, 280 (73,1%) γυναίκες, 372 (97,1%) καυκάσιοι] και σε 422 μάρτυρες [μέση ηλικία 50,13 ± 15,73, 255 (60,4%) γυναίκες, 409 (97%) καυκάσιοι]. Το TGF-β1 869T/C SNP χαρτογραφήθηκε επιτυχώς σε 395 ασθενείς με PA [μέση ηλικία 61,49±12,03, 289 (73,2%) γυναίκες, 383 (96,9%) καυκάσιοι] και σε 401 μάρτυρες [μέση ηλικία 50,41±15,72, 242 (60,3%) γυναίκες, 388 (96,8%) καυκάσιοι].

Δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική διαφορά στους ανωτέρω πολυμορφισμούς μεταξύ των ασθενών με PA και των μαρτύρων , πριν και μετά από προσαρμογή για την ηλικία και το φύλο (**Πίνακας 13**).

Καμία σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε στην ηλικία ή το φύλο μεταξύ των γονοτυπικών ομάδων των δύο SNPs. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές σε ότι αφορά τα περισσότερα χαρακτηριστικά της PA (συμπεριλαμβανομένου του RF, της διάρκειας της νόσου, CRP, ΤΚΕ, της DAS-28 ή HAQ, καθώς επίσης και της χορήγησης DMARD, μεθοτρεξάτης, ΜΣΑΦ ή coxibs). Τα αντι-CCP αντισώματα ήταν παρόντα συχνότερα στους ασθενείς με *TGF-β1 869 TT* σε σύγκριση με τις *CT* και *CC* γονοτυπικές ομάδες (78,2% vs. 64,5% και 64,7% αντίστοιχα, $p=0,024$). Υπήρξε μια σημαντική τάση για μειούμενη χρήση μέσων δόσεων από του στόματος πρεδνιζολόνης στους ασθενείς με

TGF-β1 869 TT σε σχέση με τους ασθενείς με CT και CC (22,4% vs. 15,6% vs. 12,1% αντίστοιχα, $p=0,04$). Τα επίπεδα της IL-6 ήταν σημαντικά υψηλότερα μεταξύ των φορέων του αλληλόμορφου γονιδίου IL-6-174C σε σύγκριση με τους ομοζυγώτες GG [14,02 (3,21-38,82) pg/ml vs. 4,48 (2,25-16,50) pg/ml, $p=0,028$]. Επιπλέον, οι φορείς του αλληλόμορφου γονιδίου TGF-β1 869T παρουσίαζαν αυξημένα επίπεδα IL-6 σε σύγκριση με τους ομοζυγώτες των CC [10,35 (3,04-34,72) pg/ml vs. 3,8 (2,17-7,60) pg/ml, $p=0,020$]. Οι καθιερωμένοι παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ, συμπεριλαμβανομένου του καπνίσματος, της παχυσαρκίας (ΔΜΣ), της δυσλιπιδαιμίας, της αντίστασης στην ινσουλίνη και της νεφρικής λειτουργίας, δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των IL-6-174 G/C ή TGF-β1 869 γονοτυπικών ομάδων T/C (**Πίνακας 14**).

Πίνακας 13. Διαφορές στις συχνότητες των γονότυπων και των αλληλίων των πολυμορφισμών της IL-6 και του TGF-β1 μεταξύ των ασθενών με PA και των μαρτύρων

<i>TGF-β 869T/C</i>	Μάρτυρες (n=401)	PA (n=395)	p τιμή (χ^2)
Συχνότητες γονότυπου			
TT	161 (40.1)	161 (40.8)	0.829
CT	186 (46.4)	176 (44.6)	
CC	54 (13.5)	58 (14.7)	
Συχνότητες αλληλίου (2n)			
T	508 (63.34)	498 (36.96)	0.941
C	294 (36.66)	292 (63.04)	
<i>IL-6-174G/C</i>	Μάρτυρες (n=422)	PA (n=383)	p τιμή (χ^2)
Συχνότητες γονότυπου			
GG	148 (35.2)	135 (35.2)	0.29
GC	211 (50)	176 (46)	
CC	63 (14.9)	72 (18.8)	
Συχνότητες αλληλίου (2n)			
G	507 (60.07)	446 (58.24)	0.483
C	337 (39.03)	320 (41.76)	

Αποτελέσματα εκπεφρασμένα ως n (%)

Καμία σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε στη συχνότητα της ΥΠ ή τα επίπεδα της ΣΑΠ ή ΔΑΠ στις τρεις γονοτυπικές ομάδες της IL-6-174G/C (**Πίνακας 15**). Μετά από διόρθωση για τους παράγοντες κινδύνου εμφάνισης ΥΠ στη PA, δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική συσχέτιση ή αλληλεπίδραση.

Όσον αφορά το TGF-β1 869T/C SNP, ο επιπολασμός της ΥΠ ήταν αυξημένος μεταξύ των φορέων του T-αλληλίου έναντι των CC ομοζυγωτών (70,2% vs. 55,2%,

$p=0,023$), αποτέλεσμα που παρέμεινε σημαντικό μετά από τη διόρθωση Bonferroni ($P_{adj}=0,023*2=0,046<0,05$) (Πίνακας 15).

Κατά την προσαρμογή για τους παράγοντες κινδύνου ΥΠ στη PA [ηλικία, φύλο, ΔΜΣ και χρήση μέσης δόσης πρεδνιζολόνης (μοντέλο 1)], παρατηρήθηκε διπλάσια αύξηση στο λόγο αναλογιών για την παρουσία ΥΠ μεταξύ των φορέων του *TGF-β1-869T-allele* αλληλόμορφου γονιδίου έναντι των CC ομοζυγωτών (OR=1,9, 95% CI: 1,02-3,56, $p=0,045$).

Προκειμένου να αξιολογηθούν οι πιθανές αλληλεπιδράσεις «γονιδίου - περιβάλλοντος» προσθέσαμε χωριστά τους όρους *TGF-β1 869T/C*RF* θετικότητα, *TGF-β1 869T/C*αντι-CCP* και *TGF-β1 869T/C** ενεργότητα της νόσου στο μοντέλο 1. Η θετικότητα στον RF ενίσχυσε την υπερτασική επίδραση του *TGF-β1 869T* αλληλόμορφου γονιδίου (OR=4,88, 95% CI: 1,02 έως 23,39, $p=0,047$) ενώ μια οριακή αλληλεπίδραση παρατηρήθηκε με τη μέτρια/αυξημένη ενεργότητα της νόσου (OR=4,47, 95% CI: 0,852 έως 23,5, $p=0,077$). Καμία αλληλεπίδραση δεν παρατηρήθηκε με τη θετικότητα των αντι-CCP (ORA=0,89, 95% CI: 0,22 έως 3,6, $p=0,874$).

Η ανάλυση των ασθενών που δεν ελάμβαναν αντιυπερτασική αγωγή αποκάλυψε ότι ο αυξημένος επιπολασμός ΥΠ μεταξύ των φορέων του *TGF-β1 869T* SNP μπορεί να αποδοθεί στην αυξημένη ΣΑΠ (φορείς του T-αλληλομόρφου vs. των CC ομοζυγωτών: 137,79 mmHg vs. 130 mmHg, $p=0,032$) (Πίνακας 15). Μετά από τη προσαρμογή για την ηλικία, το φύλο, το ΔΜΣ και τη χρήση μέσης δόσης πρεδνιζολόνης, οι φορείς του T-αλληλόμορφου εξακολουθούσαν να έχουν σημαντικά αυξημένη τιμή ΣΑΠ ($\beta= 6,97$, $p=0,041$). Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα για όλες τις ανωτέρω αναλύσεις όταν αποκλείσθηκε ο μικρός αριθμός των μη-Καυκασίων (στοιχεία που δεν παρουσιάζονται).

2.2.3. Συζήτηση

Η παρούσα μελέτη δείχνει ότι οι συχνότητες των γονοτύπων και των αλληλίων των *IL-6-174G/C* και *TGF-β1 869T/C* SNP δεν είναι σημαντικά διαφορετικές μεταξύ των ασθενών με PA και των ντόπιων μαρτύρων χωρίς PA. Δεν υπήρξε καμία εμφανής συσχέτιση μεταξύ του *IL-6-174G/C* SNP και της ΥΠ στους ασθενείς με PA. Ωστόσο, οι φορείς του *TGF-β1 869T*-αλληλίου είχαν διπλάσιο λόγο αναλογιών για ΥΠ έναντι των CC ομοζυγωτών μετά από τη προσαρμογή για τους ειδικούς, για τον πληθυσμό με PA,

Πίνακας 14. Δημογραφικά, χαρακτηριστικά της PA και παράγοντες κινδύνου ΥΠ ανάμεσα στις γονοτυπικές ομάδες των πολυμορφισμών της IL-6 και του TGF-β1

	TGF-β1 T869C					IL-6 G-174C				
	TT (n=161)	CT (n=175)	CC (n=58)	p*	p†	GG (n=135)	GC (n=176)	CC (n=72)	p*	p‡
Γενικά χαρακτηριστικά										
Ηλικία (χρόνια)	59 (47-66,2)	58 (45,15-66,78)	57,7 (43,5-67,9)	0,89	0,787	63,1 (53,8-69,6)	62,7 (55,7-69,5)	63,3 (55,6-69,8)	1	1
Θηλυκό γένος n (%)	115 (71,4)	131 (74,4)	43 (74,1)	0,811	0,935	102 (75,6)	126 (71,6)	52 (72,2)	0,724	0,134
Χαρακτηριστικά της PA										
RF θετικός n (%)	118 (75,6)	131 (76,2)	44 (75,9)	0,994	0,822	95 (73,1)	135 (76,7)	51 (75)	0,768	0,317
Αντι-CCP θετικά n(%)	111 (78,2%)	100 (64,5%)	33 (64,7%)	0,024	0,361	86 (70,5)	112 (75,2)	38 (58,5)	0,049	0,939
Διάρκεια της νόσου (χρόνια)	12 (6-19)	8,5 (3,75-18)	10,5 (3,75-17,25)	0,049	0,654	10 (4-17)	11 (5-18,25)	9,5 (3,25-19)	0,444	0,444
ΤΚΕ	21 (10-34)	21 (10-39)	20,5 (8-40)	0,866	0,765	20 (9-35)	21,5 (12-40,75)	21 (7,25-36,75)	0,371	0,4
CRP (mg/L)	9,5 (5-20)	8 (5-18)	8,5 (4-19,5)	0,43	0,823	8 (4-16)	10,5 (6-21)	6 (4-18)	0,071	0,071
DAS-28	4,2±1,3	4,26±1,45	4,2±1,54	0,917	0,887	4,15±1,14	4,31±1,32	4,42±1,57	0,544	0,671
HAQ	1,63 (0,63-2,25)	1,38 (0,5-2)	1,63 (1,06-2,28)	0,113	0,136	1,5 (0,38-2,13)	1,63 (0,63-2,25)	1,5 (0,63-2,25)	0,306	0,306
Θεραπεία PA										
DMARDs n (%)	143 (88,8)	152 (86,4)	51 (87,9)	0,789	0,705	119 (88,1)	151 (85,8)	65 (90,3)	0,599	0,799
Πρεδνιζολόνη n (%)	52 (32,3)	56 (31,8)	15 (25,9)	0,64	0,547	39 (28,9)	57 (32,4)	26 (36,1)	0,557	0,139
Μέση δόση Πρεδ, n (%)	36 (22,4)	27 (15,6)	7 (12,1)	0,04 ^{††}	0,167	24 (17,8)	33 (19)	12 (16,9)	0,921	0,511
ΜΣΑΦ ή Coxibs n (%)	37 (23)	59 (33,5)	15 (25,9)	0,091	0,75	33 (24,4)	54 (30,7)	20 (27,8)	0,478	0,160
Παράγοντες κινδύνου ΥΤ										
Κάπνισμα (%):										
μη- / πρώην- / καπνιστής	45,6/38,6/15,8	42,7/38/19,3	50/39,7/10,3	0,601	0,355	44,7/39,4/15,9	44,4/38/17,5	45,8/37,5/16,7	0,995	0,767
ΔΜΣ kg/m ²	27,59±5,1	27,79±4,79	28,03±5,62	0,849	0,649	27,89±4,57	28,02±5,19	26,53±5,4	0,105	0,597
TC mmol/L ¹	5,35±1,08	5,48±1,16	5,57±1,06	0,434	0,38	5,49±1,17	5,36±0,96	5,43±1,02	0,621	0,393
TG mmol/L ¹	1,1 (0,9-1,5)	1,3 (1-1,65)	1,15 (0,93-1,75)	0,301	0,955	1,2 (0,9-1,6)	1,1 (0,9-1,5)	1,3 (0,9-1,8)	0,744	0,818
HDL mmol/L ¹	1,6 (1,3-1,85)	1,6 (1,2-1,9)	1,7 (1,3-1,9)	0,771	0,567	1,6 (1,3-1,9)	1,6 (1,3-1,9)	1,6 (1,3-2)	0,660	0,905
Αντίσταση στην ινσουλίνη	63 (41,7)	59 (33,9)	23 (41,1)	0,309	0,227	45 (35,4)	66 (38,6)	25 (35,7)	0,831	0,66

Αποτελέσματα εκπεφρασμένα ως εκατοστιαίες θέσεις, διαμέσους(median) (25-75η εκατοστιαία θέση) ή μεση τιμή ± SD όπως απαιτείται

*:P-ANOVA, †: P T-test (T-allele vs. CC), ‡: P T-test (GG vs. C allele carriers), ††: P-trend

¹ ασθενείς που δεν έπαιρναν στατίνες

Πίνακας 15. Δείκτες ΥΠ ανάμεσα στις γονοτυπικές ομάδες των πολυμορφισμών της IL-6 και του TGF-β1 σε όλους τους ασθενείς με PA καθώς και σε επιλεγμένους πληθυσμούς

	TGF-β T869C			IL-6 G-174C						
	TT (n=161)	CT (n=175)	CC (n=58)	p*	p†	GG (n=135)	GC (n=176)	CC (n=72)	p*	p‡
Όλοι οι ασθενείς										
με PA (n=400)										
ΥΠ n (%)	114 (70,8)	122 (69,7)	32 (55,2)	0,074	0,023	92 (68,7)	121 (68,8)	47 (65,3)	0,853	0,855
Δεν ελάμβαναν										
αντι-υπερτασική										
αγωγή (n=215)										
ΣΑΠ mmHg	136,59±19,5	138,71±18,96	130±14,49	0,075	0,032	137,49±17,09	136,23±18,54	136,71±17,98	0,624	0,374
ΔΑΠ mmHg	78,18±11,09	78,99±9,76	75,97±8,87	0,35	0,178	79,1±9,71	77,84±10,37	78,31±10,12	0,383	0,531

Αποτελέσματα εκπεφρασμένα ως ποσοστά (%), ή μέσες τιμές ± SD όπως απαιτείται

*:P-ANOVA/Kruskal-Willis, †: P t-test/Mann Whitney U (T-allele vs. CC), ‡: P T-test/ Mann Whitney U (GG vs. C allele carriers)

παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ (ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, χρήση πρεδνιζολόνης) [10]. Η αύξηση της ΑΠ υπό την επίδραση αυτού του αλληλόμορφου γονιδίου φάνηκε να ενισχύεται στους ασθενείς που ήταν οροθετικοί για το RF ή εκείνους με ενεργό νόσο (DAS-28 >3,2), αλλά όχι σε εκείνους που είχαν αντισώματα αντι-CCP.

Η IL-6 και ο TGF- β διαδραματίζουν έναν ζωτικής σημασίας ρόλο στην παθογένεση και την πορεία της ΡΑ [323,324]. Επομένως, πολυμορφισμοί που ρυθμίζουν την παραγωγή της IL-6 ή του TGF- β , όπως οι IL-6-174G/C και TGF- β 1 869T/C, μπορούν να παρουσιάζουν ένα διαφορετικό γονοτυπικό προφίλ στους ασθενείς με ΡΑ έναντι των φυσιολογικών μαρτύρων. Αυτό δεν επαληθεύθηκε στην παρούσα μελέτη. Τα συμπεράσματά μας συμπίπτουν με εκείνα μιας άλλης πρόσφατης μελέτης [325] που δεν κατέδειξε κάποια συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού TGF- β 1 869T/C και της ΡΑ, αλλά δε συμφωνούν με μια ιαπωνική μελέτη [326], η οποία παρουσίασε ένα σημαντικά αυξημένο αριθμό φορέων T αλληλόμορφων μεταξύ των ασθενών με ΡΑ. Αυτές οι αποκλίσεις μπορεί να οφείλονται είτε στις διαφορετικές φυλές που μελετήθηκαν είτε στη μειωμένη στατιστική ισχύ της ιαπωνικής μελέτης. Τα αποτελέσματα, ωστόσο, συμφωνούν με τα ευρήματα των πρόσφατων GWA [175,327].

Ο αρχικός στόχος της παρούσας μελέτης ήταν να εξεταστεί η πιθανή συσχέτιση των δεικτών της ΥΠ με τα ανωτέρω SNPs, στη ΡΑ. Μελέτες [316,328] έδειξαν ότι υψηλά επίπεδα της IL-6 σχετίζονται με αυξημένη ΑΠ και μπορεί να είναι ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ. Σε μια πρόσφατη ανάλυση [329] της μελέτης Women's Health Study, αναφέρεται μια μικρή συσχέτιση της IL-6, και μια ισχυρή συσχέτιση της CRP με τον κίνδυνο εμφάνισης ΥΠ, μετά από την προσαρμογή για άλλες μεταβλητές, και ιδιαίτερα για το ΔΜΣ.

Η IL-6 έχει αναφερθεί να επάγει την παραγωγή αγγειοτεσινογόνου [330] οδηγώντας έτσι σε υψηλότερες συγκεντρώσεις αγγειοτενσίνης II [331], μιας ισχυρής αγγειοσυσπαστικής ουσίας. Μια μελέτη σε ασθενείς σε αιμοκάθαρση έχει συσχετίσει το IL-6 174C-αλλήλιο (που συνδέεται με αυξημένα επίπεδα IL-6) με υψηλά επίπεδα ΔΑΠ και με την παρουσία υπερτροφίας της αριστερής κοιλίας [332]. Σε μια άλλη μελέτη, 2751 που αφορούσε άνδρες μέσης ηλικίας, το αλλήλιο C συσχετίστηκε με σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ΣΑΠ [214]. Καμία συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού της IL-6-174G>C και της ΥΠ δε διαπιστώθηκε σε ένα δείγμα ηλικιωμένων Ιταλών [333].

Ο επιπολασμός της ΥΠ ήταν σημαντικά υψηλότερος μεταξύ των ρευματοειδών ασθενών φορέων του TGF-β1 869 T-αλληλίου. Επιπρόσθετα, η συσχέτιση της φορείας του 869T-αλληλίου με αυξημένη ΣΑΠ μπορεί να προσδιορίσει τους ασθενείς με ΡΑ που έχουν αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση ΚΑΝ [334]. Αυτή η συσχέτιση του ανωτέρω SNP με την ΥΠ στους ασθενείς με ΡΑ μπορεί να είναι μια συνέπεια του αυξημένου φλεγμονώδους φορτίου σε αυτούς τους ασθενείς, δεδομένου ότι καμία σημαντική συσχέτιση μεταξύ TGF-β1 869T/C SNP και της ΥΠ δεν προσδιορίστηκε στις πρόσφατες GWAs στο γενικό πληθυσμό [175]. Η υποβόσκουσα φλεγμονή στους ασθενείς με ΡΑ είναι πιθανό να ενισχύει τη γενετική επιρροή στον φαινότυπο των SNPs που ρυθμίζουν τις φλεγμονώδεις οδούς, όπως το TGF-β1 869T/C. Η παρουσία αυξημένων επιπέδων της IL-6 ορού μεταξύ των ασθενών με ΡΑ που είναι φορείς του TGF-β1869T αλληλίου έναντι των CC ομοζυγωτών, ενισχύει περαιτέρω αυτήν την υπόθεση. Το TGF-β1 συντίθεται σε μια ανενεργό μορφή που αποτελείται από 390 αμινοξέα, με την ενεργό πρωτεΐνη να αποτελείται από δύο ίδιες, συνδεδεμένες με δισουλφιδικό δεσμό πολυπεπτιδικές αλυσίδες που αντιστοιχούν στα 112 καρβοξυλικά άκρα της πρόδρομης μορφής [335]. Ο πολυμορφισμός TGF-β1 869 T/C βρίσκεται στην αναδυόμενη ακολουθία (signal peptide sequence) του TGF-β1, η οποία θεωρείται ότι οδηγεί την συντεθειμένη πρωτεΐνη στο ενδοπλασματικό δίκτυο [336]. Ο Yamada και συν. έδειξαν ότι η συγκέντρωση του TGF-β1 του ορού αυξάνει σύμφωνα με την ακόλουθη σειρά των 869 T/C γονοτύπων $TT < TC < CC$ [337,338]. Αυτή η συσχέτιση προτείνει ότι η αντικατάσταση 869 T/C μπορεί να έχει επιπτώσεις στη λειτουργία του σηματοδοτικού πεπτιδίου, επηρεάζοντας πιθανότατα την ενδοκυττάρια μεταφορά ή την ικανότητα εξαγωγή της πρωτεΐνης. Στο γενικό πληθυσμό, δύο γενετικές μελέτες συσχέτισης [339,340] ανέδειξαν ότι ο επιπολασμός της ΥΠ είναι αυξημένος μεταξύ των ομοζυγωτών TGF-β1 869 CC (που σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα του TGF-β1) σε γυναίκες ιαπωνικής και κινεζικής καταγωγής, ένα εύρημα που έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματά μας. Σε μια πρόσφατη μελέτη, η περίσσεια του TGF-β1 έχει συνδεθεί με την εμφάνιση ΥΠ και η ανεπάρκεια του TGF-β1 με την παρουσία αθηροσκλήρυνσης και φλεγμονής. [341]. Ωστόσο η σχέση μεταξύ της φλεγμονής και ΥΠ έχει αναδειχθεί από προοπτικές μελέτες [77], και επομένως φαίνεται να υπάρχουν δύο οδοί μέσω των οποίων τα επίπεδα του TGF-β1 μπορούν να έχουν επιπτώσεις στη μελλοντική εκδήλωση της ΥΠ. Η πρώτη διαμέσου των αυξημένων επιπέδων (στους CC ομοζυγώτες), τα οποία μπορούν να προκαλέσουν την απελευθέρωση της ET-1 από τα

αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα [52] και της ρενίνης από κύτταρα της πυκνής κηλίδας [342]. Η δεύτερη διαμέσου των μειωμένων επιπέδων (στους φορείς T-αλληλόμορφων γονιδίων), που μπορεί να οδηγήσει στην αύξηση της συστηματικής φλεγμονής (όπως αντανακλά στα αυξημένα επίπεδα IL-6 του ορού), στην επιδείνωση της ακαμψίας των αρτηριακών τοιχωμάτων [32] και τελικά στην εμφάνιση ΥΠ [82]. Αυτός φαίνεται να είναι και ο πιο πιθανός μηχανισμός για την εμφάνιση ΥΠ σε ασθενείς με PA.

Είναι γνωστό ότι TGF-β1 έχει πολλαπλές ανοσοκατασταλτικές ιδιότητες, ενώ μειώνει τη χημειοταξία των ουδετεροφίλων διαμέσου της αναστολής της έκφρασης των προσκολλητικών μορίων στα ενδοθηλιακά κύτταρα [343-345]. Επιπλέον αναστέλλει την ενεργοποίηση των μακροφάγων [346] και τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό του κυττάρου T, είτε άμεσα, είτε διαμέσου της καταστολής της λειτουργίας των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων [347,348]. Μια πρόσφατη μελέτη σε ασθενείς με PA έδειξε ότι οι φορείς του αλληλίου T είχαν χαμηλά επίπεδα TGF-β1, αυξημένο φλεγμονώδες υπόβαθρο, μειωμένη φυσική δραστηριότητα και μειωμένη επιβίωση [349]. Τα ανωτέρω είναι σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης μας που δείχνουν ότι οι φορείς του T αλληλίου εμφανίζουν πιο σοβαρή μορφή PA, όπως δείχνουν τα αυξημένα επίπεδα της IL-6 στον ορό, η αυξημένη συχνότητα ανεύρεσης αντι-CCP αντισωμάτων και η συχνότερη χορήγηση θεραπείας με ΚΣ. Είναι πιθανό η υπερτασική δράση του αλληλίου TGFβ1 869 T να ενισχύεται σε συγκεκριμένο περιβαλλοντικό πλαίσιο, όπως σε καταστάσεις αυξημένης συστηματικής φλεγμονής σε ασθενείς με σοβαρή PA [350,351]. Στην παρούσα μελέτη ανεδείχθη σαφής αλληλεπίδραση γονοτύπου και οροθετικότητας για τον RF, ενώ μια παρόμοια τάση αλληλεπίδρασης παρατηρήθηκε μεταξύ γονοτύπου και αυξημένης ενεργότητας της νόσου.

Στους περιορισμούς της παρούσας μελέτης αναγνωρίζονται (i) ο σχεδιασμός (συγχρονική μελέτη) (ii) η έλλειψη μετρήσεων του TGF-β1 πλάσματος στον πληθυσμό των ασθενών με PA και μετρήσεων της ΑΠ μεταξύ των υγείων μαρτύρων, γεγονός που θα ενίσχυε την κατανόηση της ιδιαιτερότητας της συσχέτισης μεταξύ του ιδιαίτερου SNP και της ΥΠ στη PA. Ένα από τα ισχυρά σημεία της παρούσας μελέτης είναι η συσχέτιση του TGF-β1 869T/C SNP με τη ΣΑΠ ως συνεχή μεταβλητή (εύρημα που δεν υπόκειται σε σφάλμα ταξινόμησης). Τέλος, πρόκειται για την πρώτη μελέτη που καταδεικνύει μια ισχυρή συσχέτιση ενός SNP που εμπλέκεται στον καταρράκτη της φλεγμονής με την παρουσία ΥΠ σε ασθενείς με PA. Εφόσον, τα αποτελέσματά μας επιβεβαιωθούν σε

μελλοντικές προοπτικές μελέτες, ο πολυμορφισμός TGF-β1 869T/C θα μπορούσε να περιληφθεί σε ένα μικροσίπ DNA, με σκοπό την πρώιμη ανίχνευση ασθενών με PA με αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση ΥΠ.

2.3. Συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού του GNB3 C825T και της ΥΠ σε ασθενείς με PA

2.3.1. Εισαγωγή

Πρόσφατα, η β3 υπομονάδα της G-πρωτεΐνης (G-protein β3 subunit) προσέλκυσε την προσοχή όταν προσδιορίστηκε ένα SNP στο εξόνιο 10 του GNB3 γονιδίου (C825T) και συσχετίστηκε με μια μεταβολή του πεπτιδίου Gβ3 (προϊόν εναλλακτικού ματίσματος, a truncated Gβ3 slice variant) [352]. Η πλειονότητα των μελετών σε λευκούς ασθενείς δείχνει ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του αλληλίου T και της ΥΠ [353]. Ωστόσο, μέχρι σήμερα δεν υπάρχει αντίστοιχη μελέτη σε ασθενείς με PA. Οι φορείς του αλληλίου GNB3 825T εμφανίζουν αυξημένη δραστηριότητα των μεταφορέων Na⁺/H⁺ (NHE-1) και αυξημένη μεταβίβαση σημάτων από τις G πρωτεΐνες που είναι ευαίσθητες στην τοξίνη του κοκκύτη (pertussis toxin-sensitive G proteins) [352]. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της ΑΠ διαμέσου της αύξησης του ενδαγγειακού όγκου, καθώς επίσης και της αγγειοσύσπασης διαμέσου της ενίσχυσης της μεταγωγής των σημάτων των αγγειοδραστικών παραγόντων. Θεωρείται ότι το υπερτασικό αποτέλεσμα αυτού του πολυμορφισμού είναι εντονότερο στα άτομα με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία [354], στα οποία οι αντισταθμιστικοί μηχανισμοί - όπως η απελευθέρωση νιτρικού οξειδίου - αποτυγχάνουν, αποκαλύπτοντας την επίδραση της αυξημένης αγγειοσυστολής στους φορείς του 825T αλληλόμορφου γονιδίου. Η PA αυτή καθ' εαυτή συνδέεται με εμφάνιση ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας [355], και επομένως ο αντίκτυπος του ανωτέρω πολυμορφισμού στα επίπεδα της ΑΠ μπορεί να είναι εντονότερος σε αυτήν την ομάδα των ασθενών σε σύγκριση με το γενικό πληθυσμό. Παρόμοια, μια εντονότερη επίδραση του GNB3 825C/T SNP στα επίπεδα της ΑΠ στους ασθενείς με PA μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι οι φορείς των T-αλληλόμορφων γονιδίων παρουσιάζουν αυξημένη αγγειοσυστολή στη δράση της ET-1 [354], τα επίπεδα της οποίας έχουν βρεθεί ότι είναι αυξημένα στους ασθενείς με PA [280,281].

Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε: (i) κατά πόσον ο αυξημένος επιπολασμός ΥΠ στη PA θα μπορούσε να αποδοθεί εν μέρει στην αυξημένη συχνότητα των GNB3 825T-αλληλόμορφων γονιδίων ή του γονοτύπου TT στους ασθενείς με PA και (ii) κατά πόσον το GNB3 825C/T SNP διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ΑΠ ανεξάρτητα από τους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ στους ασθενείς με PA [10,92,356] και από τους δείκτες φλεγμονής. Τέλος, εξετάστηκε η πιθανή αλληλεπίδραση μεταξύ του συγκεκριμένου πολυμορφισμού και των επιπέδων της ET-1.

2.3.2. Αποτελέσματα

2.3.2.1. Συχνότητα των GNB3 C825T γονοτύπων στη PA και τους μάρτυρες

Οι συχνότητες των GNB3 C825T γονοτύπων και των αλληλίων που μελετήθηκαν παρουσιάζονται στον **πίνακα 16**. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στις συχνότητες των γονοτύπων, ακόμα και όταν αυτοί διαχωρίστηκαν με βάση το φύλο, μεταξύ των ασθενών με PA και των μαρτύρων, πριν και μετά από τη προσαρμογή για την ηλικία. Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα και όταν αποκλείσθηκαν από τις ανωτέρω αναλύσεις οι μη-Καυκάσιοι συμμετέχοντες.

Πίνακας 16. Συχνότητες γονοτύπων και αλληλίων για την σημειακή μετάλλαξη C825T του γονιδίου της β₃-υπομονάδας της G-πρωτεΐνης μεταξύ των μαρτύρων και των ασθενών με PA σύμφωνα με το γένος

	Άρρενες			Θήλειες		
	Μάρτυρες n (%)	PA n (%)	p	Μάρτυρες n (%)	PA n (%)	p
Συχνότητες γονοτύπου						
CC	75 (43,9)	43 (42,2)	0,101	133 (52,0)	135 (48,0)	0,581
CT	71 (41,5)	52 (51,0)		100 (39,1)	115 (40,9)	
TT	25 (14,6)	7 (6,9)		23 (9,0)	31 (11,0)	
Συχνότητες αλληλίου (2n)						
C	221 (63,7)	138 (67,6)	0,396	366 (71,5)	385 (68,5)	0,319
T	126 (36,3)	66 (32,4)		146 (28,5)	177 (31,5)	

C: κυτοσίνη, T: θυμίνη

2.3.2.2. ΥΠ και φαινότυπος της νόσου μεταξύ των πασχόντων από PA με διαφορετικούς GNB3 C825T γονοτύπους.

Συνολικά 383 ασθενείς με PA αξιολογήθηκαν και διαιρέθηκαν σε τρεις γονοτυπικές ομάδες της GNB3 (CC, CT και TT). Τα λεπτομερή στοιχεία τους

(δημογραφικά, φαινότυπος της RA και θεραπεία, και παράγοντες κινδύνου ΥΠ) παρουσιάζονται στους **πίνακες 17 και 18**.

Πίνακας 17. Δημογραφικά των γονοτύπων της σημειακής μετάλλαξης C825T του γονιδίου της β_3 -υπομονάδας της G-πρωτεΐνης σε ασθενείς με RA

	GNB 3 C825T (rs5443)				p
	Σύνολο (n=383)	CC (n=178)	CT (n=167)	TT (n=38)	
Γενικά χαρακτηριστικά					
Ηλικία (χρόνια)	61,6±12,0	61,9±11,1	61,8±12,6	58,9±13,5	0,362
Γυναίκες n (%)	281 (73,4)	135 (75,8)	115 (68,9)	31 (81,6)	0,165
Χαρακτηριστικά RA					
Log TKE	1,27±0,42	1,28±0,42	1,27±0,40	1,25±0,44	0,939
Anti-CCP n (%)	248 (67,4)	120 (69,8)	97 (61)	31 (83,8)	0,019
RF θετικός n (%)	284 (75,9)	128 (73,6)	123 (75,9)	33 (86,8)	0,222
Διάρκεια της νόσου					
(χρόνια)	10 (4-18)	11 (4-17)	9 (4-18)	12,5 (7-19)	0,443
DAS-28	4,22±1,40	4,29±1,36	4,23±1,45	3,83±1,26	0,232
HAQ	1,5 (0,63-2,13)	1,63 (0,75-2,25)	1,5 (0,5-2,13)	1,69 (0,5-2,03)	0,629
Θεραπεία RA					
DMARDs n (%)	335 (87,5)	155 (87,1)	147 (88)	33 (86,8)	0,958
Πρεδνιζολόνη n (%)	124 (32,4)	56 (31,5)	55 (32,9)	13 (34,2)	0,928
ΜΣΑΦ ή Coxibs n(%)	108 (28,2)	59 (33,1)	37 (22,2)	12 (31,6)	0,068
Παράγοντες κινδύνου ΥΤ ειδικά για τη RA					
Μέση δόση					
πρεδνιζολόνης n (%)	67 (17,5)	32 (18)	26 (15,6)	9 (23,7)	0,480
Ουρικό οξύ (mg/l)	5,18±1,51	5,24±1,58	5,14±1,38	4,92±0,24	0,466
ΔΜΣ kg/m ²	27,7±5,0	28,1±4,9	27,8±4,9	27,8±5,5	0,236

Αποτελέσματα εκπεφρασμένα σε εκατοστιαίες θέσεις, διάμεσους(median) (25-75η εκατοστιαία θέση) ή μέσες τιμές ± SD όπως απαιτείται

C: κυτοσίνη, T: θυμίνη

Παρατηρήθηκε σημαντικά αυξημένη συχνότητα της οροθετικότητας στα αντι-CCP μεταξύ των TT ασθενών έναντι των φορέων των C αλληλόμορφων γονιδίων. Η χρήση DMARD ήταν παρόμοια στις τρεις ομάδες και δεν υπήρξε σημαντική διαφορά ως προς τη χρήση φαρμάκων της RA που μπορεί ενδεχομένως να συσχετίζονται με την εμφάνιση ΥΠ: μόνο 2 ασθενείς έπαιρναν κυκλοσπορίνη [CC: 0 (0%), CT: 2 (1.2%), TT: 0 (0%), p=0.272] και 15 λεφλουνομίδη (leflunomide) [CC: 8 (4,5%), CT: 6 (3,6%), TT: 1 (2,6%), p=0,831].

Καμία σημαντική συσχέτιση δεν παρατηρήθηκε μεταξύ του T825 αλληλίου του GNB3 και της ΑΠ (ΣΑΠ/ΔΑΠ) ή του επιπολασμού της ΥΠ (**Πίνακας 18**).

Πίνακας 18. Δείκτες της ΥΠ και χρήση αντι-υπερτασικών ανάμεσα στις γονοτυπικές ομάδες της σημειακής μετάλλαξης C825T του γονιδίου της β_3 -υπομονάδας της G-πρωτεΐνης σε ασθενείς με PA

	GNB 3 C825T (rs5443)				p
	Σύνολο (n=383)	CC (n=178)	CT (n=167)	TT (n=38)	
Δείκτες ΥΠ					
ΣΑΠ mmHg	142,24±20,74	143,88±21,63	140,95±20,34	142,26±19,94	0,432
ΔΑΠ mmHg	78,85±11,24	79,24±11,20	78,77±10,88	79,55±13,31	0,893
ΥΠ n (%)	269 (70,2)	128 (71,9)	113 (67,7)	28 (73,7)	0,612
Αντι-υπερτασική θεραπεία					
≥2 αντιυπερτασικά n (%)	80 (20,9)	39 (21,9)	33 (19,8)	8 (21,1)	0,886
αντιυπερτασικά n (%)	171 (44,6)	79 (44,4)	74 (44,3)	18 (47,4)	0,939
Θειαζιδικά διουρητικά n (%)	71 (18,5)	30 (16,9)	36 (21,6)	5 (13,2)	0,355
A-MEA/ARBs n (%)	97 (25,3)	42 (23,6)	41 (24,6)	14 (36,8)	0,223
CCBs n (%)	49 (12,8)	25 (14)	20 (12)	4 (10,5)	0,769
β-αποκλειστές n (%)	61 (15,9)	28 (15,7)	24 (14,4)	9 (23,7)	0,365

Αποτελέσματα εκπεφρασμένα σε εκατοστιαίες θέσεις, διάμεσους(median) (25-75η εκατοστιαία θέση) ή μέσες τιμές ± SD όπως απαιτείται

C: κυτοσίνη, T: θυμίνη

Αυτή η έλλειψη συσχέτισης παρέμεινε και μετά από την προσαρμογή για την ηλικία, το φύλο, τους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ στη PA και τη χορήγηση αντιυπερτασικής αγωγής (Πίνακας 19). Η προσαρμογή για τους δείκτες της φλεγμονής (θετικά αντι-CCP, DAS-28, HAQ) δεν επέφερε αλλαγές στα αποτελέσματα. Ο αδρός OR για την εμφάνιση ΥΠ (CT+TT vs. CC) ήταν 0,86 (95% CI: 0,55-1,34, $p=0,504$) και ο προσαρμοσμένος OR (για την ηλικία, το φύλο, το ΔΜΣ, τη μέση δόση πρεδνιζολόνης από του στόματος, τα επίπεδα του ουρικού οξέος του ορού) ήταν 0,92 (95% CI: 0,49-1,76, $p=0,813$). Η σύγκριση (contrast) των TT έναντι των CC+CT έδωσε crude OR ίσο με 1,21 (95% CI: 0,57-2,58, $p=0,625$) και adjusted OR ίσο με 2,17 (95% CI: 0,89-5,30, $p=0,091$), ενώ η σύγκριση (contrast) των T αλληλίων έναντι των C αλληλίων έδωσε crude OR ίσο με 0,95 (95% CI: 0,68-1,33, $p=0,953$) και adjusted OR ίσο με 1,11 (95% CI: 0,76-1,61, $p=0,604$).

Καμία σημαντική αλληλεπίδραση δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των γονοτύπων GNB3 825C/T και των επιπέδων της ενδοθηλίνης ορού. Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα και όταν αποκλείσθηκε ο μικρός αριθμός των μη-Καυκάσιων από τις ανωτέρω αναλύσεις.

Πίνακας 19. Εκτιμώμενες τιμές της συστολικής και διαστολικής πίεσης του αίματος σε κάθε γονοτυπική ομάδα της σημειακής μετάλλαξης C825T του γονιδίου της β₃-υπομονάδας της G-πρωτεΐνης μετά από προσαρμογή για συγχυτικούς παράγοντες, σε ασθενείς με PA

	GNB 3 C825T (rs5443)			p
	CC (n=153)	CT (n=137)	TT (n=28)	
ΣΑΠ¹	143,66±1,47	140,82±1,53	143,87±3,19	0,368
ΣΑΠ²	143,00±1,44	139,86±1,48	144,83±3,05	0,185
ΣΑΠ³	143,28±1,41	139,60±1,45	144,69±3,01	0,119
ΔΑΠ¹	79,28±0,85	78,68±0,88	79,74±1,84	0,820
ΔΑΠ²	79,04±0,86	78,51±0,89	80,26±1,83	0,683
ΔΑΠ³	79,10±0,86	78,38±0,89	80,49±1,84	0,570

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή±SE

¹προσαρμογή για ηλικία, γένος

²μοντέλο 1 και προσαρμογή για παράγοντες κινδύνου ΥΠ ειδικούς για τη PA (ΔΜΣ, μέση δόση πρεδνιζολόνης, ουρικό οξύ ορού)

³μοντέλο 2 και προσαρμογή για αντι-υπερτασικά φάρμακα (α-MEA/ARBs, διουρητικά, β-αποκλειστές, CCB)

C: κυτοσίνη, T: θυμίνη

2.3.3. Συζήτηση

Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που αξιολόγησε τη συσχέτιση του GNB3 825C/T SNP με την ΑΠ και τον επιπολασμό της ΥΠ στους ασθενείς με PA. Τα αποτελέσματα της μελέτης μας δεν ανέδειξαν σημαντικές διαφορές στη συχνότητα των γονοτύπων GNB3 825C/T μεταξύ των ασθενών με PA και των υγιών μαρτύρων. Μεταξύ των ασθενών με PA δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση του GNB3 825C/T SNP με την ΑΠ (ως συνεχή μεταβλητή) ή με τον επιπολασμό της ΥΠ (κατηγορική μεταβλητή).

Η αποτυχία της μελέτης μας να αναπαράγει τη θετική συσχέτιση που είχε προηγουμένως περιγραφεί στους λευκούς πρέπει να ερμηνευθεί με προσοχή. Σε μια πρόσφατη μετα-ανάλυση η σύγκριση των TT έναντι των φορέων του C-αλληλόμορφου γονιδίου έδωσε ένα λόγο αναλογιών (overall odds ratio) 1,08 (95% CI: 1,01-1,15), ενώ η σύγκριση των φορέων του T-αλληλίου έναντι των CC ομοζυγωτών OR 1,17 (95% CI: 1,06-1,29) [357]. Παρότι τα αποτελέσματα αυτής της μετα-ανάλυσης παρουσιάζουν σημαντική συσχέτιση του GNB3 825C/T SNP με την εμφάνιση ΥΠ, το μέγεθος της επίδρασης του πολυμορφισμού στην ΥΠ είναι πολύ μικρό. Κατά συνέπεια, η κλινική σημασία ενός τέτοιου ευρήματος είναι αμφισβητήσιμη. Όπως έχει αναφερθεί προηγουμένως, η PA συσχετίζεται με την παρουσία δυσλειτουργίας του ενδοθηλίου [355,358,359] και αυξημένα επίπεδα ET-1 [280,281], δύο καταστάσεις που θα εδύναντο

να ενισχύουν μια πιθανή επίδραση του GNB3 825C/T SNP στα επίπεδα της ΑΠ. Επομένως, είναι πιθανό ότι η παρούσα μελέτη έχει την απαραίτητη ισχύ για να αξιολογήσει κλινικώς σημαντικές επιδράσεις του υπό μελέτη πολυμορφισμού στην ΥΠ.

Σημαντικός περιορισμός της παρούσας μελέτης θεωρείται η απουσία πληροφοριών σχετικά με τα επίπεδα της ΑΠ στην ομάδα των μαρτύρων. Ωστόσο, δεδομένου ότι οι μάρτυρες επιλέχτηκαν με μόνο κριτήριο την απουσία ΡΑ, θα περίμενε κανείς ότι ο επιπολασμός της ΥΠ στην ομάδα αυτή αντιστοιχεί σε εκείνον του γενικού πληθυσμού της Μ. Βρετανίας [216]. Συνεπώς, εάν η αυξημένη συχνότητα της ΥΠ που παρατηρήθηκε στους ασθενείς με ΡΑ οφειλόταν στην αυξημένη συχνότητα παρουσίας του GNB3 825 TT γονότυπου /T-αλληλίου στους ασθενείς σε σύγκριση με το γενικό πληθυσμό, αυτό θα είχε ανιχνευθεί.

Η GNB3 αποτελεί μέρος του δικτύου της ετεροτριμερούς G πρωτεΐνης που μεταφέρει τα ερεθίσματα από τους επταελικοειδείς (heptahelical) υποδοχείς και ξεκινά την ενδοκυτταρική μεταφορά σημάτων. Υπό αυτήν τη μορφή, η GNB3 πρωτεΐνη ρυθμίζει ποικίλα κυτταρικά γεγονότα, συμπεριλαμβανομένης της μεταφοράς του ελεύθερου κυτταροπλασματικού Ca^{++} , του σχηματισμού της φωσφορικής ινοσιτόλης (inositol), και της ενεργοποίησης της πρωτεϊνικής κινάσης [mitogen-activated protein kinase (MAPK)] [360]. Όλα αυτά εμπλέκονται στον πολλαπλασιασμό και στην απόπτωση των κυττάρων, και επομένως, στην αγγειοσύσπαση, την υπερτροφία και την αναδιαμόρφωση των αγγείων (remodeling). Το γονίδιο που κωδικοποιεί την GNB3 πρωτεΐνη βρίσκεται στο χρωμόσωμα 12p13 και συνίσταται από 11 εξόνια, με το κωδικόνιο (codon) έναρξης ATG να βρίσκεται στο εξόνιο 3 και το κωδικόνιο (codon) λήξης TGA στο εξόνιο 11. Πρόσφατα η β3 υπομονάδα της G-πρωτεΐνης προσέλκυσε την προσοχή στο ερευνητικό πεδίο της ΥΠ. Συγκεκριμένα, προσδιορίστηκε ένα SNP στο εξόνιο 10 του GNB3 γονιδίου (Gβ3 C825T) και σχετίστηκε με μια παραλλαγή ματίσματος (splice variant) [361].

Αυτή η μετάλλαξη σχετίζεται με το σχηματισμό μιας GNB β3 πρωτεΐνης με λιγότερα αμινοξέα, που αποτελεί προϊόν παραλλαγής ματίσματος με αυξημένη λειτουργικότητα [352] και οδηγεί στη διέγερση του μεταφορέα NHE-1 [362,363]. Πρόκειται για ένα μεταφορέα ιόντων που μεσολαβεί στην ηλεκτρονευρική (electroneural) ανταλλαγή των ενδοκυτταρικών πρωτονίων με τα εξωκυττάρια ιόντα Na^{+} , συμβάλλοντας με αυτόν τον τρόπο στη ομοιοστασία του ενδοκυττάρου pH και του Na^{+} . Η χρόνια κατακράτηση νατρίου και η αύξηση του κυκλοφορούντος όγκου, ως συνέπεια

της αυξημένης δραστηριότητας του NHE-1 έχει προταθεί ως πιθανός μηχανισμός αύξησης των επιπέδων της ΑΠ [352,362]. Εναλλακτικοί μηχανισμοί συσχέτισης του αλληλόμορφου γονιδίου GNB3 T και της ΥΠ έχουν προταθεί από τον Wenzel et al [354]. Ορισμένοι αγγειοδραστικοί (vasoactive) παράγοντες [συμπεριλαμβανομένης της νορεπινεφρίνης διαμέσου της δράσης της στους α_2 αδρενεργικούς υποδοχείς, της ET-1, της αγγειοτενσίνης II, και της θρομβίνης] μεταβιβάζουν μερικές από τις δράσεις τους διαμέσου πρωτεϊνών G που είναι ευαίσθητες στην τοξίνη του κοκκύτη [364,365]. Κατά συνέπεια, αυτοί οι αγγειοσυσπαστικοί παράγοντες (vasoconstrictors) εάν ενεργοποιηθούν μπορούν να διεγείρουν την αγγειοσύσπαση στα άτομα που φέρουν τη μεταλλαγμένη πρωτεΐνη Gβ3.

Στην παρούσα μελέτη, δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της ενδοθηλίνης ορού και του γονοτύπου GNB3 825C/T, γεγονός που υποδηλώνει ότι στη PA η συμβολή του πολυμορφισμού GNB3 825C/T στην παθογένεση της ΥΠ μπορεί να είναι λιγότερο σημαντική. Η προσαρμογή για τους συγχυτικούς παράγοντες που συνδέονται με την ΥΠ στον πληθυσμό της παρούσας κοόρτης [10,92,356] δεν επηρέασε τα ευρήματά μας. Πραγματοποιήθηκαν επίσης, περαιτέρω προσαρμογές για την αντιυπερτασική θεραπεία (**Πίνακας 18**) ώστε να εκτιμηθεί η επίδραση της μεγαλύτερης χρήσης διουρητικών μεταξύ των ΤΤ ομοζυγωτών. Όπως περιγράφηκε από τους Turner και συν. [366], οι ΤΤ ομοζυγώτες εμφανίζουν καλύτερη ανταπόκριση στις θειαζίδες. Επομένως, η αύξηση της χρήσης θειαζιδικών διουρητικών μεταξύ των ΤΤ ομοζυγωτών μπορεί να καλύψει την υπερτασική δράση του GNB3 825 ΤΤ γονοτύπου. Αυτό δεν φάνηκε να συμβαίνει στην παρούσα κοόρτη. Πρόκειται για την πρώτη μελέτη σε ασθενείς με PA που έδειξε ότι δεν υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ του GNB3 825C/T SNP και των διαφόρων μεταβλητών της ΥΠ. Αν και δεν μπορούν να αποκλειστούν μικρές επιρροές του γονοτύπου αυτού στα επίπεδα ΑΠ, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ο πολυμορφισμός GNB3 825C/T δεν επηρεάζει σημαντικά την εμφάνιση ΥΠ σε ασθενείς με PA. Η επιβεβαίωση ή όχι των ευρημάτων μας καθιστά αναγκαία τη διενέργεια περαιτέρω μελετών.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η καρδιαγγειακή νόσος (ΚΑΝ) αποτελεί έναν από τους κύριους παράγοντες αυξημένης νοσηρότητας και θνητότητας σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα (ΡΑ). Σημαντικός αριθμός μελετών στο παρελθόν διερεύνησε το ρόλο ποικίλων παραγόντων που οδηγούν στην αύξηση του επιπολασμού της ΚΑΝ στους ασθενείς με ΡΑ. Η υπέρταση (ΥΠ) είναι ένας από τους πιο σημαντικούς τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΚΑΝ στο γενικό πληθυσμό αλλά και σε ασθενείς με ΡΑ, στους οποίους έχει βρεθεί ότι συσχετίζεται με υποκλινική αθηρωματική νόσο. Μέχρι σήμερα ο επιπολασμός, οι κλινικές συσχετίσεις και οι θεραπευτικές προσεγγίσεις της ΥΠ σε ασθενείς με ΡΑ δεν έχουν μελετηθεί.

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν η μελέτη του επιπολασμού της ΥΠ και η αναζήτηση παραγόντων που συσχετίζονται ανεξάρτητα με την παρουσία ΥΠ και την ανεπαρκή ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης σε μια κοόρτη ασθενών με ΡΑ στα πλαίσια δευτεροβάθμιας φροντίδας. Επιπρόσθετα μελετήθηκε η ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ της παρουσίας ΥΠ και σημειακών μεταλλάξεων που ρυθμίζουν τον τόνο του τοιχώματος των αγγείων και την παρουσία συστηματικής φλεγμονής.

Συνολικά μελετήθηκαν 400 ασθενείς με ΡΑ που υποβλήθηκαν σε λεπτομερή αξιολόγηση που περιελάμβανε ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, λεπτομερή ανασκόπηση του ιατρικού τους ιστορικού και νοσοκομειακών αρχείων, παραμέτρους αξιολόγησης της ενεργότητας και σοβαρότητας της νόσου, καθώς και παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Στοιχεία που αφορούσαν γονιδιακά και δημογραφικά δεδομένα από 430 εθελοντές (ομάδα υγιών μαρτύρων) καταχωρήθηκαν ανώνυμα σε μία γονιδιακή βάση. Οι σημειακές υποκαταστάσεις νουκλεοτιδίων (SNPs) που προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας το σύστημα Roche LightCycler® 2.0 εντοπιζόταν στο γονίδιο της ενδοθηλίνης (*rs1800541*, *rs5370*), της IL-6 (IL-6-174G/C) (*rs1800795*), του TGF-β1 869 T/C (*rs1982073*) και της συνδετικής πρωτεΐνης του νουκλεοτιδίου γουανίνη [guanine nucleotide binding protein, beta 3 GNB3 825C/T) (*rs5443*)].

Ο επιπολασμός της ΥΠ στην παρούσα κοόρτη ασθενών με PA ήταν 70,5%. Ένα σημαντικό ποσοστό υπερτασικών ασθενών με PA (39,4%) παρέμεναν αδιάγνωστοι και κατά συνέπεια χωρίς θεραπεία, ενώ η ΥΠ παρέμενε αρρυθμιστη στην πλειονότητα εκείνων που βρίσκονταν υπό θεραπευτική αγωγή (78,4%).

Η ηλικία, η παχυσαρκία και η μακροχρόνια χρήση κορτικοστεροειδών (ΚΣ) είχαν ισχυρή συσχέτιση με την παρουσία ΥΠ στους ασθενείς με PA. Η μικρή ηλικία (<45) συσχετιζονταν με μη διαγνωσθείσα ΥΠ, ενώ οι μεγαλύτερες ηλικίες (>65), η παρουσία παχυσαρκίας και ΚΑΝ με αρρυθμιστη ΥΠ.

Για κάθε αύξηση κατά 1 mg dL^{-1} ($59,48 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) των επιπέδων του ουρικού οξέος, ο λόγος αναλογιών (OR) για την παρουσία ΥΠ ήταν 1,59 (95% διάστημα εμπιστοσύνης, CI: 1,21-2,1 $p=0,001$), μετά από τη διόρθωση για την παρουσία παραγόντων κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ και για τη λήψη φαρμακευτικής αγωγής, όπως διουρητικά και ασπιρίνη.

Η χορήγηση ΚΣ συσχετιζονταν με την παρουσία ΥΠ [adjusted OR =3,64 (1,36-9,77), $p=0,01$ κατά τη σύγκριση της ομάδας MD/LT-E (medium dose/long term exposure to glucocorticosteroids) με την ομάδα N/L-E (no or limited exposure to glucocorticosteroids)].

Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στη συχνότητα των σημειακών μεταλλάξεων που μελετήθηκαν μεταξύ ασθενών με PA και υγιών εθελοντών. Μετά από την προσαρμογή για τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ΥΠ στους ασθενείς με PA (ηλικία, φύλο, σωματικό βάρος και μέση δόση πρεδνιζολόνης) ο λόγος αναλογιών για την ΥΠ για τους EDN-1 rs5370 T-T ασθενείς ήταν 2,89 (95%CI: 1,02-8,19). Στην απλοτυπική ανάλυση και μετά από συνυπολογισμό των συγχυτικών παραγόντων, ο T-T rs1800541-rs5370 απλότυπος της ενδοθηλίνης ήταν ο μοναδικός που διατήρησε σημαντικά αυξημένο OR για την παρουσία ΥΠ (OR 2,96, 95%CI: 1,28-6,86, $p=0,011$). Το ποσοστό των ασθενών με αυξημένα επίπεδα ET-1 ($\geq 3 \text{ pg/ml}$) ήταν σημαντικά υψηλότερο μεταξύ των υπερτασικών έναντι των νορμοτασικών ασθενών με PA (59,9% έναντι 42,1%, $p=0,008$).

Μετά από την προσαρμογή για συγχυτικούς παράγοντες ο λόγος αναλογιών για την παρουσία ΥΠ μεταξύ φορέων του *TGF-β1-869T* αλληλόμορφου γονιδίου έναντι των CC ομοζυγωτών ήταν 1,9 (95% CI: 1,02-3,56, $p=0,045$). Η ανεύρεση θετικού ρευματοειδή παράγοντα (RF) ενίσχυσε την υπερτασική επίδραση του *TGF-β1 869T* αλληλόμορφου

γονιδίου (OR=4,88, 95% CI: 1,02 έως 23,39, $p=0,047$). Οι φορείς του αλληλόμορφου γονιδίου TGF- β 1 869T εμφάνιζαν αυξημένα επίπεδα της ιντερλευκίνης (IL) 6 σε σύγκριση με τους ομοζυγώτες των CC [10.35 (3.04-34.72) pg/ml vs. 3.8 (2.17-7.60) pg/ml, $p=0.020$].

Δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας ΥΠ και των σημειακών γονιδιακών μεταλλάξεων της IL-6-174G/C (*rs1800795*) και της συνδετικής πρωτεΐνης του νουκλεοτιδίου γουανίνη [guanine nucleotide binding protein, beta 3 GNB3 825C/T) (*rs5443*)].

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Μεγάλο ποσοστό ασθενών με RA εμφανίζει ΥΠ. Ωστόσο, παρατηρείται ανεπαρκής ρύθμιση στην πλειονότητα των ασθενών, ενώ μεγάλος αριθμός ασθενών με ΥΠ, και ιδιαίτερα στις νεότερες ηλικίες, παραμένει αδιάγνωστος.

Η από του στόματος λήψη ΚΣ (δόσεις $\geq 7,5$ mg πρεδνιζολόνης, και για διάρκεια >6 μήνες) συσχετίζεται με την παρουσία ΥΠ. Τα αυξημένα επίπεδα ουρικού οξέος του ορού συσχετίζονται με την παρουσία ΥΠ στους ασθενείς με RA παρά το γεγονός ότι η συνύπαρξη RA και ουρικής αρθρίτιδας είναι εξαιρετικά σπάνια. Τέλος ο προσδιορισμός συγκεκριμένων πολυμορφισμών θα μπορούσε μελλοντικά να χρησιμεύσει ως εργαλείο ελέγχου (screening) ασθενών που προδιατίθενται γενετικά για την εμφάνιση ΥΠ, αλλά και για την εκτίμηση του βαθμού ανταπόκρισης σε συγκεκριμένη θεραπευτική αγωγή.



**UNIVERSITY OF IOANNINA
MEDICAL SCHOOL**

DEPARTMENT OF INTERNAL MEDICINE
2nd DIVISION OF INTERNAL MEDICINE
Director: Professor M. Elisaf

RUSSELLS HALL UNIVERSITY HOSPITAL
DUDLEY, BIRMINGHAM, UNITED KINGDOM
RHEUMATOLOGY CLINIC
Director: Professor G. Kitas

**GENETIC REGULATION OF HYPERTENSION IN
PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS**

VASILEIOS F. PANOULAS, MD

DOCTORAL THESIS

IOANNINA 2009

SUMMARY

Cardiovascular disease (CVD) is the main contributor to the increased morbidity and mortality of rheumatoid arthritis (RA). Intensive research efforts focus on identifying the factors that may lead to excessive CVD burden in RA.

Hypertension is one of the most important modifiable CVD risk factors in the general population and in patients with RA, where it has been shown to associate with subclinical atherosclerosis and to be an independent predictor of CVD. Despite this, until recently, the prevalence, clinical associations, causes and management of hypertension in RA had not been investigated in any depth.

We showed that hypertension affects 70% of British RA patients in secondary care, and through a subsequent systematic review demonstrated that this high prevalence is not just a UK phenomenon. We also showed that a significant proportion (40%) of hypertensive RA patients remain undiagnosed, and thus untreated, while in the majority (80%) of those who are on treatment, blood pressure (BP) remains poorly controlled. This highlighted the need for effective screening and management strategies, specific to this population.

For this reason, we performed further work, aiming to identify risk factors for hypertension specifically in RA. Advancing age, obesity, and long term corticosteroid use were the strongest, clinically identifiable, independent predictors of hypertension in the total RA population. Young age (<45 years) was associated with undiagnosed hypertension, while older age (>65 years), together with obesity and comorbid CVD associated with poor BP control, which was commoner in RA than that reported in the general population. These results are of importance in the clinical arena, as they can inform effective, targeted screening strategies for hypertension and its control in RA patients.

Of particular interest was also that serum uric acid was strongly, independently associated with hypertension and with CVD in RA. This association is well-described in the general population and may be of pathogenic significance particularly at the early stages

of hypertension, but was surprising in RA, in view of the mutual exclusivity of RA and gout. Future studies on the role of uric acid-lowering therapy in hypertension control may be of interest in RA.

There are several factors potentially involved in the pathophysiology of hypertension in RA, including:

- i) systemic inflammation *per se*;
- ii) lifestyle factors, such as sedentarity, leading to obesity which, in turn, is highly prevalent and associates independently with hypertension in RA;
- iii) medications with hypertensive potential, some of which are commonly used in RA, such as non steroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase 2 specific inhibitors, some disease-modifying anti-rheumatic drugs (particularly leflunomide and cyclosporin, and glucocorticosteroids);
- iv) genetic predisposition, which is thought to account for 30 to 50% of essential hypertension.

The interaction between environmental and genetic factors renders the identification of susceptibility loci for hypertension a difficult task, and a major reason for the failure of genome-wide association studies to identify loci that significantly associate with hypertension is the lack of information on such complex environmental factors. In addition, subclinical vascular disease, as expressed by endothelial dysfunction, arterial stiffness or increased carotid intima-media thickness, is evident early on in patients with RA. Therefore, the effect of a polymorphism which correlates weakly with hypertension in the general population may be more evident in RA, given the background of impaired vascular reactivity.

We performed targeted genetic association studies of candidate single nucleotide polymorphisms (SNPs) which may be involved in the regulation of vascular reactivity and inflammation, in a large prospective cohort of RA patients with extensive characterisation for environmental factors including general demographics, anthropometrics and lifestyle habits, comorbidities, as well as RA-related factors, such as activity, severity, rheumatoid factor and anti-CCP positivity, extra-articular disease and therapy.

Part of the deleterious effects of systemic inflammation on the cardiovascular system of RA patients may be exerted via increased BP. The pro-inflammatory interleukin (IL) 6 and the anti-inflammatory transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1) are

important regulators of the inflammatory response and were therefore attractive candidates for us to study, particularly since in some general population studies, IL-6-174G/C (rs1800795) and TGF- β 1 869 T/C (rs1982073) gene polymorphisms had been associated with hypertension. We found no obvious association between IL-6-174G/C SNP and hypertension in RA, despite recent evidence of an association of IL-6-174C-allele carrier status with increased CVD in RA. However, TGF- β 1 869T-allele carriers had 2-fold increased odds for hypertension compared to CC homozygotes, independently of multiple hypertension risk factors specific to the RA population. The blood pressure raising effect of this allele seemed to be enhanced in rheumatoid factor positive patients or those with increased disease activity, suggesting that the background inflammation in RA enhances the genetic influence of SNPs regulating inflammatory pathways, such as TGF- β 1 869T/C. The presence of raised serum IL-6 levels amongst the TGF- β 1 869T-allele carriers compared to CC homozygotes, lends further credence to this hypothesis.

In other studies we concentrated on vascular reactivity and assessed the role of endothelin-1 (ET-1) locus in determining BP in RA patients. ET-1 rs5370 TT homozygotes had a 3-fold higher likelihood of being hypertensive compared with GG homozygotes. Linkage disequilibrium (LD) analysis revealed that this SNP is in strong LD with the rs1800541 SNP which lies in the promoter region of ET-1 gene, suggesting a potential functional role. There was also a significant association of the T-T haplotype with prevalence of hypertension, as well as systolic BP and pulse pressure in RA, which may be explained by increased ET-1 production. The increased ET-1 levels in hypertensive RA patients suggest a predominantly salt-sensitive hypertension phenotype, which should respond well to dietary sodium restriction and/or thiazide diuretic therapy. It also predicts BP dependence on the vasoconstrictor action of endothelins, but we failed to identify an association between hypertension and the GNB3 825 C/T SNP (rs5443) in RA. The latter SNP in the general population may lead to increased BP in the general population via volume expansion, as well as vasoconstriction through enhanced signal transduction of vasoactive factors.

Studies such as these, provide further insight into the potential mechanisms of hypertension in RA, point to specific therapeutic interventions that should be tested in purpose-designed randomised controlled trials in patients with RA, and may prove important for screening both for the risk of developing hypertension and the likelihood to

respond to particular types of therapy in the era of pharmacogenetics. While this work is being undertaken, it is important to establish robust clinical strategies for screening and appropriate management of hypertension in patients with RA, based on existing guidelines and common sense, and we have proposed such an approach, which could be adapted to suit local needs and resources.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Wolfe F, Freundlich B, Straus WL. Increase in cardiovascular and cerebrovascular disease prevalence in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30:36-40.
2. Dessein PH, Joffe BI. When is a patient with rheumatoid arthritis at risk for cardiovascular disease? *J Rheumatol* 2006; 33:201-203.
3. Kitas GD, Erb N. Tackling ischaemic heart disease in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2003; 42:607-613.
4. Panoulas VF, Milionis HJ, Douglas KM et al. Association of serum uric acid with cardiovascular disease in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46:1466-1470.
5. Matthey DL, Thomson W, Ollier WE et al. Association of DRB1 shared epitope genotypes with early mortality in rheumatoid arthritis: results of eighteen years of followup from the early rheumatoid arthritis study. *Arthritis Rheum* 2007; 56:1408-1416.
6. Panoulas VF, Nikas SN, Smith JP et al. Lymphotoxin 252A>G polymorphism is common and associates with myocardial infarction in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2008; 67:1550-1556.
7. Gerli R, Sherer Y, Vaudo G et al. Early atherosclerosis in rheumatoid arthritis: effects of smoking on thickness of the carotid artery intima media. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1051:281-290.
8. McEntegart A, Capell HA, Creran D, Rumley A, Woodward M, Lowe GD. Cardiovascular risk factors, including thrombotic variables, in a population with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40:640-644.
9. Han C, Robinson DW, Jr., Hackett MV, Paramore LC, Fraeman KH, Bala MV. Cardiovascular disease and risk factors in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 2006; 33:2167-2172.

10. Panoulas VF, Douglas KM, Milionis HJ et al. Prevalence and associations of hypertension and its control in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46:1477-1482.
11. Symmons DP. Epidemiology of rheumatoid arthritis: determinants of onset, persistence and outcome. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2002; 16:707-722.
12. Harrison BJ. Influence of cigarette smoking on disease outcome in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2002; 14:93-97.
13. Criswell LA, Merlino LA, Cerhan JR et al. Cigarette smoking and the risk of rheumatoid arthritis among postmenopausal women: results from the Iowa Women's Health Study. *Am J Med* 2002; 112:465-471.
14. Dessein PH, Joffe BI, Stanwix A, Botha AS, Moomal Z. The acute phase response does not fully predict the presence of insulin resistance and dyslipidemia in inflammatory arthritis. *J Rheumatol* 2002; 29:462-466.
15. Sempos CT, Cleeman JI, Carroll MD et al. Prevalence of high blood cholesterol among US adults. An update based on guidelines from the second report of the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel. *JAMA* 1993; 269:3009-3014.
16. Dessein PH, Stanwix AE, Joffe BI. Cardiovascular risk in rheumatoid arthritis versus osteoarthritis: acute phase response related decreased insulin sensitivity and high-density lipoprotein cholesterol as well as clustering of metabolic syndrome features in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res* 2002; 4:R5.
17. Despres JP, Lamarche B, Mauriege P et al. Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease. *N Engl J Med* 1996; 334:952-957.
18. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004; 364:937-952.
19. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet* 2005; 365:217-223.
20. Hajjar I, Kotchen TA. Trends in prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in the United States, 1988-2000. *JAMA* 2003; 290:199-206.

21. Fields LE, Burt VL, Cutler JA, Hughes J, Roccella EJ, Sorlie P. The burden of adult hypertension in the United States 1999 to 2000: a rising tide. *Hypertension* 2004; 44:398-404.
22. Health survey for England 2003
http://www.dh.gov.uk/en/Publicationsandstatistics/Publications/PublicationsStatistics/DH_4098712
23. Roman MJ, Moeller E, Davis A et al. Preclinical carotid atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med* 2006; 144:249-256.
24. Dessein PH, Tobias M, Veller MG. Metabolic syndrome and subclinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2006; 33:2425-2432.
25. Assous N, Touze E, Meune C, Kahan A, Allanore Y. Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis: single-center hospital-based cohort study in France. *Joint Bone Spine* 2007; 74:66-72.
26. Wallberg-Jonsson S, Johansson H, Ohman ML, Rantapaa-Dahlqvist S. Extent of inflammation predicts cardiovascular disease and overall mortality in seropositive rheumatoid arthritis. A retrospective cohort study from disease onset. *J Rheumatol* 1999; 26:2562-2571.
27. Singh G, Miller JD, Huse DM, Pettitt D, D'Agostino RB, Russell MW. Consequences of increased systolic blood pressure in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30:714-719.
28. Gonzalez A, Maradit KH, Crowson CS et al. Do cardiovascular risk factors confer the same risk for cardiovascular outcomes in rheumatoid arthritis patients as in non-rheumatoid arthritis patients? *Ann Rheum Dis* 2008; 67:64-69.
29. Reilly PA, Cosh JA, Maddison PJ, Rasker JJ, Silman AJ. Mortality and survival in rheumatoid arthritis: a 25 year prospective study of 100 patients. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1990; 49:363-369.
30. Wolfe F, Mitchell DM, Sibley J, Fries JF. The mortality of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1994; 37:481-494.
31. Wällberg-Jonsson S, Ohman ML, Rantapaa-Dahlqvist S. Cardiovascular Morbidity and Mortality in Patients with Seropositive RA in Northern Sweden. *J Rheumatol* 1997; 24:445-451.

32. Roman MJ, Devereux RB, Schwartz JE et al. Arterial stiffness in chronic inflammatory diseases. *Hypertension* 2005; 46:194-199.
33. Chung CP, Oeser A, Solus JF et al. Prevalence of the metabolic syndrome is increased in rheumatoid arthritis and is associated with coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2008; 196:756-763.
34. McGowan J: Literature Searching. In: ed. Evidence-based Rheumatology. London, UK: BMJ Publishing Group; 2005:3-18.
35. Tanaka K, Inaba M, Goto H et al. Paraarticular trabecular bone loss at the ultradistal radius and increased arterial stiffening in postmenopausal patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2006; 33:652-658.
36. del Rincon ID, Williams K, Stern MP, Freeman GL, Escalante A. High incidence of cardiovascular events in a rheumatoid arthritis cohort not explained by traditional cardiac risk factors. *Arthritis Rheum* 2001; 44:2737-2745.
37. Nagata-Sakurai M, Inaba M, Goto H et al. Inflammation and bone resorption as independent factors of accelerated arterial wall thickening in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48:3061-3067.
38. Dekkers JC, Geenen R, Evers AW, Kraaimaat FW, Bijlsma JW, Godaert GL. Biopsychosocial mediators and moderators of stress-health relationships in patients with recently diagnosed rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001; 45:307-316.
39. Alkaabi JK, Ho M, Levison R, Pullar T, Belch JJ. Rheumatoid arthritis and macrovascular disease. *Rheumatology* 2003; 42:292-297.
40. Del R, I, Williams K, Stern MP, Freeman GL, O'Leary DH, Escalante A. Association between carotid atherosclerosis and markers of inflammation in rheumatoid arthritis patients and healthy subjects. *Arthritis Rheum* 2003; 48:1833-1840.
41. Del R, I, Haas RW, Pogolian S, Escalante A. Lower limb arterial incompressibility and obstruction in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:425-432.
42. Veldhuijzen van Zanten JJ, Ring C, Carroll D, Kitis GD. Increased C reactive protein in response to acute stress in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:1299-1304.

43. Dessein PH, Joffe BI, Singh S. Biomarkers of endothelial dysfunction, cardiovascular risk factors and atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2005; 7:R634-R643.
44. Maki-Petaja KM, Hall FC, Booth AD et al. Rheumatoid arthritis is associated with increased aortic pulse-wave velocity, which is reduced by anti-tumor necrosis factor-alpha therapy. *Circulation* 2006; 114:1185-1192.
45. Maki-Petaja KM, Booth AD, Hall FC et al. Ezetimibe and simvastatin reduce inflammation, disease activity, and aortic stiffness and improve endothelial function in rheumatoid arthritis. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50:852-858.
46. Pedersen LM, Nordin H, Svensson B, Bliddal H. Microalbuminuria in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1995; 54:189-192.
47. Hakoda M, Oiwa H, Kasagi F et al. Mortality of rheumatoid arthritis in Japan: a longitudinal cohort study. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:1451-1455.
48. Warrington KJ, Kent PD, Frye RL et al. Rheumatoid arthritis is an independent risk factor for multi-vessel coronary artery disease: a case control study. *Arthritis Res Ther* 2005; 7:R984-R991.
49. Gordon MM, Thomson EA, Madhok R, Capell HA. Can intervention modify adverse lifestyle variables in a rheumatoid population? Results of a pilot study. *Ann Rheum Dis* 2002; 61:66-69.
50. Hyrich K, Symmons D, Watson K, Silman A. Baseline comorbidity levels in biologic and standard DMARD treated patients with rheumatoid arthritis: results from a national patient register. *Ann Rheum Dis* 2006; 65:895-898.
51. Williams B, Poulter NR, Brown MJ et al. Guidelines for management of hypertension: report of the fourth working party of the British Hypertension Society, 2004-BHS IV. *J Hum Hypertens* 2004; 18:139-185.
52. Del R, I, Freeman GL, Haas RW, O'Leary DH, Escalante A. Relative contribution of cardiovascular risk factors and rheumatoid arthritis clinical manifestations to atherosclerosis. *Arthritis Rheum* 2005; 52:3413-3423.
53. Dessein PH, Joffe BI, Stanwix AE, Christian BF, Veller M. Glucocorticoids and insulin sensitivity in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2004; 31:867-874.

54. Singh G, Miller JD, Huse DM, Pettitt D, D'Agostino RB, Russell MW. Consequences of increased systolic blood pressure in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30:714-719.
55. Solomon DH, Curhan GC, Rimm EB, Cannuscio CC, Karlson EW. Cardiovascular risk factors in women with and without rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50:3444-3449.
56. International Classification of Diseases, Ninth Revision, Clinical Modification-9 (ICD-9-CM), hypertensive disease
<http://icd9cm.chrisendres.com/index.php?action=child&recordid=4066>
57. Hartley RM, Velez R, Morris RW, D'Souza MF, Heller RF. Confirming the diagnosis of mild hypertension. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1983; 286:287-289.
58. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A et al. 2007 ESH-ESC Practice Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: ESH-ESC Task Force on the Management of Arterial Hypertension. *J Hypertens* 2007; 25:1751-1762.
59. Whitworth JA. 2003 World Health Organization (WHO)/International Society of Hypertension (ISH) statement on management of hypertension. *J Hypertens* 2003; 21:1983-1992.
60. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR et al. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003; 42:1206-1252.
61. Vasan RS, Beiser A, Seshadri S et al. Residual lifetime risk for developing hypertension in middle-aged women and men: The Framingham Heart Study. *JAMA* 2002; 287:1003-1010.
62. Vasan RS, Larson MG, Leip EP, Kannel WB, Levy D. Assessment of frequency of progression to hypertension in non-hypertensive participants in the Framingham Heart Study: a cohort study. *Lancet* 2001; 358:1682-1686.
63. Mancia G, Grassi G: European, American and British Guidelines: similarities and differences. In: Black HR, Elliot WJ., ed. *Hypertension. A companion to Braunwald's Heart diseases*. Amsterdam: Saunders-Elsevier; 2007:571-575.
64. Oliveria SA, Lapuerta P, McCarthy BD, L'Italien GJ, Berlowitz DR, Asch SM. Physician-related barriers to the effective management of uncontrolled hypertension. *Arch Intern Med* 2002; 162:413-420.

65. Primatesta P, Poulter NR. Improvement in hypertension management in England: results from the Health Survey for England 2003. *J Hypertens* 2006; 24:1187-1192.
66. Luepker RV, Arnett DK, Jacobs DR, Jr. et al. Trends in blood pressure, hypertension control, and stroke mortality: the Minnesota Heart Survey. *Am J Med* 2006; 119:42-49.
67. Wang TJ, Vasan RS. Epidemiology of uncontrolled hypertension in the United States. *Circulation* 2005; 112:1651-1662.
68. MacMahon S, Peto R, Cutler J et al. Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 1, Prolonged differences in blood pressure: prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. *Lancet* 1990; 335:765-774.
69. Prospective Studies Collaboration. Age specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* 2006; 360:1903-1913.
70. Neal B, MacMahon S, Chapman N. Effects of ACE inhibitors, calcium antagonists, and other blood-pressure-lowering drugs: results of prospectively designed overviews of randomised trials. Blood Pressure Lowering Treatment Trialists' Collaboration. *Lancet* 2000; 356:1955-1964.
71. Ford ES, Giles WH. Serum C-reactive protein and fibrinogen concentrations and self-reported angina pectoris and myocardial infarction: findings from National Health and Nutrition Examination Survey III. *J Clin Epidemiol* 2000; 53:95-102.
72. Rohde LE, Hennekens CH, Ridker PM. Survey of C-reactive protein and cardiovascular risk factors in apparently healthy men. *Am J Cardiol* 1999; 84:1018-1022.
73. Bermudez EA, Rifai N, Buring J, Manson JE, Ridker PM. Interrelationships among circulating interleukin-6, C-reactive protein, and traditional cardiovascular risk factors in women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22:1668-1673.
74. Chae CU, Lee RT, Rifai N, Ridker PM. Blood pressure and inflammation in apparently healthy men. *Hypertension* 2001; 38:399-403.
75. Bautista LE, Vera LM, Arenas IA, Gamarra G. Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF-alpha) and essential hypertension. *J Hum Hypertens* 2005; 19:149-154.

76. Bautista LE, Lopez-Jaramillo P, Vera LM, Casas JP, Otero AP, Guaracao AI. Is C-reactive protein an independent risk factor for essential hypertension? *J Hypertens* 2001; 19:857-861.
77. Sesso HD, Buring JE, Rifai N, Blake GJ, Gaziano JM, Ridker PM. C-reactive protein and the risk of developing hypertension. *JAMA* 2003; 290:2945-2951.
78. Duprez DA, Somasundaram PE, Sigurdsson G, Hoke L, Florea N, Cohn JN. Relationship between C-reactive protein and arterial stiffness in an asymptomatic population. *J Hum Hypertens* 2005; 19:515-519.
79. Wong M, Toh L, Wilson A et al. Reduced arterial elasticity in rheumatoid arthritis and the relationship to vascular disease risk factors and inflammation. *Arthritis Rheum* 2003; 48:81-89.
80. Klocke R, Cockcroft JR, Taylor GJ, Hall IR, Blake DR. Arterial stiffness and central blood pressure, as determined by pulse wave analysis, in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:414-418.
81. Arosio E, De Marchi S, Rigoni A, Prior M, Delva P, Lechi A. Forearm haemodynamics, arterial stiffness and microcirculatory reactivity in rheumatoid arthritis. *J Hypertens* 2007; 25:1273-1278.
82. Franklin SS. Arterial stiffness and hypertension: a two-way street? *Hypertension* 2005; 45:349-351.
83. Verma S, Li SH, Badiwala MV et al. Endothelin antagonism and interleukin-6 inhibition attenuate the proatherogenic effects of C-reactive protein. *Circulation* 2002; 105:1890-1896.
84. Devaraj S, Xu DY, Jialal I. C-reactive protein increases plasminogen activator inhibitor-1 expression and activity in human aortic endothelial cells: implications for the metabolic syndrome and atherothrombosis. *Circulation* 2003; 107:398-404.
85. Verma S, Anderson TJ. The ten most commonly asked questions about endothelial function in cardiology. *Cardiol Rev* 2001; 9:250-252.
86. Srikumar N, Brown NJ, Hopkins PN et al. PAI-1 in human hypertension: relation to hypertensive groups. *Am J Hypertens* 2002; 15:683-690.
87. Poli KA, Tofler GH, Larson MG et al. Association of blood pressure with fibrinolytic potential in the Framingham offspring population. *Circulation* 2000; 101:264-269.

88. Dawson S, Henney A. The status of PAI-1 as a risk factor for arterial and thrombotic disease: a review. *Atherosclerosis* 1992; 95:105-117.
89. Wang CH, Li SH, Weisel RD et al. C-reactive protein upregulates angiotensin type 1 receptors in vascular smooth muscle. *Circulation* 2003; 107:1783-1790.
90. Dai G, Kaazempur-Mofrad MR, Natarajan S et al. Distinct endothelial phenotypes evoked by arterial waveforms derived from atherosclerosis-susceptible and -resistant regions of human vasculature. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101:14871-14876.
91. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 352:1685-1695.
92. Panoulas VF, Douglas KM, Stavropoulos-Kalinoglou A et al. Long-term exposure to medium-dose glucocorticoid therapy associates with hypertension in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47:72-75.
93. Paffenbarger RS, Jr., Lee IM. Intensity of physical activity related to incidence of hypertension and all-cause mortality: an epidemiological view. *Blood Press Monit* 1997; 2:115-123.
94. Lee DM, Weinblatt ME. Rheumatoid arthritis. *Lancet* 2001; 358:903-911.
95. Munneke M, de Jong Z, Zwinderman AH et al. High intensity exercise or conventional exercise for patients with rheumatoid arthritis? Outcome expectations of patients, rheumatologists, and physiotherapists. *Ann Rheum Dis* 2004; 63:804-808.
96. Fox KR, Hillsdon M. Physical activity and obesity. *Obes Rev* 2007; 8 Suppl 1:115-121.
97. Stavropoulos-Kalinoglou A, Metsios GS, Koutedakis Y et al. Redefining overweight and obesity in rheumatoid arthritis patients. *Ann Rheum Dis* 2007; 66:1316-1321.
98. Hayashi T, Tsumura K, Suematsu C, Okada K, Fujii S, Endo G. Walking to work and the risk for hypertension in men: the Osaka Health Survey. *Ann Intern Med* 1999; 131:21-26.
99. John H, Hale ED, Treharne GJ, Kitas GD. Patient education on cardiovascular aspects of rheumatoid disease: an unmet need. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46:1513-1516.

100. Metsios GS, Stavropoulos-Kalinoglou A, Veldhuijzen van Zanten JJ et al. Rheumatoid arthritis, cardiovascular disease and physical exercise: a systematic review. *Rheumatology (Oxford)* 2007.
101. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis: 2002 Update. *Arthritis Rheum* 2002; 46:328-346.
102. Hakkinen A, Hakkinen K, Hannonen P. Effects of strength training on neuromuscular function and disease activity in patients with recent-onset inflammatory arthritis. *Scand J Rheumatol* 1994; 23:237-242.
103. van den Ende CH, Breedveld FC, Le Cessie S, Dijkmans BA, de Mug AW, Hazes JM. Effect of intensive exercise on patients with active rheumatoid arthritis: a randomised clinical trial. *Ann Rheum Dis* 2000; 59:615-621.
104. Treharne GJ, Douglas KM, Iwaszko J et al. Polypharmacy among people with rheumatoid arthritis: the role of age, disease duration and comorbidity. *Musculoskeletal Care* 2007; 5:175-190.
105. Pope JE. Hypertension, NSAID, and lessons learned. *J Rheumatol* 2004; 31:1035-1037.
106. White WB. Cardiovascular risk, hypertension, and NSAIDs. *Curr Rheumatol Rep* 2007; 9:36-43.
107. Bresalier RS, Sandler RS, Quan H et al. Cardiovascular events associated with rofecoxib in a colorectal adenoma chemoprevention trial. *N Engl J Med* 2005; 352:1092-1102.
108. Psaty BM, Weiss NS. NSAID trials and the choice of comparators--questions of public health importance. *N Engl J Med* 2007; 356:328-330.
109. Fitzgerald GA. Coxibs and cardiovascular disease. *N Engl J Med* 2004; 351:1709-1711.
110. Morrison A, Ramey DR, van Adelsberg J, Watson DJ. Systematic review of trials of the effect of continued use of oral non-selective NSAIDs on blood pressure and hypertension. *Curr Med Res Opin* 2007; 23:2395-2404.
111. Johnson AG, Nguyen TV, Day RO. Do nonsteroidal anti-inflammatory drugs affect blood pressure? A meta-analysis. *Ann Intern Med* 1994; 121:289-300.

112. Collins R, Peto R, MacMahon S et al. Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 2, Short-term reductions in blood pressure: overview of randomised drug trials in their epidemiological context. *Lancet* 1990; 335:827-838.
113. Klassen D, Goodfriend TL, Schuna AA, Young DY, Peterson CA. Assessment of blood pressure during treatment with naproxen or ibuprofen in hypertensive patients treated with hydrochlorothiazide. *J Clin Pharmacol* 1993; 33:971-978.
114. Wong DG, Spence JD, Lamki L, Freeman D, McDonald JW. Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on control of hypertension by beta-blockers and diuretics. *Lancet* 1986; 1:997-1001.
115. Fogari R, Zoppi A, Carretta R, Veglio F, Salvetti A. Effect of indomethacin on the antihypertensive efficacy of valsartan and lisinopril: a multicentre study. *J Hypertens* 2002; 20:1007-1014.
116. Salvetti A., Pedrinelli R, Magagna A, Ugenti P. Differential effects of selective and nonselective prostaglandin synthesis inhibition on the pharmacological responses to captopril in patients with essential hypertension. *Clin Sci* 1982; 63:261-263.
117. Rubin P, Jackson G, Blaschke T. Studies on the clinical pharmacology of prazosin. The influences of indomethacin and of propranolol on the action and disposition of prazosin. *Br J Clinical Pharmacol* 1980; 10:33-39.
118. Klassen DK, Jane LH, Young DY, Peterson CA. Assessment of blood pressure during naproxen therapy in hypertensive patients treated with nifedipine. *Am J Hypertens* 1995; 8:146-153.
119. Morgan T, Anderson A. Interaction of indomethacin with felodipine and enalapril. *J Hypertens Suppl* 1993; 11:S338-S339.
120. NICE guidelines regarding the use of COX-2 in RA
<http://www.nice.org.uk/guidance/index.jsp?action=byID&o=11687>
121. Aw TJ, Haas SJ, Liew D, Krum H. Meta-analysis of cyclooxygenase-2 inhibitors and their effects on blood pressure. *Arch Intern Med* 2005; 165:490-496.
122. Franklin SS, Khan SA, Wong ND, Larson MG, Levy D. Is pulse pressure useful in predicting risk for coronary heart Disease? The Framingham heart study. *Circulation* 1999; 100:354-360.

123. Whelton A, White WB, Bello AE, Puma JA, Fort JG. Effects of celecoxib and rofecoxib on blood pressure and edema in patients \geq 65 years of age with systemic hypertension and osteoarthritis. *Am J Cardiol* 2002; 90:959-963.
124. Wolfe F, Zhao S, Pettitt D. Blood pressure destabilization and edema among 8538 users of celecoxib, rofecoxib, and nonselective nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAID) and nonusers of NSAID receiving ordinary clinical care. *J Rheumatol* 2004; 31:1143-1151.
125. Whelton A, Fort JG, Puma JA, Normandin D, Bello AE, Verburg KM. Cyclooxygenase-2--specific inhibitors and cardiorenal function: a randomized, controlled trial of celecoxib and rofecoxib in older hypertensive osteoarthritis patients. *Am J Ther* 2001; 8:85-95.
126. Zhang J, Ding EL, Song Y. Adverse effects of cyclooxygenase 2 inhibitors on renal and arrhythmia events: meta-analysis of randomized trials. *JAMA* 2006; 296:1619-1632.
127. Sowers JR, White WB, Pitt B et al. The Effects of cyclooxygenase-2 inhibitors and nonsteroidal anti-inflammatory therapy on 24-hour blood pressure in patients with hypertension, osteoarthritis, and type 2 diabetes mellitus. *Arch Intern Med* 2005; 165:161-168.
128. Whelton A. Renal and related cardiovascular effects of conventional and COX-2-specific NSAIDs and non-NSAID analgesics. *Am J Ther* 2000; 7:63-74.
129. Antman EM, Bennett JS, Daugherty A, Furberg C, Roberts H, Taubert KA. Use of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update for clinicians: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2007; 115:1634-1642.
130. Scott DL, Smolen JS, Kalden JR et al. Treatment of active rheumatoid arthritis with leflunomide: two year follow up of a double blind, placebo controlled trial versus sulfasalazine. *Ann Rheum Dis* 2001; 60:913-923.
131. Strand V, Cohen S, Schiff M et al. Treatment of active rheumatoid arthritis with leflunomide compared with placebo and methotrexate. Leflunomide Rheumatoid Arthritis Investigators Group. *Arch Intern Med* 1999; 159:2542-2550.
132. Cohen S, Cannon GW, Schiff M et al. Two-year, blinded, randomized, controlled trial of treatment of active rheumatoid arthritis with leflunomide compared with

- methotrexate. Utilization of Leflunomide in the Treatment of Rheumatoid Arthritis Trial Investigator Group. *Arthritis Rheum* 2001; 44:1984-1992.
133. Rozman B, Praprotnik S, Logar D et al. Leflunomide and hypertension. *Ann Rheum Dis* 2002; 61:567-569.
 134. Li EK, Tam LS, Tomlinson B. Leflunomide in the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin Ther* 2004; 26:447-459.
 135. Fox RI, Herrmann ML, Frangou CG et al. Mechanism of action for leflunomide in rheumatoid arthritis. *Clin Immunol* 1999; 93:198-208.
 136. BSR Guidelines for Monitoring Second Line Drugs
http://www.rheumatology.org.uk/guidelines/guidelines_other/dmardmonitoring/view
 137. Weinblatt ME, Coblyn JS, Fraser PA et al. Cyclosporin A treatment of refractory rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1987; 30:11-17.
 138. Dougados M, Amor B. Cyclosporin A in rheumatoid arthritis: preliminary clinical results of an open trial. *Arthritis Rheum* 1987; 30:83-87.
 139. Kurki PT. Safety aspects of the long term cyclosporin A therapy. *Scand J Rheumatol Suppl* 1992; 95:35-38.
 140. Landewe RB, Goei The HS, van Rijthoven AW, Rietveld JR, Breedveld FC, Dijkmans BA. Cyclosporine in common clinical practice: an estimation of the benefit/risk ratio in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1994; 21:1631-1636.
 141. Marra CA, Esdaile JM, Guh D, Fisher JH, Chalmers A, Anis AH. The effectiveness and toxicity of cyclosporin A in rheumatoid arthritis: longitudinal analysis of a population-based registry. *Arthritis Rheum* 2001; 45:240-245.
 142. Kvien TK, Zeidler HK, Hannonen P et al. Long term efficacy and safety of cyclosporin versus parenteral gold in early rheumatoid arthritis: a three year study of radiographic progression, renal function, and arterial hypertension. *Ann Rheum Dis* 2002; 61:511-516.
 143. Textor SC, Canzanello VJ, Taler SJ et al. Cyclosporine-induced hypertension after transplantation. *Mayo Clin Proc* 1994; 69:1182-1193.
 144. Taler SJ, Textor SC, Canzanello VJ, Schwartz L. Cyclosporin-induced hypertension: incidence, pathogenesis and management. *Drug Saf* 1999; 20:437-449.

145. Dijkmans B, Gerards A. Cyclosporin in rheumatoid arthritis: monitoring for adverse effects and clinically significant drug interactions. *BioDrugs* 1998; 10:437-445.
146. Schrama YC, Koomans HA. Interactions of cyclosporin A and amlodipine: blood cyclosporin A levels, hypertension and kidney function. *J Hypertens Suppl* 1998; 16:S33-S38.
147. Dixon WG, Symmons DP. What effects might anti-TNFalpha treatment be expected to have on cardiovascular morbidity and mortality in rheumatoid arthritis? A review of the role of TNFalpha in cardiovascular pathophysiology. *Ann Rheum Dis* 2007; 66:1132-1136.
148. Jacobsson LTH, Turesson C, Gulfe A et al. Treatment with Tumor Necrosis Factor Blockers Is Associated with a Lower Incidence of First Cardiovascular Events in Patients with Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol* 2005; 32:1213-1218.
149. Ferraccioli GF, Gremese E. Autoantibodies and thrombophilia in RA: TNFalpha and TNFalpha blockers. *Ann Rheum Dis* 2004; 63:613-615.
150. Munro R, Morrison E, McDonald AG, Hunter JA, Madhok R, Capell HA. Effect of disease modifying agents on the lipid profiles of patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1997; 56:374-377.
151. Mottonen TT, Hannonen PJ, Boers M. Combination DMARD therapy including corticosteroids in early rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1999; 17:S59-S65.
152. Petri M, Lakatta C, Magder L, Goldman D. Effect of prednisone and hydroxychloroquine on coronary artery disease risk factors in systemic lupus erythematosus: a longitudinal data analysis. *Am J Med* 1994; 96:254-259.
153. Halperin RO, Sesso HD, Ma J, Buring JE, Stampfer MJ, Gaziano JM. Dyslipidemia and the risk of incident hypertension in men. *Hypertension* 2006; 47:45-50.
154. Wei L, MacDonald TM, Walker BR. Taking glucocorticoids by prescription is associated with subsequent cardiovascular disease. *Ann Intern Med* 2004; 141:764-770.
155. Souverein PC, Berard A, Van Staa TP et al. Use of oral glucocorticoids and risk of cardiovascular and cerebrovascular disease in a population based case-control study. *Heart* 2004; 90:859-865.

156. Saruta T, Suzuki H, Handa M, Igarashi Y, Kondo K, Senba S. Multiple factors contribute to the pathogenesis of hypertension in Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62:275-279.
157. Whitworth JA. Adrenocorticotrophin and steroid-induced hypertension in humans. *Kidney Int Suppl* 1992; 37:S34-S37.
158. Filipovsky J, Ducimetiere P, Eschwege E, Richard JL, Rosselin G, Claude JR. The relationship of blood pressure with glucose, insulin, heart rate, free fatty acids and plasma cortisol levels according to degree of obesity in middle-aged men. *J Hypertens* 1996; 14:229-235.
159. Litchfield WR, Hunt SC, Jeunemaitre X et al. Increased urinary free cortisol: a potential intermediate phenotype of essential hypertension. *Hypertension* 1998; 31:569-574.
160. Nystrom F, Aardal E, Ohman KP. A population-based study of the white-coat blood pressure effect: positive correlation with plasma cortisol. *Clin Exp Hypertens* 1998; 20:95-104.
161. Townsend HB, Saag KG. Glucocorticoid use in rheumatoid arthritis: benefits, mechanisms, and risks. *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22:S77-S82.
162. Maxwell SR, Moots RJ, Kendall MJ. Corticosteroids: do they damage the cardiovascular system? *Postgrad Med J* 1994; 70:863-870.
163. Da Silva JA, Jacobs JW, Kirwan JR et al. Safety of low dose glucocorticoid treatment in rheumatoid arthritis: published evidence and prospective trial data. *Ann Rheum Dis* 2006; 65:285-293.
164. Whitworth JA. Mechanisms of glucocorticoid-induced hypertension. *Kidney Int* 1987; 31:1213-1224.
165. Savage O, Copeman WS, Chapman L, Wells MV, Treadwell BL. Pituitary and adrenal hormones in rheumatoid arthritis. *Lancet* 1962; 1:232-235.
166. Treadwell BL, Sever ED, Savage O, Copeman WS. Side-effects of long-term treatment with corticosteroids and corticotrophin. *Lancet* 1964; 1:1121-1123.
167. Thomas TP. The complications of systemic corticosteroid therapy in the elderly. A retrospective study. *Gerontology* 1984; 30:60-65.

168. Hoes JN, Jacobs JW, Boers M et al. EULAR evidence-based recommendations on the management of systemic glucocorticoid therapy in rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2007; 66:1560-1567.
169. Iversson L.L., Salt P.J.. Inhibition of catecholamine uptake 2 by steroids in the isolated rat heart. *Br J Pharmacology* 2006; 40:528-530.
170. Kalsner S. Steroid potentiation of responses to sympathomimetic amines in aortic strips. *Br J Pharmacol* 1969; 36:582-593.
171. Haigh RM, Jones CT. Effect of glucocorticoids on alpha 1-adrenergic receptor binding in rat vascular smooth muscle. *J Mol Endocrinol* 1990; 5:41-48.
172. Aubert J, Darimont C, Safonova I, Ailhaud G, Negrel R. Regulation by glucocorticoids of angiotensinogen gene expression and secretion in adipose cells. *Biochem J* 1997; 328 (Pt 2):701-706.
173. Rhen T, Cidlowski JA. Antiinflammatory action of glucocorticoids--new mechanisms for old drugs. *N Engl J Med* 2005; 353:1711-1723.
174. Da Silva JA, Jacobs JW, Kirwan JR et al. Safety of low dose glucocorticoid treatment in rheumatoid arthritis: published evidence and prospective trial data. *Ann Rheum Dis* 2006; 65:285-293.
175. . Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007; 447:661-678.
176. Appel LJ, Brands MW, Daniels SR, Karanja N, Elmer PJ, Sacks FM. Dietary approaches to prevent and treat hypertension: a scientific statement from the American Heart Association. *Hypertension* 2006; 47:296-308.
177. Dickinson HO, Mason JM, Nicolson DJ et al. Lifestyle interventions to reduce raised blood pressure: a systematic review of randomized controlled trials. *J Hypertens* 2006; 24:215-233.
178. Rosenberg L, Kaufman DW, Helmrich SP, Shapiro S. The risk of myocardial infarction after quitting smoking in men under 55 years of age. *N Engl J Med* 1985; 313:1511-1514.
179. Sacks FM, Appel LJ, Moore TJ et al. A dietary approach to prevent hypertension: a review of the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) Study. *Clin Cardiol* 1999; 22:III6-10.

180. Geleijnse JM, Giltay EJ, Grobbee DE, Donders AR, Kok FJ. Blood pressure response to fish oil supplementation: metaregression analysis of randomized trials. *J Hypertens* 2002; 20:1493-1499.
181. Beyer FR, Dickinson HO, Nicolson DJ, Ford GA, Mason J. Combined calcium, magnesium and potassium supplementation for the management of primary hypertension in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; 3:CD004805.
182. Dickinson HO, Nicolson DJ, Cook JV et al. Calcium supplementation for the management of primary hypertension in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;CD004639.
183. Metsios GS, Stavropoulos-Kalinoglou A, Veldhuijzen van Zanten JJ et al. Rheumatoid arthritis, cardiovascular disease and physical exercise: a systematic review. *Rheumatology (Oxford)* 2007.
184. Dekkers JC, Geenen R, Godaert GL, Bijlsma JW, van Doornen LJ. Elevated sympathetic nervous system activity in patients with recently diagnosed rheumatoid arthritis with active disease. *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22:63-70.
185. Evrengul H, Dursunoglu D, Cobankara V et al. Heart rate variability in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2004; 24:198-202.
186. Kaul CL, Ramarao P. Renin release and the sympathetic nervous system. *Drugs Today (Barc)* 2000; 36:699-713.
187. van den Meiracker AH, Boomsma F. The angiotensin II-sympathetic nervous system connection. *J Hypertens* 2003; 21:1453-1454.
188. Dandona P, Dhindsa S, Ghanim H, Chaudhuri A. Angiotensin II and inflammation: the effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockade. *J Hum Hypertens* 2007; 21:20-27.
189. Gulick T, Chung MK, Pieper SJ, Lange LG, Schreiner GF. Interleukin 1 and tumor necrosis factor inhibit cardiac myocyte beta-adrenergic responsiveness. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86:6753-6757.
190. Liu SJ, Zhou W, Kennedy RH. Suppression of beta-adrenergic responsiveness of L-type Ca²⁺ current by IL-1beta in rat ventricular myocytes. *Am J Physiol* 1999; 276:H141-H148.

191. Daneshtalab N, Lewanczuk RZ, Russell A, Jamali F. Rheumatoid arthritis does not reduce the pharmacodynamic response to valsartan. *J Clin Pharmacol* 2004; 44:245-252.
192. Daneshtalab N, Lewanczuk RZ, Russell AS, Jamali F. Drug-disease interactions: losartan effect is not downregulated by rheumatoid arthritis. *J Clin Pharmacol* 2006; 46:1344-1355.
193. Dessein PH, Joffe BI. Insulin resistance and impaired beta cell function in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006; 54:2765-2775.
194. Dessein PH, Joffe BI, Stanwix AE, Christian BF, Veller M. Glucocorticoids and insulin sensitivity in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2004; 31:867-874.
195. Lindholm LH, Ibsen H, Borch-Johnsen K et al. Risk of new-onset diabetes in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study. *J Hypertens* 2002; 20:1879-1886.
196. Mancia G, Grassi G, Zanchetti A. New-onset diabetes and antihypertensive drugs. *J Hypertens* 2006; 24:3-10.
197. La Civita L, Pitaro N, Rossi M et al. Amlodipine in the treatment of Raynaud's phenomenon. *Br J Rheumatol* 1993; 32:524-525.
198. Warren JB, Loi RK. Captopril increases skin microvascular blood flow secondary to bradykinin, nitric oxide, and prostaglandins. *FASEB J* 1995; 9:411-418.
199. Dziadzio M, Denton CP, Smith R et al. Losartan therapy for Raynaud's phenomenon and scleroderma: clinical and biochemical findings in a fifteen-week, randomized, parallel-group, controlled trial. *Arthritis Rheum* 1999; 42:2646-2655.
200. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31:315-324.
201. Physical status.: The use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1995; 854:1-452.
202. Lean ME, Han TS, Morrison CE. Waist circumference as a measure for indicating need for weight management. *BMJ* 1995; 311:158-161.
203. Buttgereit F, da Silva JA, Boers M et al. Standardised nomenclature for glucocorticoid dosages and glucocorticoid treatment regimens: current questions and tentative answers in rheumatology. *Ann Rheum Dis* 2002; 61:718-722.

204. Kirwan JR, Reeback JS. Stanford Health Assessment Questionnaire modified to assess disability in British patients with rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 1986; 25:206-209.
205. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28:412-419.
206. Katz A, Nambi SS, Mather K et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:2402-2410.
207. Heyden S, Bartel AG, Tabesh E et al. Angina pectoris and the Rose questionnaire. *Arch Intern Med* 1971; 128:961-964.
208. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999; 130:461-470.
209. Automated nucleic acid extraction-QuickGene-810
<http://www.autogen.com/Products/QuickGene810.htm>
210. Gauderman WJ, Murcray C, Gilliland F, Conti DV. Testing association between disease and multiple SNPs in a candidate gene. *Genet Epidemiol* 2007; 31:383-395.
211. Stephens M, Donnelly P. A comparison of bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data. *Am J Hum Genet* 2003; 73:1162-1169.
212. Devlin B, Risch N. A comparison of linkage disequilibrium measures for fine-scale mapping. *Genomics* 1995; 29:311-322.
213. Genetic models
<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/model/model.html>[<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/model/model.html>]

214. Humphries SE, Luong LA, Ogg MS, Hawe E, Miller GJ. The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men. *Eur Heart J* 2001; 22:2243-2252.
215. Fishman D, Faulds G, Jeffery R et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 1998; 102:1369-1376.
216. Epidemiology and Public Health at the Royal Free and University College Medical School. Commissioned by Department of Health. Health survey for England 2003. Department of Health 2004.
217. Myers MG. Ambulatory blood pressure monitoring for routine clinical practice. *Hypertension* 2005; 45:483-484.
218. Beevers D.Gareth, Lip Y Gregory, O'Brien Eoin: *ABC of hypertension (fifth edition)*. 2007.
219. Baskar V, Kamalakannan D, Holland MR, Singh BM. Hypertension in diabetes: is there a place for age-adjusted centile cut-offs in those aged <50 years? *QJM* 2004; 97:747-753.
220. Luqmani R, Hennell S, Estrach C et al. British Society for Rheumatology and British Health Professionals in Rheumatology Guideline for the Management of Rheumatoid Arthritis (The first 2 years). *Rheumatology (Oxford)* 2006.
221. Treharne GJ, Lyons AC, Hale ED, Douglas KMJ, Kitas GD. Predictors of medication adherence in people with rheumatoid arthritis: studies are necessary but non-validated measures of medication adherence are of concern. *Rheumatology* 2005; 44:1330.
222. Douglas KM, Iwaszko J, Treharne GJ, Sandhu R, Erb N, Kitas GD: Polypharmacy in patients with rheumatoid arthritis. *Musculoskeletal care*, in press.
223. Campbell SM, Roland MO, Middleton E, Reeves D. Improvements in quality of clinical care in English general practice 1998-2003: longitudinal observational study. *BMJ* 2005; 331:1121.
224. Booth GL, Kapral MK, Fung K, Tu JV. Recent trends in cardiovascular complications among men and women with and without diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29:32-37.

225. Kitas GD, Erb N. Tackling ischaemic heart disease in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2003; 42:607-613.
226. ARMA Standards of Care: patients' experiences
Internet[www.rheumatoid.org.uk/download.php?asset_id=90]
227. Niskanen L, Laaksonen DE, Nyyssonen K et al. Inflammation, abdominal obesity, and smoking as predictors of hypertension. *Hypertension* 2004; 44:859-865.
228. Puddey IB, Vandongen R, Beilin LJ, English DR, Ukich AW. The effect of stopping smoking on blood pressure--a controlled trial. *J Chronic Dis* 1985; 38:483-493.
229. Stavropoulos-Kalinoglou A, Metsios GS, Koutedakis Y et al. Redefining overweight and obesity in rheumatoid arthritis patients. *Ann Rheum Dis* 2007; 66:1316-1321.
230. Stevens RJ, Douglas KMJ, Saratzis AN, Kitas GD. Inflammation and atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Exp Rev Mol Med* 2005; 7:DOI: 10.1017/S1462399405009154.
231. Mikuls TR, Saag KG. Comorbidity in rheumatoid arthritis. *Rheumatic Disease Clinics of North America* 2001; 27:283-303.
232. Johnson RJ, Kang DH, Feig D et al. Is there a pathogenetic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease? *Hypertension* 2003; 41:1183-1190.
233. Cannon PJ, Stason WB, Demartini FE, Sommers SC, Laragh JH. Hyperuricemia in primary and renal hypertension. *N Engl J Med* 1966; 275:457-464.
234. Niskanen LK, Laaksonen DE, Nyyssonen K et al. Uric acid level as a risk factor for cardiovascular and all-cause mortality in middle-aged men: a prospective cohort study. *Arch Intern Med* 2004; 164:1546-1551.
235. Agudelo CA, Turner RA, Panetti M, Pisko E. Does hyperuricemia protect from rheumatoid inflammation? A clinical study. *Arthritis Rheum* 1984; 27:443-448.
236. Alper AB, Jr., Chen W, Yau L, Srinivasan SR, Berenson GS, Hamm LL. Childhood uric acid predicts adult blood pressure: the Bogalusa Heart Study. *Hypertension* 2005; 45:34-38.
237. Sundstrom J, Sullivan L, D'Agostino RB, Levy D, Kannel WB, Vasan RS. Relations of serum uric acid to longitudinal blood pressure tracking and hypertension incidence. *Hypertension* 2005; 45:28-33.

238. Coutinho T.de A., Turner S.T., Kullo I.J. Serum Uric Acid is associated with microvascular function in hypertensive individuals. *Journal of Human Hypertension* 2007.
239. Reynolds T. Serum uric acid, the endothelium and hypertension: An association revisited. *Journal of Human Hypertension* 2007.
240. Wallace SL. Gout and hypertension. *Arthritis Rheum* 1975; 18:721-724.
241. Turner RA, Pisko EJ, Agudelo CA, Counts GB, Foster SL, Treadway WJ. Uric acid effects on in vitro models of rheumatoid inflammatory and autoimmune processes. *Ann Rheum Dis* 1983; 42:338-342.
242. Turner RA, Schumacher R, Myers AR. Phagocytic function of polymorphonuclear leukocytes in rheumatic diseases. *J Clin Invest* 1973; 52:1632-1635.
243. Turner RA, Counts GB, Treadway WJ, Holt DA, Agudelo CA. Rheumatoid factor and monosodium urate crystal-neutrophil interactions in gouty inflammation. *Inflammation* 1981; 5:353-361.
244. Hjelmstrom P, Fjell J, Nakagawa T, Sacca R, Cuff CA, Ruddle NH. Lymphoid tissue homing chemokines are expressed in chronic inflammation. *Am J Pathol* 2000; 156:1133-1138.
245. Caspi D, Lubart E, Graff E, Habet B, Yaron M, Segal R. The effect of mini-dose aspirin on renal function and uric acid handling in elderly patients. *Arthritis Rheum* 2000; 43:103-108.
246. YU TF, GUTMAN AB. Study of the paradoxical effects of salicylate in low, intermediate and high dosage on the renal mechanisms for excretion of urate in man. *J Clin Invest* 1959; 38:1298-1315.
247. Duffy WB, Senekjian HO, Knight TF, Weinman EJ. Management of asymptomatic hyperuricemia. *JAMA* 1981; 246:2215-2216.
248. Feig DI, Rodriguez-Iturbe B, Nakagawa T, Johnson RJ. Nephron number, uric acid, and renal microvascular disease in the pathogenesis of essential hypertension. *Hypertension* 2006; 48:25-26.
249. Bijlsma JW, Van Everdingen AA, Huisman M, De Nijs RN, Jacobs JW. Glucocorticoids in rheumatoid arthritis: effects on erosions and bone. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 966:82-90.

250. Kirwan JR, Bijlsma JW, Boers M, Shea BJ. Effects of glucocorticoids on radiological progression in rheumatoid arthritis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;CD006356.
251. Kirwan JR. The effect of glucocorticoids on joint destruction in rheumatoid arthritis. The Arthritis and Rheumatism Council Low-Dose Glucocorticoid Study Group. *N Engl J Med* 1995; 333:142-146.
252. Cushing H. The basophil adenomas of the pituitary body and their clinical manifestations (pituitary basophilism). *Bull Johns Hopkins Hosp* 1932; 50:137.
253. Watt GC, Harrap SB, Foy CJ et al. Abnormalities of glucocorticoid metabolism and the renin-angiotensin system: a four-corners approach to the identification of genetic determinants of blood pressure. *J Hypertens* 1992; 10:473-482.
254. Jackson SH, Beevers DG, Myers K. Does long-term low-dose corticosteroid therapy cause hypertension? *Clin Sci (Lond)* 1981; 61 Suppl 7:381s-383s.
255. Kalbak K. Incidence of arteriosclerosis in patients with rheumatoid arthritis receiving long-term corticosteroid therapy. *Ann Rheum Dis* 1972; 31:196-200.
256. Wang W, Lee ET, Fabsitz RR et al. A longitudinal study of hypertension risk factors and their relation to cardiovascular disease: the Strong Heart Study. *Hypertension* 2006; 47:403-409.
257. Gonzalez A, Maradit KH, Crowson CS et al. Do cardiovascular risk factors confer the same risk for cardiovascular outcomes in rheumatoid arthritis patients as in non-RA patients? *Ann Rheum Dis* 2007.
258. Maradit-Kremers H, Nicola PJ, Crowson CS, Ballman KV, Gabriel SE. Cardiovascular death in rheumatoid arthritis: a population-based study. *Arthritis Rheum* 2005; 52:722-732.
259. del Rincon I, O'Leary DH, Haas R, Escalante A. Effect of glucocorticoids on the arteries in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50:2-678.
260. Orchard TJ, Strandness DE, Jr.. Assessment of peripheral vascular disease in diabetes. Report and recommendations of an international workshop sponsored by the American Diabetes Association and the American Heart Association September 18-20, 1992 New Orleans, Louisiana. *Circulation* 1993; 88:819-828.
261. Kalbak K. Incidence of arteriosclerosis in patients with rheumatoid arthritis receiving long-term corticosteroid therapy. *Ann Rheum Dis* 1972; 31:196-200.

262. Pickering TG. Arterial stiffness as a cause of resistant hypertension? *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2007; 9:390-395.
263. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR et al. osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 1998; 12:1260-1268.
264. Walker BR, Best R, Shackleton CH, Padfield PL, Edwards CR. Increased vasoconstrictor sensitivity to glucocorticoids in essential hypertension. *Hypertension* 1996; 27:190-196.
265. Agarwal AK, Giacchetti G, Lavery G et al. CA-Repeat polymorphism in intron 1 of HSD11B2 : effects on gene expression and salt sensitivity. *Hypertension* 2000; 36:187-194.
266. Vane JR, Anggard EE, Botting RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med* 1990; 323:27-36.
267. Schiffrin EL, Thibault G. Plasma endothelin in human essential hypertension. *Am J Hypertens* 1991; 4:303-308.
268. Ergul S, Parish DC, Puett D, Ergul A. Racial differences in plasma endothelin-1 concentrations in individuals with essential hypertension. *Hypertension* 1996; 28:652-655.
269. Letizia C, Cerci S, De Toma G et al. High plasma endothelin-1 levels in hypertensive patients with low-renin essential hypertension. *J Hum Hypertens* 1997; 11:447-451.
270. Parrinello G, Scaglione R, Pinto A et al. Central obesity and hypertension: the role of plasma endothelin. *Am J Hypertens* 1996; 9:1186-1191.
271. Sarafidis PA, Bakris GL. Review: Insulin and endothelin: an interplay contributing to hypertension development? *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:379-385.
272. Schiffrin EL. Role of endothelin-1 in hypertension and vascular disease. *Am J Hypertens* 2001; 14:83S-89S.
273. Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S et al. The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86:2863-2867.
274. Arinami T, Ishikawa M, Inoue A et al. Chromosomal assignments of the human endothelin family genes: the endothelin-1 gene (EDN1) to 6p23-p24, the

- endothelin-2 gene (EDN2) to 1p34, and the endothelin-3 gene (EDN3) to 20q13.2-q13.3. *Am J Hum Genet* 1991; 48:990-996.
275. Tired L, Poirier O, Hallet V et al. The Lys198Asn polymorphism in the endothelin-1 gene is associated with blood pressure in overweight people. *Hypertension* 1999; 33:1169-1174.
276. Asai T, Ohkubo T, Katsuya T et al. Endothelin-1 gene variant associates with blood pressure in obese Japanese subjects: the Ohasama Study. *Hypertension* 2001; 38:1321-1324.
277. Levy D, Larson MG, Benjamin EJ et al. Framingham Heart Study 100K Project: genome-wide associations for blood pressure and arterial stiffness. *BMC Med Genet* 2007; 8 Suppl 1:S3.
278. Wiltshire S, Powell BL, Jennens M et al. Investigating the association between K198N coding polymorphism in EDN1 and hypertension, lipoprotein levels, the metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Hum Genet* 2008; 123:307-313.
279. Eljovich F, Laffer CL. Participation of renal and circulating endothelin in salt-sensitive essential hypertension. *J Hum Hypertens* 2002; 16:459-467.
280. Pache M, Schwarz HA, Kaiser HJ et al. Elevated plasma endothelin-1 levels and vascular dysregulation in patients with rheumatoid arthritis. *Med Sci Monit* 2002; 8:CR616-CR619.
281. Kuryliszyn-Moskal A, Klimiuk PA, Sierakowski S, Ciolkiewicz M. A study on vascular endothelial growth factor and endothelin-1 in patients with extra-articular involvement of rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2006; 25:314-319.
282. La Montagna G, Cacciapuoti F, Buono R et al. Insulin resistance is an independent risk factor for atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Diab Vasc Dis Res* 2007; 4:130-135.
283. Panoulas VF, Metsios GS, Pace AV et al. Hypertension in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47:1286-1298.
284. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332:411-415.
285. Ehrenreich H, Anderson RW, Fox CH et al. Endothelins, peptides with potent vasoactive properties, are produced by human macrophages. *J Exp Med* 1990; 172:1741-1748.

286. Sessa WC, Kaw S, Hecker M, Vane JR. The biosynthesis of endothelin-1 by human polymorphonuclear leukocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 174:613-618.
287. Yoshida H, Imafuku Y, Ohhara M et al. Endothelin-1 production by human synoviocytes. *Ann Clin Biochem* 1998; 35 (Pt 2):290-294.
288. Kiowski W, Luscher TF, Linder L, Buhler FR. Endothelin-1-induced vasoconstriction in humans. Reversal by calcium channel blockade but not by nitrovasodilators or endothelium-derived relaxing factor. *Circulation* 1991; 83:469-475.
289. Cardillo C, Campia U, Kilcoyne CM, Bryant MB, Panza JA. Improved endothelium-dependent vasodilation after blockade of endothelin receptors in patients with essential hypertension. *Circulation* 2002; 105:452-456.
290. Levin ER. Endothelins. *N Engl J Med* 1995; 333:356-363.
291. Elijovich F, Laffer CL, Amador E, Gavras H, Bresnahan MR, Schiffrin EL. Regulation of plasma endothelin by salt in salt-sensitive hypertension. *Circulation* 2001; 103:263-268.
292. Ferri C, Bellini C, Desideri G et al. Plasma endothelin-1 levels in obese hypertensive and normotensive men. *Diabetes* 1995; 44:431-436.
293. Rocchini AP. Obesity hypertension, salt sensitivity and insulin resistance. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2000; 10:287-294.
294. Zhao RZ, Chen X, Yao Q, Chen C. TNF-alpha induces interleukin-8 and endothelin-1 expression in human endothelial cells with different redox pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 327:985-992.
295. Woods M, Mitchell JA, Wood EG et al. Endothelin-1 is induced by cytokines in human vascular smooth muscle cells: evidence for intracellular endothelin-converting enzyme. *Mol Pharmacol* 1999; 55:902-909.
296. Murlas CG, Sharma AC, Gulati A, Najmabadi F. Interleukin-1 beta increases airway epithelial cell mitogenesis partly by stimulating endothelin-1 production. *Lung* 1997; 175:117-126.
297. Kahaleh MB, Fan PS. Effect of cytokines on the production of endothelin by endothelial cells. *Clin Exp Rheumatol* 1997; 15:163-167.
298. Vervoordeldonk MJ, Tak PP. Cytokines in rheumatoid arthritis. *Curr Rheumatol Rep* 2002; 4:208-217.

299. Fernandez-Patron C, Radomski MW, Davidge ST. Vascular matrix metalloproteinase-2 cleaves big endothelin-1 yielding a novel vasoconstrictor. *Circ Res* 1999; 85:906-911.
300. Ishiguro N, Ito T, Miyazaki K, Iwata H. Matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases, and glycosaminoglycans in synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1999; 26:34-40.
301. Teder P, Noble PW. A cytokine reborn? Endothelin-1 in pulmonary inflammation and fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 23:7-10.
302. Vaccarino V, Berger AK, Abramson J et al. Pulse pressure and risk of cardiovascular events in the systolic hypertension in the elderly program. *Am J Cardiol* 2001; 88:980-986.
303. Kohno M, Yasunari K, Murakawa K et al. Plasma immunoreactive endothelin in essential hypertension. *Am J Med* 1990; 88:614-618.
304. Davenport AP, Ashby MJ, Easton P et al. A sensitive radioimmunoassay measuring endothelin-like immunoreactivity in human plasma: comparison of levels in patients with essential hypertension and normotensive control subjects. *Clin Sci (Lond)* 1990; 78:261-264.
305. Ferri C, Bellini C, Desideri G et al. Clustering of endothelial markers of vascular damage in human salt-sensitive hypertension: influence of dietary sodium load and depletion. *Hypertension* 1998; 32:862-868.
306. He FJ, MacGregor GA. Effect of longer-term modest salt reduction on blood pressure. *Cochrane Database Syst Rev* 2004;CD004937.
307. Williams B, Poulter NR, Brown MJ et al. British Hypertension Society guidelines for hypertension management 2004 (BHS-IV): summary. *BMJ* 2004; 328:634-640.
308. Desideri G, Ferri C, Bellini C, De Mattia G, Santucci A. Effects of ACE inhibition on spontaneous and insulin-stimulated endothelin-1 secretion: in vitro and in vivo studies. *Diabetes* 1997; 46:81-86.
309. Ridker PM, Danielson E, Rifai N, Glynn RJ. Valsartan, blood pressure reduction, and C-reactive protein: primary report of the Val-MARC trial. *Hypertension* 2006; 48:73-79.

310. Matsumura Y, Hashimoto N, Taira S et al. Different contributions of endothelin-A and endothelin-B receptors in the pathogenesis of deoxycorticosterone acetate-salt-induced hypertension in rats. *Hypertension* 1999; 33:759-765.
311. Choy EH, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2001; 344:907-916.
312. Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J* 1990; 265:621-636.
313. International HapMap Project http://www.hapmap.org/cgi-perl/gbrowse/hapmap_B35/
314. Jenny NS, Tracy RP, Ogg MS et al. In the elderly, interleukin-6 plasma levels and the -174G>C polymorphism are associated with the development of cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22:2066-2071.
315. Brull DJ, Montgomery HE, Sanders J et al. Interleukin-6 gene -174g>c and -572g>c promoter polymorphisms are strong predictors of plasma interleukin-6 levels after coronary artery bypass surgery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:1458-1463.
316. Chae CU, Lee RT, Rifai N, Ridker PM. Blood pressure and inflammation in apparently healthy men. *Hypertension* 2001; 38:399-403.
317. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000; 101:1767-1772.
318. Grainger DJ. Transforming growth factor beta and atherosclerosis: so far, so good for the protective cytokine hypothesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24:399-404.
319. Taketazu F, Kato M, Gobl A et al. Enhanced expression of transforming growth factor-beta s and transforming growth factor-beta type II receptor in the synovial tissues of patients with rheumatoid arthritis. *Lab Invest* 1994; 70:620-630.
320. Matthey DL, Nixon N, Dawes PT, Kerr J. Association of polymorphism in the transforming growth factor {beta}1 gene with disease outcome and mortality in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:1190-1194.
321. Cambien F, Ricard S, Troesch A et al. Polymorphisms of the transforming growth factor-beta 1 gene in relation to myocardial infarction and blood pressure. The

- Etude Cas-Temoin de l'Infarctus du Myocarde (ECTIM) Study. *Hypertension* 1996; 28:881-887.
322. Koch W, Hoppmann P, Mueller JC, Schomig A, Kastrati A. Association of transforming growth factor-beta1 gene polymorphisms with myocardial infarction in patients with angiographically proven coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26:1114-1119.
 323. Park JY, Pillinger MH. Interleukin-6 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Bull NYU Hosp Jt Dis* 2007; 65 Suppl 1:S4-10.
 324. Evans CH, Ghivizzani SC, Robbins PD. Gene therapy for arthritis: what next? *Arthritis Rheum* 2006; 54:1714-1729.
 325. Pokorny V, Chau J, Wu L et al. Transforming growth factor beta 1 gene (HSTGFB1) nucleotide T869C (codon 10) polymorphism is not associated with prevalence or severity of rheumatoid arthritis in a Caucasian population. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:907-908.
 326. Sugiura Y, Niimi T, Sato S et al. Transforming growth factor beta1 gene polymorphism in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61:826-828.
 327. Plenge RM, Seielstad M, Padyukov L et al. TRAF1-C5 as a risk locus for rheumatoid arthritis--a genomewide study. *N Engl J Med* 2007; 357:1199-1209.
 328. Bautista LE, Vera LM, Arenas IA, Gamarra G. Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF-alpha) and essential hypertension. *J Hum Hypertens* 2005; 19:149-154.
 329. Sesso HD, Wang L, Buring JE, Ridker PM, Gaziano JM. Comparison of interleukin-6 and C-reactive protein for the risk of developing hypertension in women. *Hypertension* 2007; 49:304-310.
 330. Takano M, Itoh N, Yayama K, Yamano M, Ohtani R, Okamoto H. Interleukin-6 as a mediator responsible for inflammation-induced increase in plasma angiotensinogen. *Biochem Pharmacol* 1993; 45:201-206.
 331. Lee DL, Sturgis LC, Labazi H et al. Angiotensin II hypertension is attenuated in interleukin-6 knockout mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290:H935-H940.
 332. Losito A, Kalidas K, Santoni S, Jeffery S. Association of interleukin-6 -174G/C promoter polymorphism with hypertension and left ventricular hypertrophy in dialysis patients. *Kidney Int* 2003; 64:616-622.

333. Pola R, Flex A, Gaetani E, Pola P, Bernabei R. The -174 G/C polymorphism of the interleukin-6 gene promoter and essential hypertension in an elderly Italian population. *J Hum Hypertens* 2002; 16:637-640.
334. Pastor-Barriuso R, Banegas JR, Damian J, Appel LJ, Guallar E. Systolic blood pressure, diastolic blood pressure, and pulse pressure: an evaluation of their joint effect on mortality. *Ann Intern Med* 2003; 139:731-739.
335. Derynck R, Jarrett JA, Chen EY et al. Human transforming growth factor-beta complementary DNA sequence and expression in normal and transformed cells. *Nature* 1985; 316:701-705.
336. Verner K, Schatz G. Protein translocation across membranes. *Science* 1988; 241:1307-1313.
337. Yamada Y, Miyauchi A, Goto J et al. Association of a polymorphism of the transforming growth factor-beta1 gene with genetic susceptibility to osteoporosis in postmenopausal Japanese women. *J Bone Miner Res* 1998; 13:1569-1576.
338. Yamada Y, Okuizumi H, Miyauchi A, Takagi Y, Ikeda K, Harada A. Association of transforming growth factor beta1 genotype with spinal osteophytosis in Japanese women. *Arthritis Rheum* 2000; 43:452-460.
339. Yamada Y, Fujisawa M, Ando F, Niino N, Tanaka M, Shimokata H. Association of a polymorphism of the transforming growth factor-beta1 gene with blood pressure in Japanese individuals. *J Hum Genet* 2002; 47:243-248.
340. Hu BC, Chu SL, Wang JG, Wang GL, Gao PJ, Zhu DL. [Single nucleotide polymorphisms of three candidate genes in essential hypertension]. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 2006; 45:281-284.
341. August P, Suthanthiran M. Transforming growth factor beta signaling, vascular remodeling, and hypertension. *N Engl J Med* 2006; 354:2721-2723.
342. Antonipillai I, Le TH, Soceneantu L, Horton R. Transforming growth factor-beta is a renin secretagogue at picomolar concentrations. *Am J Physiol* 1993; 265:F537-F541.
343. Gamble JR, Vadas MA. Endothelial adhesiveness for blood neutrophils is inhibited by transforming growth factor-beta. *Science* 1988; 242:97-99.
344. Gamble JR, Vadas MA. Endothelial cell adhesiveness for human T lymphocytes is inhibited by transforming growth factor-beta 1. *J Immunol* 1991; 146:1149-1154.

345. Smith WB, Noack L, Khew-Goodall Y, Isenmann S, Vadas MA, Gamble JR. Transforming growth factor-beta 1 inhibits the production of IL-8 and the transmigration of neutrophils through activated endothelium. *J Immunol* 1996; 157:360-368.
346. Vodovotz Y, Bogdan C, Paik J, Xie QW, Nathan C. Mechanisms of suppression of macrophage nitric oxide release by transforming growth factor beta. *J Exp Med* 1993; 178:605-613.
347. Mallat Z, Tedgui A. The role of transforming growth factor beta in atherosclerosis: novel insights and future perspectives. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13:523-529.
348. Gorelik L, Flavell RA. Transforming growth factor-beta in T-cell biology. *Nat Rev Immunol* 2002; 2:46-53.
349. Matthey DL, Nixon N, Dawes PT, Kerr J. Association of polymorphism in the transforming growth factor {beta}1 gene with disease outcome and mortality in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:1190-1194.
350. Mottonen T, Paimela L, Leirisalo-Repo M, Kautiainen H, Ilonen J, Hannonen P. Only high disease activity and positive rheumatoid factor indicate poor prognosis in patients with early rheumatoid arthritis treated with "sawtooth" strategy. *Ann Rheum Dis* 1998; 57:533-539.
351. van Gestel AM, Haagsma CJ, van Riel PL. Validation of rheumatoid arthritis improvement criteria that include simplified joint counts. *Arthritis Rheum* 1998; 41:1845-1850.
352. Siffert W, Roskopf D, Moritz A et al. Enhanced G protein activation in immortalized lymphoblasts from patients with essential hypertension. *J Clin Invest* 1995; 96:759-766.
353. Siffert W. G protein polymorphisms in hypertension, atherosclerosis, and diabetes. *Annu Rev Med* 2005; 56:17-28.
354. Wenzel RR, Siffert W, Bruck H, Philipp T, Schafers RF. Enhanced vasoconstriction to endothelin-1, angiotensin II and noradrenaline in carriers of the GNB3 825T allele in the skin microcirculation. *Pharmacogenetics* 2002; 12:489-495.
355. Gonzalez-Juanatey C, Gonzalez-Gay MA. Long-term rheumatoid arthritis and endothelial dysfunction. *Atherosclerosis* 2004; 176:197-198.

356. Panoulas VF, Douglas KM, Milionis HJ et al. Serum uric acid is independently associated with hypertension in patients with rheumatoid arthritis. *J Hum Hypertens* 2008; 22:177-182.
357. Bagos PG, Elefsinioti AL, Nikolopoulos GK, Hamodrakas SJ. The GNB3 C825T polymorphism and essential hypertension: a meta-analysis of 34 studies including 14,094 cases and 17,760 controls. *J Hypertens* 2007; 25:487-500.
358. Dessein PH, Joffe BI, Singh S. Biomarkers of endothelial dysfunction, cardiovascular risk factors and atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2005; 7:R634-R643.
359. Gonzalez-Gay MA, Gonzalez-Juanatey C, Ollier WE. Endothelial dysfunction in rheumatoid arthritis: influence of HLA-DRB1 alleles. *Autoimmun Rev* 2004; 3:301-304.
360. Farfel Z, Bourne HR, Iiri T. The expanding spectrum of G protein diseases. *N Engl J Med* 1999; 340:1012-1020.
361. Siffert W, Roskopf D, Siffert G et al. Association of a human G-protein beta3 subunit variant with hypertension. *Nat Genet* 1998; 18:45-48.
362. Zeltner R, Delles C, Schneider M, Siffert W, Schmieder RE. G-protein beta(3) subunit gene (GNB3) 825T allele is associated with enhanced renal perfusion in early hypertension. *Hypertension* 2001; 37:882-886.
363. Roskopf D, Busch S, Manthey I, Siffert W. G protein beta 3 gene: structure, promoter, and additional polymorphisms. *Hypertension* 2000; 36:33-41.
364. LaMorte VJ, Harootunian AT, Spiegel AM, Tsien RY, Feramisco JR. Mediation of growth factor induced DNA synthesis and calcium mobilization by Gq and Gi2. *J Cell Biol* 1993; 121:91-99.
365. Goodson NJ, Silman AJ, Pattison DJ et al. Traditional cardiovascular risk factors measured prior to the onset of inflammatory polyarthritis. *Rheumatology* 2004; 43:731-736.
366. Turner ST, Schwartz GL, Chapman AB, Boerwinkle E. C825T polymorphism of the G protein beta(3)-subunit and antihypertensive response to a thiazide diuretic. *Hypertension* 2001; 37:739-743.