Uniwersytet Jagielloński

Collegium Medicum

Anna Dzieża-Grudnik

Etiopathogenesis of hypertension

Etiopatogeneza nadciśnienia tętniczego

Praca doktorska

Promotor: Prof. dr hab. med. Tomasz Grodzicki

Promotor pomocniczy: dr n.med. Jolanta Walczewska

Pracę wykonano w Katedrze Chorób Wewnętrznych i Gerontologii Uniwersytetu Jagiellońskiego

Kierownik jednostki: Prof. dr hab. med. Tomasz Grodzicki

Kraków

2023

PODZIĘKOWANIA

Składam serdeczne podziękowania mojemu Promotorowi Panu Profesorowi Tomaszowi Grodzickiemu za wsparcie, cierpliwość, nieustającą wiarę w projekt oraz opiekę naukową podczas pracy nad niniejszą rozprawą.

Dziękuję także mojemu Promotorowi Pomocniczemu Pani Doktor Jolancie Walczewskiej za wsparcie i optymizm.

Wielkie podziękowania składam mojej rodzinie, a w szczególności mężowi Przemkowi i synowi Tomkowi – za miłość, cierpliwość, wsparcie; za to że jesteście, za wszystko.

Dziękuję także wszystkim Koleżankom i Kolegom z Kliniki za wsparcie i pomoc, a w szczególności Ani Głuszewskiej i Oldze Sidze.

Dziękuję także moim przyjaciółkom Basi i Izie – za motywowanie i wiarę.

Spis treści:

1. Wykaz stosowanych skrótów 7
2. Wykaz prac wchodzących w skład rozprawy 9
3. Wprowadzenie 11
4. Cele pracy 18
5. Materiał i metodyka badań 19
6. Podsumowanie wyników publikacji wchodzących w skład rozprawy 24
    6.1 Publikacja 1 24
    6.2 Publikacja 2 26
    6.3 Publikacja 3 28
7. Omówienie wyników badań 29
8. Wnioski 32
9. Streszczenie pracy w języku polskim 33
10. Streszczenie pracy w języku angielskim 37
11. Wykaz cytowanego piśmiennictwa 40
12. Publikacje wchodzące w skład rozprawy 47
    12.1 Publikacja 1 48
    12.2 Publikacja 2 58
    12.3 Publikacja 3 67
13. Oświadczenia współautorów 76
    13.1 Publikacja 1 77
    13.2 Publikacja 2 83
    13.3 Publikacja 3 89

1. Wykaz stosowanych skrótów

ABPM – całodobowe monitorowanie ciśnienia tętniczego (*ang. ambulatory blood pressure monitoring*)

AG – wzmocnienie aortalnej fali tętna (*ang. Aortic Pulse Wave Augmentation*)

Alx – indeks wzmocnienia aortalnej fali tętna (*ang. Aortic Pulse Wave Augmentation Index)*

Alx AG/PP – indeks wzmocnienia aortalnej fali tętna obliczony jako stosunek AG/PP (*ang. Aortic Pulse Wave Augmentation Index AG/PP)*

Alx P2/P1 – indeks wzmocnienia aortalnej fali tętna obliczony jako stosunek P2/P2, czyli stosunek pomiędzy drugim (P2) a pierwszym (P1) szczytem skurczowej fali tętna aortalnego (*ang. Aortic Pulse Wave Augmentation Index P2/P1*)

Ang II – angiotensyna II (*ang. angiotensin II)*

BMI – wskaźnik masy ciała (*ang. Body Mass Index*)

CTK – ciśnienie tętnicze krwi

CV – sercowo-naczyniowe (*ang. cardio-vascular*)

DAMPs – alarminy, struktury molekularne związane z zagrożeniem (*ang. danger-associated molecular patterns)*

DBP – rozkurczowe ciśnienie tętnicze (*ang. diastolic blood pressure*)

DOCA – octan deozksykortykosteronu (*ang. deoxycorticosterone acetate*)

EFA – eksploracyjna analiza czynnikowa (*ang. exploratory factor analysis*)

GM-CSF – czynnik stymulujący kolonie granulocytów-makrofagów (*ang.granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*)

HbA1c% – procent hemoglobiny glikowanej A1c (*ang. percentage of glycated haemoglobin A1c*)

HDL – lipoproteina o dużej gęstości (*ang. high-density lipoprotein*)

HOMA-IR – wskaźnik insulinooporności (*ang. homeostatic model assessment- insulin resistance*)

hsCRP – wysokoczułe białko C-reaktywne (*ang. high sensitivity C-reactive protein*)

INF γ – interferon γ (*ang. interferon γ*)

IL – 1β – interleukina 1β (*ang. interleukin 1β*)

IL – 2 – interleukina 2 *(ang. interleukin 2)*

IL – 5 – interleukina 5 *(ang. interleukin 5)*

IL – 6 – interleukina 6 *(ang. interleukin 6)*

IL – 7 – interleukina 7 *(ang. interleukin 7)*

IL – 8 – interleukina 8 *(ang. interleukin 8)*

IL – 10 – interleukina 10 *(ang. interleukin 10)*

IL – 12 – interleukina 12 *(ang. interleukin 12)*

IL – 13 – interleukina 13 *(ang. interleukin 13)*

IL – 15 – interleukina 15 *(ang. interleukin 15)*

IL – 17A – interleukina 17 *(ang. interleukin 17A)*

IL – 21 – interleukina 21 *(ang. interleukin 21)*

IL – 23 – interleukina 23 *(ang. interleukin 23)*

ITAC – indukowany interferonem chemoatraktant limofocytów T alfa (*ang. interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant*)

IR – insulinooporność (*ang. insulin resistance*)

LDL – lipoproteina o małej gęstości (*ang. low-density lipoprotein*)

MIP – 1α – proteina makrofagów 1α (*ang. Macrophage inflammatory protein 1α*)

MIP – 1β – proteina makrofagów 1β (*ang. Macrophage inflammatory protein 1-β*)

MIP – 3α – proteina makrofagów 3α *(ang. Macrophage inflammatory protein 3α*)

NO – tlenek azotu (*ang. nitric oxidite)*

PAMPs – wzorce molekularne związane z patogenami (ang. pathogen-associated molecular patterns)

PP – ciśnienie tętna *(ang. pulse pressure*)

PTX 3 – pentraksyna 3 (*ang. pentraksyny 3*)

SBP – skurczowe ciśnienie tętnicze (*ang. systolic blood pressure*)

SD – odchylenie standardowe (*ang. standard deviation*)

sICAM – rozpuszczalna forma wewnątrzkomórkowej molekuły przylegania (*ang. soluble form of intracellular adhesion molecules)*

sVCAM – rozpuszczalna forma naczyniowej molekuły przylegania *(ang. soluble form of vascular adhesion molecules)*

TLR – receptory toll-podobne *(ang. toll-like receptors)*

TNFα – czynnik martwicy nowotworów (*ang. tumor necrosis factor α)*

tPAI – tkankowy aktywator plazminogenu (*ang. tissue plazimnogen activator*)

TSLP – limfopetyna zrębu grasicy *(ang. thymic stromal limphopoetin*)

Ucn2 – urokortyna 2 (*ang urocortin 2*)

vWF – czynnik von Willebranda *(ang. von Willebrand factor)*

2. Wykaz prac wchodzących w skład rozprawy

Rozprawa doktorska została przygotowana na podstawie trzech tematycznie powiązanych prac:

1. Anna Dzieża-Grudnik, Joanna Sulicka, Magdalena Strach, Olga Siga, Ewa Klimek, Mariusz Korkosz, Tomasz Grodzicki.
   Arterial stiffness is not increased in patients with short duration rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis
   Blood Pressure, 2017, vol. 26, nr 2, s.115-121
   Blood Pressure, DOI: 10.1080/08037051.2016.1232586, IF – 2,107

2. Anna Dzieża-Grudnik, Olga Siga, Jolanta Walczewska, Barbara Wizner, Paweł P. Wołkow, Franz H. Messerli, Tomasz Grodzicki
   Urocortin 2 – A Protective Effect in Hypertension? Urocortin 2 – A Protective Effect in hypertension?
   Journal of Physiology and Pharmacology 2023, 74, 1, 3-10
   www.jpp.krakow.pl | DOI: 10.26402/jpp.2023.1.01 IF – 2,859

3. Anna Dzieża-Grudnik, Olga Siga, Jolanta Walczewska, Barbara Wizner, Tomasz Mikołajczyk, Joanna Sulicka-Grodzicka, Tomasz Grodzicki
   New onset hypertension is not associated with systemic changes in inflammatory cytokine levels
   Archives of Medical Science, 2023; opublikowane on-line
   Archives of Medical Science. 2023. doi:10.5114/aoms/169502 IF – 3,8

3. Wprowadzenie

Nadciśnienie tętnicze – informacje ogólne

Nadciśnienie tętnicze jest przyczyną około 8,5 mln zgonów rocznie na świecie [1] i jest głównym czynnikiem ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego [2]. Zgodnie z danymi WHO z 2019 roku liczba osób chorujących na nadciśnienie w wieku 30-79 lat wzrosła dwukrotnie od 1990 roku, choć jego częstość nie zmieniła się znacznie w tym okresie (aktualnie choruje na nadciśnienie 32% kobiet oraz 34% mężczyzn globalnie) [3]. Nadciśnienie tętnicze definiujemy jak podwyższenie wartości skurczowego ciśnienia tętniczego krwi powyżej 140 mmHg i/lub rozkurczowego powyżej 90 mmHg w pomiarach gabinetowych. Jako ekwiwalent pomiarów gabinetowych wykorzystane mogą być także pomiary domowe (o nadciśnieniu świadczy ciśnienie tętnicze powyżej 135/85 mmHg). W pomiarach całodobowych wartości powyżej 135/85 mmHg w ciągu dnia, powyżej 120/70 mmHg w nocy lub powyżej 130/80 mmHg uśrednione dobowe świadczą o nadciśnieniu tętniczym [4]. W zależności od etiologii nadciśnienie dzielimy na pierwotne (konsekwencja czynników środowiskowych i genetycznych) oraz wtórne (w przebiegu chorób miąższu nerek, naczyń nerkowych, gruczołów wydzielania wewnętrznego, koarktacji aorty, chorób układu nerwowego, obturacyjnego bezdechu sennego, ostrego stresu, zwiększonej objętości płynu wewnątrznaczyniowego lub działania leków i substancji toksycznych). Do uznanych, klasycznych, czynników biorących udział w rozwoju nadciśnienia pierwotnego należy nadmierna aktywność układ renina-angiotensyna-aldosteron (m.in. poprzez hamowanie syntazy tlenku azotu, skurcz mięśni gładkich w ścianie naczynia, uwalnianie substancji wazopresyjnych) i układu współczulnego (wzrost pojemności minutowej serca, oporu obwodowego, wolemii, aktywności układu renina-angiotensyna-aldosteron). Pobudzenie układu współczulnego i układu renina-angiotensyna-aldosteron skutkuje nadmierną produkcją katecholamin, angiotensyny II i aldosteronu co w konsekwencji daje zwiększenie napięcia naczyniowego, wzrost częstości akcji serca oraz wzrost resorpcji wody i sodu w nerkach. Aktywacja drogi klasycznej nie tłumaczy jednak wyczerpująco dalszego rozwoju nadciśnienia i powstania powikłań narządowych.

Nadciśnienie tętnicze a układ immunologiczny

Dostępne są liczne dowody świadczące o zaangażowaniu mechanizmów immunologicznych w rozwój nadciśnienia [5, 6]. Przykładowo, już wiele lat temu wykazano zwiększone stężenie IgG u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym w porównaniu z grupą

kontrolną [7, 8]; stwierdzono zwiększoną ilość limfocytów Th1 i Th17 w śledzionie, naczyniach krwionośnych i nerkach zarówno u zwierząt jak i u ludzi z nadciśnieniem tętniczym [9-11]. W modelach mysich pozbawionych limfocytów T i B (mysi model ciężkiego złożonego niedoboru odporności lub szczep myszy Rag1 -/-) nie obserwowano wzrostu wartości ciśnienia tętniczego i uszkodzeń narządowych pomimo podawania angiotensyny II [12, 13], jednocześnie transfer limfocytów T powodował wzrost wartości ciśnienia tętniczego i dysfunkcje endotelium u myszy Rag 1-/- [13]. Ostatnio, Siedliński i wsp. wykazali związek, potencjalnie przyczynowy, pomiędzy wartościami ciśnienia tętniczego a liczbą limfocytów we krwi obwodowej w grupie ponad 500 000 osób [14].

Udział układu immunologicznego w rozwoju nadciśnienia tętniczego jest złożony i obejmuje zarówno aktywację odpowiedzi nieswoistej (innate immune system) jak i swoistej (adaptive immune system) [6]. Sugerowany mechanizm aktywacji układu immunologicznego zakłada, że pierwotne uszkodzenie naczyń spowodowane jest niewielkim wzrostem wartości ciśnienia tętniczego zainicjowanego aktywacją drogi klasycznej, nieimmunologicznej [15]. W sprzyjających warunkach dochodzi wówczas do uszkodzenia komórek z uwolnieniem ich zawartości, z modyfikacją białek (np. w warunkach stresu oksydacyjnego [16]) i ostatecznie z powstaniem alarmin (struktury molekularne związane z uszkodzeniem, DAMPs, danger-associated molecular patterns) i neoantygenów [6], które mają zdolność wpływania zarówno na odporność wrodzoną jak i nabytą. Neoantygenami nazywane są endogenne molekuły, które uległy modyfikacjom, w wyniku których przestały być rozpoznawane jako własne i zachowują się jak obce antygeny [17].

Jedną z kluczowych ról w propagacji zapalenia odgrywają PRR (patern recognition receptors), a w szczególności TLR (toll-like receptors) zlokalizowane na monocytach, granulocytach, makrofagach i komórkach dendrytycznych, które mają umiejętność rozpoznawania DAMPs i PAMPs (pathogen activated moloecular patterns) [18, 19]. Alarminy, do których należą białko m.in. HMGB1 (high-mobility group box 1, ligand receptora TLR4 [20]), DNA mitochondrialne (ligand receptora TLR9 [21]) lub lipopolisacharydy bakteryjne (LPS, ligand TLR4; ich obecność w naczyniach krwionośnych to konsekwencja zaburzonego mikrobiomu jelitowego oraz nieszczelności bariery jelitowej [22]), są uwalniane z uszkodzonych przez ciśnienie komórek. Następnie poprzez interakcje z receptorami TLR na makrofagach lub komórkach dendrytycznych aktywują inflammasom, w szczególności inflammasom NLRP3 (NOD, LRR, i pyrin-domain-containing 3). Cechą szczególną inflammasomu NLRP3 jest jego zdolność do bycia aktywowanym przez czynniki takie jak: kryształy kwasu moczowego [23] lub cholesterol [24], a jego inhibicja chroni przed rozwojem

nadciśnienia tętniczego [25, 26]. W następstwie aktywacji inflammasomu NLRP3 dochodzi do produkcji cytokin prozapalnych IL-1β i IL-18, chemokin CCL2 (CC-chemokin ligand-2) i CCL5 (CC-chemokin ligand -5) oraz aktywacji kolejnych komórek układu odpornościowego (Th1, Th17) [6].

Kolejnym ważnym elementem stymulującym stan zapalny są neoantygeny specyficzne dla nadciśnienia tętniczego. Mogą one ulegać fagocytozie przez komórki dendrytyczne i zostać zaprezentowane limfocytom B i T w narządach takich jak śledziona. W następstwie tego powstają komórki plazmatyczne i efektorowe limfocyty T (CD8+, Th1, Th17, i Tγδ). Efektorowe limfocyty T opuszczają narządy limfatyczne i gromadzą się w naczyniach krwionośnych, sercu, nerkach, gdzie przyciągają i aktywują inne prozapalne i prozakrzepowe komórki układu immunologicznego [6]. Wykazano obecność limfocytów T pamięci [10, 27], które po ponownym pojawieniu się czynnika podnoszącego ciśnienie tętnicze krwi migrują ze szpiku kostnego do nerek oraz naczyń i są głównym źródłem INFγ i IL-17.

Rola poszczególnych subpopulacji limfocytów T w rozwoju nadciśnienia pozostaje nadal przedmiotem badań. Wykazano, że gryzonie pozbawione limfocytów CD8+ są odporne na hipertensyjne działanie angiotensyny II, DOCA i soli [13, 28], a same limfocyty CD8+ zwiększają obwodowy opór naczyniowy [28] i wpływają bezpośrednio na kotransporter sodowo-potasowy w kanalikach dystalnych nerek [29]. Limfocyty Tγδ produkują IL-17, CCL-5, TNFα, INFγ [30] a myszy ich pozbawione (limfocytów Tγδ) nie mają podwyższonych wartości ciśnienia tętniczego po podaniu angiotensyny II [31]. Rola komórek Th1 i Th17 w rozwoju nadciśnienia nie została jednoznacznie potwierdzona [6].

Jak wspomniano powyżej, limfocyty B pod wpływem komórek prezentujących antygen przekształcają się w komórki plazmatyczne i rozpoczynają produkcję autoprzeciwciał. Kompleksy immunologiczne (IgG+antygen) poprzez stymulację receptorów FcγR na makrofagach i aktywację układu dopełniacza promującą dalszy rozwój zapalenia, nasilają dysfunkcję endotelium i remodeling naczyniowy [6]. Dodatkowo, niektóre z przeciwciał mogą w bezpośredni sposób oddziaływać na receptory lub kanały jonowe w narządach odpowiedzialnych za utrzymanie prawidłowego ciśnienia tętniczego krwi (np. α1 receptory adrenergiczne, β1 receptory, AT I, kanały wapniowe) [32, 33]. Wykazano zwiększoną ilość przeciwciał przeciwko Hsp60 i Hsp70 u pacjentów z nadciśnieniem w porównaniu z grupą kontrolą [19].

Rola układu dopełniacza podobnie jak i komórek dendrytycznych w rozwoju nadciśnienia nie jest jednoznacznie określona. Wykazano, że zablokowanie receptora dla C5a i C3a składników dopełniacza redukuje nadciśnienie i zapobiega dysfunkcji limfocytów Treg

wywołanej angiotensyną II [34]. Należy podkreślić, że izolowana stymulacja angiotensyną II prowadzi do aktywacji komórek mięśni gładkich naczyń oraz produkcji przez nie czynników silnie aktywujących komórki prezentujące antygen (np. thymic stromal limphopoetin, TSLP), a w konsekwencji wzrostu przez nie potencjału do aktywowania komórek dendrytycznych i limfocytów T [35]. Ponadto transfer aktywowanych komórek dendrytycznych do zdrowych myszy powodował rozwój nadciśnienia, aktywację limfocytów CD 8+ i zwiększoną produkcję INFγ i IL- 17 [6].

Poza działaniem przyczyniającym się do wzrostu wartości ciśnienia tętniczego układ odpornościowy może wpływać także na jego obniżenie. Nadciśnienie tętnicze jest związane z obniżoną liczbą limfocytów T regulatorowych [36], a wzrost ich ilości lub aktywności chroni przed rozwojem samego nadciśnienia lub jego powikłań [37, 38]. Podobnie zmniejszona aktywność komórek iNKT [39](invariant natural killer T cells) lub komórek supresorowych szpiku [40] (MDScs, myeloid-derived suppresor cells) przyczynia się do rozwoju nadciśnienia, obniżonego wytwarzania IL-10 lub wzrostu wytwarzania INFγ, IL-17.

Podsumowując, istnieje wiele dowodów potwierdzających udział odpowiedzi nieswoistej i swoistej w rozwoju i utrzymaniu podwyższonych wartości nadciśnienia tętniczego krwi.

Przytoczone powyżej publikacje w większości opisują sytuację, w której na wyjściowo zdrowy organizm (nieobciążony innymi przewlekłymi chorobami, w tym chorobami zapalnymi) działa bodziec powodujący wzrost wartości ciśnienia tętniczego, co pociąga za sobą aktywację układu immunologicznego. Istnieją jednak takie sytuacje kliniczne, w których to wyjściowo rozwija się przewlekły stany zapalny, przykładowo w przebiegu chorób zapalnych tkanki łącznej lub infekcji przyzębia [41]. Wykazano, że pacjenci z chorobami zapalnymi takimi jak reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) lub zesztywniające zapalenie stawów kręgosłupa (ZZSK) mają zwiększone ryzyko sercowo-naczyniowe w porównaniu z populacją ogólną [42-45]. Dodatkowo zwiększona jest u nich częstość występowania nadciśnienia tętniczego. Związane może być to zarówno z klasycznymi czynnikami ryzyka sercowo naczyniowego, wdrożonym leczeniem lub samym stanem zapalnym zaburzającym proporcje pomiędzy czynnikami naczyniokurczącymi a powodującymi wazodylatację [46]. Wykazano, że przewlekły stan zapalny, poprzez DAMPs lub antygeny niezwiązane bezpośrednio z nadciśnieniem, może, w niektórych przypadkach, mieć efekt promujący rozwój nadciśnienia i dysfunkcję organów biorących udział w kontroli CTK [6]. Pacjenci z chorobami autoimmunologicznymi z reguły rozwijają nadciśnienie wcześniej i jest ono trudniejsze do leczenia [46]. Pośrednich dowodów na udział czynników zapalnych w kontroli ciśnienia

tętniczego krwi u pacjentów z chorobami zapalnymi dostarczają także badania z wykorzystaniem leków wpływających bezpośrednio na poziom lub dostępność interleukin zapalnych [47]. Podawanie mykofenolanu mofetylu pacjentom z RZS lub łuszczycą oraz towarzyszącym nadciśnieniem tętniczym skutkowało spadkiem ciśnienia skurczowego i rozkurczowego oraz zmniejszeniem nerkowej sekrecji TNFα [48], podobnie Murray i wsp. zaobserwowali spadek wartości CTK u pacjentów leczonych różnymi inhibitorami TNFα. Z drugiej jednak strony metaanaliza, do której włączono 11 randomizowanych badań klinicznych prowadzonych u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów leczonych inhibitorami TNFα wykazała zwiększenie ryzyka rozwoju nadciśnienia tętniczego [49]. Badania z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych przeciwko IL-17 też nie są jednoznaczne demonstrując spadek ciśnienia po leczeniu lub brak wpływu takiego leczenia na wartości ciśnienia [47].

W badaniu CANTOS [50] oceniano wpływ leczenia kanakinumabem (przeciwciało monoklonalne przeciwko IL - 1β) na redukcję ciśnienia tętniczego krwi i częstość występowania nadciśnienia tętniczego. Kanakinumab nie obniżał wartości ciśnienia tętniczego niezależnie od wyjściowych wartości hsCRP, jednocześnie powodował redukcję częstości zdarzeń sercowo – naczyniowych.

Nadciśnienie tętnicze a urokortyna 2 i cytokiny zapalne

W rozwoju nadciśnienia mogą odgrywać rolę także inne czynniki, których znaczenie i wpływ na wartość CTK aktualnie pozostaje tematem badań. Jednym z nich jest urokortyna 2 (Ucn2) będąca endogennym selektywnym ligandem receptora CRH-R2 (corticotropin-releasing hormone receptor type 2), który wykazuje ekspresję m.in w ośrodkowym układzie nerwowym oraz w układzie sercowo- naczyniowym [51]. Wykazano, że urokortyna 2 ma działanie inotropowododatnie, zwiększa pojemność minutową serca [52-55] oraz ma działanie ochronne na mięsień sercowy w przypadku jego niedokrwienia [56]. Ucn2 ma także działanie obniżające ciśnienie tętnicze krwi [54, 55, 57-59], które mediowane jest poprzez aktywację receptora CRH-R2 [59, 60]. Dożylne podanie Ucn2 zdrowym ochotnikom wywołało zależne od dawki obniżenie rozkurczowego i średniego ciśnienia tętniczego, nie wywierając wpływu na wartości skurczowego ciśnienia tętniczego [55]. Podobne działanie obserwowano u chorych z przewlekłą [54] oraz ostrą niewydolnością serca [61].

Działanie wazodylatacyjne urokortyn może odbywać się zarówno w mechanizmie zależnym [62-65] jak i niezależnym [66, 67] od endotelium oraz poprzez bezpośredni wpływ na aktywność układu renina-angiotensyna-aldosteron lub syntezę i sekrecję katecholamin [68-70].

Stwierdzono podwyższony poziom Ucn2 u pacjentów z łagodną do umiarkowanej skurczową niewydolnością serca w porównaniu z grupą kontrolną [71] oraz u chorych na nadciśnienie tętnicze leczonych hipotensyjnie [72]. Poziom Ucn2 był porównywalny u chorych z ciężką dysfunkcją skurczową, niewydolnością rozkurczową serca oraz z chorobą niedokrwienna serca [71].

Jedną z cytokin o potencjalnym wpływie na rozwój nadciśnienia tętniczego oraz dysfunkcję śródbłonka naczyniowego jest IL-17A, która jest produkowana przez limfocyty Th – 17 [73, 74]. IL- 17A podnosi wartości ciśnienia tętniczego, zmniejsza zależną od NO wazodylatację naczyń [74], wpływa na wzrost sztywności aorty poprzez zwiększenie odkładania kolagenu [75]. Dodatkowo razem z TNFα moduluje ekspresję ponad 30 genów włącznie z czynnikami zapalnymi w mięśniówce gładkiej aorty [73]. Przeciwciała skierowane przeciwko IL-17A lub jej receptorowi obniżają ciśnienie tętnicze i zmniejszają nacieki z limfocytów w nerkach i naczyniach u zwierząt poddanych działaniu Ang II [76]. U ludzi podwyższone wartości IL-17 w porównaniu z grupą kontrolną stwierdzono u chorych z nadciśnieniem tętniczym lub podwyższonymi wartościami ciśnienia [73, 77].

Podobnie, IFNγ wpływa na wysokość ciśnienia tętniczego krwi i przyspiesza rozwój powikłań nadciśnienia tętniczego [19]. Sprzyja on nadciśnieniu tętniczemu poprzez zwiększenie ekspresji angiotensynogenu i w konsekwencji zwiększeniu reabsorpcji sodu w komórkach nerek, natomiast podanie mykofenolanu mofetylu zmniejsza ilość angiotensyny II produkowanej w nerce [78]. Myszy pozbawione INFγ miały zmniejszony przerost i włóknienie mięśnia sercowego w odpowiedzi na podawanie angiotensyny II [79]. Limfocyty CD8+ produkują zwiększoną ilość IFNγ u pacjentów z nadciśnieniem w porównaniu z osobami zdrowymi [10].

TNFα obniża zdolność śródbłonka do produkcji NO [80] prowadząc do skurczu naczyń i reabsorpcji sodu w nerkach. Myszy pozbawione TNFα cechowały się brakiem wzrostu ciśnienia tętniczego w porównaniu z myszami dzikimi po podaży Ang II [81]. Natomiast podanie przeciwciał przeciwko receptorowi dla TNFα zmniejszało wartość ciśnienia tętniczego, a podanie TNFα szczurom z grupy kontrolnej powodowało wzrost wartości ciśnienia tętniczego [82].

Produkcja IL-6 jest stymulowana przez angiotensynę II u ludzi [83], a myszy pozbawione genu dla IL-6 wykazują niższą wartość ciśnienia tętniczego niż myszy typu dzikiego podczas infuzji Ang II [84].

W przeciwieństwie do cytokin wymienionych powyżej, IL-10 ma działanie przeciwzapalne. Dostępne są prace wykazujące rolę protekcyjną IL- 10 na endotelium. Przykładowo, podaż IL-

10 myszom z nadciśnieniem tętniczym zmniejszała skurczowe ciśnienie tętnicze i aktywność oksydazy NADPH oraz poprawiała funkcję endotelium [85]. Dodatkowo IL-10 chroniła przed wzrostem CTK i uszkodzeniem endotelium związanym z podawaniem Angiotensyny II [86]. Stwierdzono zmniejszony poziom IL-10 oraz ilość Treg (CD4+CD25+) u pacjentek z nadciśnieniem indukowanym ciążą [87].

Podsumowując, dotychczasowe badania wskazują na istotny udział czynników zapalnych w etiopatogenezie nadciśnienia tętniczego oraz w rozwoju powikłań narządowych.

4. Cele badania

Celem pracy była ocena zależności pomiędzy markerami stanu zapalnego a wartościami ciśnienia tętniczego oraz określenie związku pomiędzy stanem zapalnym a nadciśnieniem tętniczym i sztywnością naczyń w przewlekłych chorobach zapalnych na przykładzie reumatoidalnego zapalenia stawów i zesztywniającego zapalenia stawów kręgosłupa.

Dodatkowo chcieliśmy także określić zależności pomiędzy wartościami ciśnienia tętniczego krwi a poziomem Ucn2, peptydu o postulowanym działaniu wazodylatacyjnym.

W badaniu sformułowano następujące hipotezy badawcze:

1. Pacjenci z nadciśnieniem tętniczym mają podwyższony poziom wskaźników zapalnych
2. Chorzy z nadciśnieniem tętniczym świeżo wykrytym mają obniżony poziom Ucn2 w krwi obwodowej
3. Chorzy z wczesnym reumatoidalnym zapaleniem stawów oraz zesztywniającym zapaleniem stawów kręgosłupa cechują się podwyższonymi wartościami ciśnienia tętniczego oraz mają zwiększoną sztywność naczyń.

5. Materiały i metody

Badanie zostało przeprowadzone w latach 2009 – 2011 w Poradni Reumatologicznej Kliniki Chorób Wewnętrznych i Geriatrii oraz w latach 2013 - 2016 w Poradni Leczenia Nadciśnienia Tętniczego i w Podstawowej Opiece Zdrowotnej Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie.

Badana populacja:

Do badania włączono łącznie 177 pacjentów w ramach dwóch projektów.

Pierwszą grupę stanowiło łącznie 100 chorych zrekrutowanych w Poradni Reumatologicznej Szpitala Uniwersyteckiego, w tym 26 pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów, 45 z zesztywniającym zapaleniem stawów kręgosłupa oraz 29 zdrowych ochotników. Do badania zostali włączeni pacjenci dotychczas nieleczeni lekami modyfikującymi przebieg chorób zapalnych stawów (LMPCh), bez istotnych obciążeń kardiologicznych (wykluczającymi kryteriami były: przebyty zawał mięśnia sercowego, udar mózgu, cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, choroba niedokrwienna serca), bez chorób nowotworowych, przewlekłej choroby nerek lub ostrej infekcji (objawów infekcji w czasie ostatnich dwóch tygodni przed włączeniem do badania).

W ramach drugiego projektu realizowanego w latach 2013 – 2016 w Poradni Nadciśnienia Tętniczego oraz Podstawowej Opieki Zdrowotnej Szpitala Uniwersyteckiego przebadaliśmy łącznie 77 pacjentów. Do badania włączyliśmy pacjentów bez istotnych obciążeń zdrowotnych, nieleczonych dotychczas na nadciśnienie tętnicze. Z uwagi na choroby towarzyszące (cukrzycę lub choroby zapalne jelit), stosowane leki (statyny) lub nieprawidłowości w badaniach laboratoryjnych z analiz wyłączyliśmy 10 chorych. Ostatecznie zakwalifikowaliśmy do analiz 29 zdrowych ochotników oraz 38 pacjentów z nadciśnieniem tętniczym świeżo rozpoznanym dotychczas nieleczonym. Z powyżej opisanej grupy wyłoniliśmy 61 pacjentów (24 zdrowych oraz 37 z nadciśnieniem tętniczym), u których oceniliśmy poziom wskaźników zapalnych we krwi obwodowej.

Wszyscy chorzy wyrazili zgodę na udział w badaniu a podpisanie świadomej zgody było pierwszą procedurą badania.

Podstawowa ocena pacjenta

Wszyscy pacjenci poddani byli standardowym procedurom lekarskim: zebrano wywiad (w tym uzyskano informacje o chorobach towarzyszących, stosowanych lekach, paleniu tytoniu, obciążeniach rodzinnych w zakresie chorób układu sercowo- naczyniowego),

przeprowadzono badanie fizykalne, wykonano pomiary antropometryczne (masa ciała, wzrost, obwód talii i bioder) oraz parametrów życiowych (ciśnienie tętnicze krwi, akcja serca, ilość oddechów). W oparciu o uzyskane wyniki obliczano BMI (body mass index, iloraz masy ciała w kg i wzrostu w m^2) oraz WHR (waist/ hip ratio; stosunek talia/biodra).
Próbki krwi pobierano w godzinach porannych (pomiędzy 07:00 a 09:00) na czczo, po okresie około 8 godzin od ostatniego posiłku.

Pacjenci z chorobami zapalnymi stawów mieli dodatkowo wykonaną ocenę aktywności choroby: chorzy z RZS – DAS 28 (*Disease Activity Score*; wskaźnik aktywności choroby); chorzy z ZZSK – BASDAI (*Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index*). U chorych tych nie wykonywaliśmy całodobowego monitorowania ciśnienia tętniczego krwi (zarówno u pacjentów jak i w grupie kontrolnej).

ABPM wykonaliśmy u wszystkich pacjentów z podejrzeniem nadciśnienia tętniczego lub z potwierdzonym nadciśnieniem tętniczym (dotychczas nieleczonym) oraz u zdrowych ochotników. Wartości ciśnienia tętniczego uzyskane w całodobowym monitorowaniu ciśnienia tętniczego krwi stanowiły kryterium kwalifikacji do grupy zdrowej lub grupy z nadciśnieniem tętniczym i stanowiły podstawę do rozpoznania nadciśnienia tętniczego.

Gabinetowe pomiary ciśnienia tętniczego krwi

Gabinetowe pomiary ciśnienia przeprowadzone były u wszystkich pacjentów po co najmniej 5 minutach odpoczynku w pozycji siedzącej [88]. Pomiary wykonywane były na lewym ramieniu, trzykrotnie w odstępach 1 -2 minutowych. Do analizy wykorzystaliśmy drugi i trzeci pomiar, z których wyciągnęliśmy średnią. Ciśnienie tętnicze krwi mierzono z wykorzystaniem walidowanego ciśnieniomierza (OMRON 705IT, HEM-759-E, Omron Corporatio, Kyoto, Japan).

Całodobowe monitorowanie ciśnienia tętniczego krwi (*Ambulatory Blood Pressure Monitoring, ABPM*)

Całodobowe monitorowanie ciśnienia tętniczego krwi przeprowadzone było z wykorzystaniem urządzeń SpaceLabs90207 [89] (SpaceLAbs Healthcare, Hertford, UK). Pomiary wykonywane były podczas standardowej aktywności dziennej i nocnej pacjenta; mankiet do pomiaru ciśnienia założony był na ręce niedominującej; pomiary w ciągu dnia wykonywane były trzy razy na godzinę, w ciągu nocy dwa razy na godzinę; co najmniej 70% pomiarów musiało być ważnych aby wynik ABPM możliwy był do analizy.

W oparciu o wartości ciśnienia uzyskane z ABPM, pacjentów kwalifikowano do grupy zdrowej lub grupy z nadciśnieniem tętniczym – jeśli którakolwiek z wartości ciśnienia tętniczego krwi przekroczyła wartości referencyjne pacjent był kwalifikowany do grupy z nadciśnieniem tętniczym (średnie ciśnienie skurczowe dzienne ≥135mmHg lub/i średnie ciśnienie rozkurczowe dzienne≥85mmHg lub/i średnie ciśnienie skurczowe nocne ≥120mmHg lub/i średnie ciśnienie rozkurczowe ≥70mmHg lub/i średnie ciśnienie skurczowe dobowe ≥130mmHg i/lub średnie ciśnienie rozkurczowe dobowe ≥80mmHg).

Nieinwazyjna ocena sztywności tętnic

Prędkość fali tętna oceniono wykorzystując system *Complior (Complior, Colson, Garges-les- Gonesse, Francja*). Badanie wykonywano po co najmniej 10 minutach w pozycji leżącej. Na skórze bezpośrednio nad tętnicami udową i szyjną lewą umieszczono po jednym przetworniku. Wykonywano 10 kolejnych pomiarów, a następnie wyeliminowano dwie skrajne wartości (maksymalną i minimalną). PWV zostało obliczone jako 80% stosunku całkowitej odległości pomiędzy dwoma przekaźnikami a czasem przejścia fali tętna pomiędzy tymi dwoma punktami. Pomiary zostały wykonane zgodnie z zaleceniami [90].

Sztywność tętnic oraz ciśnienie centralne zostały obliczone z wykorzystaniem aparatu SphygmoCor (*AtCor Medical, West Ryde, Australia*). Badanie wykonywano po około 10 - 15 minutach odpoczynku w pozycji siedzącej. Oceniono następujące parametry sztywności naczyń: AG – (*Aortic Pulse Wave Augmentation*, wzmocnienie aortalnej fali tętna) obliczonej jako różnica pomiędzy drugim (P2) a pierwszym (P1) szczytem skurczowej fali tętna aortalnego; Alx (AIx, *Aortic Pulse Wave Augmentation Index*; indeks wzmocnienia aortalnej fali tętna; obliczony jako stosunek AG/PP (*Pulse Pressure*; ciśnienie tętna) lub jako stosunek drugiego szczytu ciśnienia skurczowego (P2) do pierwszego szczytu ciśnienia skurczowego (P1) – P2/P1.

Badania laboratoryjne

Każdy z uczestników badania miał pobraną krew celem oceny podstawowych parametrów biochemicznych (morfologia z rozmazem, sód, potas, TSH, kreatynina, klirens kreatyniny, aminotransferaza alaninowa, aminotransferaza asparaginaniowa, lipidogram, poziom glukozy na czczo, hsCRP, HbA1c). Krew pobierana była w godzinach porannych, na czczo. Dodatkowo w obu grupach pacjentów oceniano poziom interleukin zapalnych lub/i wskaźników dysfunkcji śródbłonka naczyniowego.

W grupie pacjentów z chorobami zapalnymi stawów i w grupie kontrolnej oceniano poziom: IL-6, IL-18, TNFα, fibrynogenu, pentraksyny 3 (PTX-3), sICAM (soluble form of intracellular adhesion molecules, rozpuszczalna forma wewnątrzkomórkowej molekuły przylegania), sVCAM (soluble form of vascular cell adhesion molecules, rozpuszczalna forma naczyniowej molekuły przylegania), rozpuszczalna forma E-selektyny (E-selectin), czynnik vonWillebranda (vWF), aktywator tkankowy plazminogenu (tissue plazminogen activator, tPAI). Pomiarów dokonano wykorzystując immunonefelometrię oraz testy ELISA. Poziom fibrynogenu został oznaczony z wykorzystaniem *BCS Coagulation Analyzer (Siemens Healthcare Diagnstics Ins. Erlangen, Germany*).

W grupie pacjentów z nadciśnieniem tętniczym świeżo rozpoznanym oraz w grupie kontrolnej oceniono poziom: ITAC, GM-CSF, Fractalkiny, IFN-γ, IL-10, MIP-3α, IL-12, IL-13, IL-17A, IL-1β, IL-2, IL-21, IL-23, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, MIP-1α, MIP-1β, TNFα and IL-15 z wykorzystaniem technologii Luminex i standardowych kitów (*MILLIPLEX® Human High Sensitivity T Cell Magnetic Bead Panel, Millipore, Merck and Luminex Performance Human High Sensitivity Cytokine Panel B, R&D, Bio-Techne*), a następnie odczytano na aparacie Luminex 200 (Biorad) zgodnie z instrukcją producenta. Ponadto w tej grupie oznaczono poziom Ucn2 w surowicy, w duplikatach, wykorzystując metodę ELISA (Cloud Clone, Katy, TX,USA) zgodnie z zaleceniami producenta.

Analiza statystyczna

Analiza statystyczna wykonana została z użyciem oprogramowania Statistica wersja 12 i 13 (Statistica, StatSoft Poland, Dell. Inc) na licencji dla Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Zgodność z rozkładem normalnym zmiennych przeanalizowano za pomocą testu Shapiro-Wilka. Zmienne o charakterze ciągłym i rozkładzie zgodnym z rozkładem normalnym przedstawiono w formie średniej arytmetycznej ± odchylenie standardowe (±SD, standard deviation); zmienne o rozkładzie niezgodnym z normalnym jako mediana ± odstęp kwartylowy (dolny- górny kwartyl). Homogenność zmiennych została sprawdzona za pomocą testu Levina. Dane o częstości zostały przedstawione jako liczby i wartości procentowe, a porównania między nimi wykonano z użyciem testu Chi^2. Porównania zmiennych ciągłych pomiędzy grupami wykonane były w zależności od rozkładu zmiennych oraz liczby porównywanych grupy. Do obliczeń zmiennych o rozkładzie normalnym wykorzystano test T-studenta lub jednokierunkową ANOVA z oceną post-hoc z korektą Bonferonniego. Zmienne o rozkładzie nienormalnym porównano wykorzystując test U-Manna Whitney'a dla zmiennych nieparametrycznych. Ogólne modele linowe i testy covariancji zastosowano aby skorygować

wartość p dla płci i wieku. Korelacja między czynnikami oceniana była przy pomocy współczynnika korelacji Spearmana lub Pearsona w zależności od rozkłady zmiennych. Dla oceny predyktorów zmian badanych parametrów stosowana była wieloczynnikowa analiza regresji. Za poziom istotności statystycznej w pracy przyjęto wartość $p<0,05$. Dodatkowo obliczono także poprawkę Bonferroniego jako stosunek wartości p (0,05) i ogólnej liczby testów.

W pracy oceniającej poziom wskaźników zapalnych dodatkowo wykonano eksploracyjną analizę czynnikową (*EFA, exploratory factor analysis*) wykorzystując oprogramowanie SPSS IBM wersja 28 (*IBM Corpration, Armonk, New York*). Skonstruowano zbiorczy czynnik prozapalny (Czynnik – 1) i przeciwzapalny (Czynnik – 2) w oparciu o analizę czynnikowa, z rotacją varimax; w analizie pozostawiono tylko wskaźniki zapalne o wartości (eigenvalue) powyżej 1; minimalna wartość włączenia wynosiła 0,3; wartość Kiaser-Meyer-Olkin (KMO) została użyta do oceny adekwatności próby. Wskaźniki zapalne, które nie spełniły powyższych kryteriów lub nie zostały przyporządkowane do żadnego z czynników lub zostały przyporządkowane podwójnie wykluczyliśmy z analizy.

6. Podsumowanie wyników publikacji wchodzących w skład rozprawy

6.1 Publikacja 1

Anna Dzieża-Grudnik, Joanna Sulicka, Magdalena Strach, Olga Siga, Ewa Klimek, Mariusz Korkosz, Tomasz Grodzicki

Arterial stiffness is not increased in patients with short duration rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis

Blood Pressure, 2017, vol. 26, nr 2, s.115-121;

Blood Pressure, DOI: 10.1080/08037051.2016.1232586, IF – 2,107

Wyniki:

W badaniu udział wzięło 100 pacjentów - 26 z reumatoidalnym zapalenie stawów (RZS), 45 z zesztywniającym zapaleniem stawów kręgosłupa (ZZSK) oraz 29 zdrowych ochotników. Pacjenci z chorobami zapalnymi stawów do czasu włączenia do badania nie byli leczeni lekami modyfikującymi przebieg choroby; a czas od początku objawów do postawienia rozpoznania był stosunku krótki (około 12 miesięcy dla pacjentów z RZS, 6 lat dla pacjentów z ZSSK). Średnia wieku wyniosła odpowiednio 40 (±9,7) lat u chorych z RZS, 33 (±6,6) lata u pacjentów z ZZSK i 32 (±7,6) lata dla zdrowych ochotników. W grupie chorych na RZS dominowały kobiety (80,7% w RZS versus 13,3% w ZZSK i 44,8% w grupie zdrowych). Aktywność choroby w grupie RZS była umiarkowana (DAS28: 4,4 ±1,5) a w grupie ZZSK wskaźnik BASDAI wynosił 4,2 (±2,0).

Wartości gabinetowego ciśnienia tętniczego oraz ciśnienia centralnego we wszystkich grupach były porównywalne; ciśnienie skurczowe gabinetowe: RZS versus ZZKS versus grupa kontrolna, odpowiednio - 120±17mmHg versus 121±9mmHg versus 115±13mmHg, p=0,11;
ciśnienie rozkurczowe gabinetowe: RZS versus ZZSK versus grupa kontrolna odpowiednio – 80 [76-80] mmHg versus 80 [70-80] mmHg versus 80 [74-80] mmHg, p=0,3;
ciśnienie skurczowe centralne: RZS versus ZZKS versus grupa kontrolna, odpowiednio - 108±15,8 mmHg versus 106±8 mmHg versus 104±12 mmHg, p=0,65;
ciśnienie rozkurczowe centralne: RZS versus ZZKS versus grupa kontrolna, odpowiednio: 79±8.5mmHg versus 79±6.8mmHg versus 78±8mmHg, p=0.51;

Pomiędzy grupami nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w sztywności tętnic ocenianych zarówno prędkością fali tętna (PWV; dla RA, AS i grupy kontrolnej wynosiły one odpowiednio: 10,0 [8,8 – 10,9] m/s versus 10,7 [9,1 – 11,8] m/s versus 9,2 [8,3 – 11,4] m/s;

p=0,14), wzmocnieniem fali tętna aortalnego (AG, odpowiednio: RZS, ZSSK i kontroli: 7,8±6,3 versus 2,1±3,6 versus 3,4±3,8 mmHg, p=0,69) jak i indeksem wzmocnienia fali tętna (Alx; dla RZS, ZZSK, osób zdrowych: AG/PP – 24,3 ±11,5 versus 5,7 ±12,4 versus 10 ±12,8 %; P2/P1 – 133,7 ±22,7% versus 109,3±14,5% versus 115,5±16,6%; p=0,5).

Pacjenci w poszczególnych grupach różnili się od siebie poziomem cholesterolu HDL, kreatyniny i HbA1c. Dodatkowo u pacjentów z RZS i ZZSK podwyższone były markery stanu zapalnego tj. OB, hsCRP, IL-6, fibrynogen oraz TNFα (poziom TNFα po standaryzacji do wieku i płci ostatecznie nie różnił się w populacji osób zdrowych i chorych). Również niektóre parametry funkcji śródbłonka naczyniowego tj. PTX-3, vWF, sVCAM były podwyższone u pacjentów z zapalnymi chorobami stawów; podczas gdy poziomy IL-18 i tPA nie różniły się pomiędzy grupami.

Dodatkowo przeprowadziliśmy analizę w podgrupach – pacjentów z reumatoidalnym zapalenie stawów oraz zesztywniającym zapalenie stawów kręgosłupa podzieliliśmy na dwie grupy w zależności od wartości PWV (jako punkt odcięcia przyjęto medianę PWV liczoną w obu grupach). Chorzy zakwalifikowani do grupy z wartością PWV większą lub równą medianie tj. 10,1 m/s mieli wyższe średnie ciśnienie tętnicze (MAP, mean arterial pressure; 93 [90 – 100] mmHg w porównaniu z grupą z PWV poniżej 10,1m/s - 89 [85 – 93] mmHg; p = 0,02), wyższe ciśnienie tętna centralnego (PPC, pulse pressure central; 28 [24-34] versus 25 [22-28], p= 0,046) oraz zwiększone AG (4 [1-8] versus 2 [0,5 – 4]mmHg; p = 0,02); jednak Alx (AG/PP) i Alx (P2/P1) miały wartości porównywalne w obu grupach. Obie grupy nie różniły się poziomem wskaźników zapalnych i wskaźników aktywacji endotelium naczyniowego, nie znaleziono także korelacji pomiędzy wyżej wymienionymi wskaźnikami a parametrami sztywności naczyniowej.

6.2 Publikacja 2

Anna Dzieża-Grudnik, Olga Siga, Jolanta Walczewska, Barbara Wizner, Paweł P. Wołkow, Franz H. Messerli, Tomasz Grodzicki.

Urocortin 2 – A Protective Effect in Hypertension?

Journal of Physiology and Pharmacology, DOI:10.26402/jpp.2023.1.xx

Journal of Physiology and Pharmacology, 2023, 74.1.xx IF – 2,859

Wyniki:

Przebadano 67 pacjentów, w tym 29 zdrowych ochotników i 38 pacjentów z nadciśnieniem tętniczym świeżo rozpoznanym. Żadna z osób biorących udział w badaniu (ani zdrowych ani z grupy kontrolnej) nie stosowała dotychczas leczenia hipotensyjnego. Pacjenci z nadciśnieniem tętniczym byli w podobnym wieku co chorzy z grupy kontrolnej (43,7±11,8 lat versus 45,1±8,8 lat, p=0,6), dominowali wśród nich mężczyźni (55,3% versus 34,5%, p=0,09) ale rozkład płci był w obu grupach zbliżony. Chorzy z nadciśnieniem mieli natomiast wyższe BMI (28,3±4,0m/kg^2 versus 24,3±3,64m/kg^2, p<0,001), częściej niż w grupie kontrolnej występował u nich zespół metaboliczny (50% versus 17%, p=0,01) i mieli podwyższony poziom trójglicerydów (1,6 [1,1 – 1,9] mmol/l versus 1,0 [0,7 – 1,6] mmol/l; p=0,01). Dodatkowo charakteryzowali się niższym poziomem logUcn2 (2,09±0,63) niż zdrowi ochotnicy (2,44±0,70; p=0,04).

Średnia wartość ciśnienia skurczowego całodobowego w grupie z nadciśnieniem versus grupa zdrowa wynosiła odpowiednio 134,1 ±9,4 mmHg vs 114,6±7,3 mmHg; całodobowego rozkurczowego 85,7±9,2 mmHg vs 71,7±4,6 mmHg; dziennego skurczowego 139,4±11,0 mmHg vs 119,2±7,8 mmHg; dziennego rozkurczowego 90,4±9,9 mmHg vs 76,3±5,0 mmHg; nocnego skurczowego 121,1±7,9 mmHg vs 103,6±6,5 mmHg; nocnego rozkurczowego 74,2±9,9 mmHg vs 61,3±4,7 mmHg.

LogUcn2 w grupie chorych z nadciśnieniem tętniczym korelował ujemnie z wartościami nocnego rozkurczowego ciśnienia tętniczego, nie wykazano związku pomiędzy wartościami ciśnienia tętniczego a Ucn2 w grupie zdrowych ochotników. Analogiczna zależność pomiędzy logUcn2 a nocnym ciśnieniem rozkurczowym została potwierdzona w analizie regresji wieloczynnikowej z uwzględnieniem płci i wieku w całej grupie.

Dodatkowo przeprowadzono analizę związku urokortyny 2 z BMI oraz parametrami metabolizmu glukozy (takimi jak poziom glukozy na czczo, HbA1c, poziom insuliny oraz HOMA-IR); nie stwierdzono związku logUcn2 z obecnością otyłości, zespołu metabolicznego

lub insulinooporności. Ponadto, zaobserwowano ujemną zależność pomiędzy logUcn2 a cholesterolem całkowitym i LDL w grupie zdrowej, podobnej zależności nie stwierdzono w grupie z nadciśnieniem tętniczym. Zależność pomiędzy logUcn2 a cholesterolem całkowitym utrzymywała się po uwzględnieniu w analizie wieku, płci i obecności nadciśnienia tętniczego.

6.3 Publikacja 3

Anna Dzieża-Grudnik, Olga Siga, Jolanta Walczewska, Barbara Wizner, Tomasz Mikołajczyk, Joanna Sulicka-Grodzicka, Tomasz Grodzicki

New onset hypertension is not associated with systemic changes in inflammatory cytokine levels.

Archives of Medical science, 2023; opublikowane on-line

Archives of Medical Science. 2023. doi:10.5114/aoms/169502.

Wyniki:

Przebadaliśmy 61 osób, w tym 24 zdrowych ochotników oraz 37 osób z nadciśnieniem tętniczym świeżo rozpoznanym dotychczas nieleczonych. Rozkład płci w obu grupach był podobny, mężczyźni stanowili 37,5% grupy kontrolnej oraz 54,1% grupy z nadciśnieniem (p=0,206). Uczestnicy badania byli w podobnym wieku (45±9,6lat grupa kontrolna versus 43,8±11,9 lat pacjenci z nadciśnieniem tętniczym, p=0,683). Chorzy z nadciśnieniem tętniczym mieli wyższe BMI (28,2±4 kg/m^2 versus 24,2±3,7 kg/m^2 ; p = 0,000); średnia wartość ciśnienia tętniczego w grupie z nadciśnieniem w porównaniu z grupą zdrową wynosiła: ciśnienie skurczowe 134,2±9,5mmHg versus 114±7,1mmHg; p = 0,000; rozkurczowe 85,8±9,3mmHg versus 71,2±4,7mmHg; p = 0,000). Pomimo różnic w wartościach ciśnienia tętniczego krwi grupy nie różniły się prędkością fali tętna (pacjenci z nadciśnieniem versus zdrowi ochotnicy: 9,6 [8,6-10,3] m/s versus 8,75 [7,9 – 10,5]m/s; p=0,167) ani poziomem czynników zapalnych takich jak: TNFα, INFγ, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-21, IL-23, hs-CRP, MIP-1α, MIP-1β, MIP-3α, GM-CSF, fraktalkina, ITAC.

Stwierdziliśmy zależność pomiędzy poziomem IL-5, IL-8, hs-CRP oraz ITAC a wartościami ciśnienia tętniczego, która utraciła istotność statystyczną w analizie wieloczynnikowej, po uwzględnieniu wieku, płci i BMI.

Ponadto wykonaliśmy eksploracyjną analizę czynnikowa włączając początkowo do obliczeń 22 czynniki zapalne. W trakcie analizy jedynie 11 z nich spełniło konieczne założenia. Stworzyliśmy z nich dwa czynniki – Czynnik 1- prozapalny (zawierający: IL-1β, IL-2, IL-6, IL-7, IL-12, IL-6, IL21, TNFα, INFγ) i Czynnik 2 – przeciwzapalny (zawierający IL-13 i IL-5). Nie znaleźliśmy żadnego związku pomiędzy badanymi czynnikami a wartościami ciśnienia tętniczego krwi.

7. Omówienie wyników badań

W literaturze dostępne są liczne dane potwierdzające udział reakcji zapalnej w rozwoju nadciśnienia tętniczego w modelach zwierzęcych [6], ciągle jednak brak jest wiarygodnych danych dotyczących ludzi, a wpływ leczenia przeciwzapalnego na wartości ciśnienia tętniczego u pacjentów z przewlekłymi chorobami zapalnymi jest niejednoznaczny. Niewiele jest też prac analizujących poziom interleukin lub nowych czynników potencjalnie mogących wpływać na wartość CTK (jak Ucn2) u pacjentów z nadciśnieniem świeżo rozpoznanym i ich związku z wartościami ciśnienia tętniczego.

Mając na uwadze powyższe, celem badań była ocena związku pomiędzy różnymi czynnikami zapalnymi, wskaźnikami uszkodzenia śródbłonka i urokortyną 2 a wartościami ciśnienia tętniczego. Badania prowadziliśmy w grupie pacjentów ze świeżo rozpoznanym nadciśnieniem tętniczym oraz z przewlekłymi chorobami zapalnymi (RZS, ZZSK) o stosunkowo krótkim czasie trwania. Miało to na celu próbę ujednolicenia badanej populacji oraz w pewnym stopniu wykluczenia czynników zakłócających takich jak wpływ leków [91, 92] lub uszkodzenia nerek.

Nie wykazaliśmy obecności różnic w poziomie wskaźników zapalnych u osób zdrowych oraz z nadciśnieniem tętniczym. Nie potwierdziliśmy także różnic w wartościach ciśnienia tętniczego oraz sztywności naczyń u pacjentów różniących się wyjściowo poziomem interleukin zapalnych i czynników uszkodzenia śródbłonka wynikających z przewlekłej choroby zapalnej. Stwierdziliśmy natomiast związek pomiędzy poziomemUcn2 a wartościami ciśnienia tętniczego.

Dostępne w literaturze dane dotyczące roli poszczególnych interleukin mierzonych we krwi obwodowej w nadciśnieniu nie są jednoznaczne. Z jednej strony wykazano, że pacjenci z nadciśnieniem tętniczym dotychczas nieleczonym prezentowali wyższy poziom IL-1β [93], hs-CRP, IL-6 oraz MCP-1 [94] lub IL – 18 [95] niż osoby z grupy kontrolnej. Dodatkowo chorzy z podwyższonymi wartościami CTK, ale bez rozpoznanego nadciśnienia, charakteryzowali się podwyższonym poziomem IL-17 [77]. Madhur i wsp. [73] wykazali zwiększony poziom IL-17 w grupie chorych z nadciśnieniem, jednak badanie prowadzili na niejednorodnej grupie chorych, z cukrzycą i otyłością oraz stosujących leki.

Różnice pomiędzy naszymi wynikami a wynikami prac zacytowanych powyżej wynikać mogą między innymi z faktu, że zrekrutowani przez nas chorzy byli na wczesnym etapie rozwoju nadciśnienia, bez istotnych chorób towarzyszących (takich jak cukrzyca,

choroba niedokrwienna serca, przewlekłą choroba nerek). Być może choroba trwała u nich zbyt krótko, za czym przemawia brak powikłań narządowych nadciśnienia w postaci zwiększonej sztywności naczyń (cfPWV 8,75 [7,9 – 10,5] m/s w porównaniu z 9,6 [8,6 – 10,3] m/s, p = 0,17; odpowiednio pacjenci z normotensją i nadciśnieniem). W związku z powyższym, zaryzykować można stwierdzenie, że brak różnic pomiędzy grupami w naszej pracy wynikać może z małego nasilenia stanu zapalnego na tym etapie choroby. Sam proces zapalny toczy się głównie lokalnie, w obrębie śródbłonka naczyniowego i nerek i może nie być on w pełni odzwierciedlony przez ogólnoustrojowy poziom cytokin zapalnych.

Z drugiej jednak strony dostępne są również badania wskazujące na porównywalny poziom wskaźników zapalnych (np. IL- 6) u osób zdrowych i z nadciśnieniem tętniczym świeżo rozpoznanym, co jest zgodne z naszymi obserwacjami [96]. Warto zauważyć także, że dostępne są badania na dużych populacjach, które wykazują związek cytokin zapalnych nie z samą wartością ciśnienia tętniczego ale z jego zmianą na przestrzeni lat. W metaanalizie Jayedi i wsp. [97] dowiedli istnienia zależności pomiędzy markerami stanu zapalnego (hsCRP i IL-6) a ryzykiem rozwoju nadciśnienia tętniczego, natomiast nie stwierdzili takiego związku w przypadku IL-1β. Analogicznie, 4,5 letnia analiza [98] potwierdziła zależność pomiędzy czynnikami zapalnymi pogrupowanymi w klastery a zmianą wartości ciśnienia tętniczego w trakcie trwania obserwacji, a nie samą wyjściową wartością ciśnienia. Wyniki te mogą sugerować, że istotny nie jest sam poziom cytokin w danej chwili, a ich zmiana w czasie. Przeprowadzenie podobnej analizy w przypadku naszej pracy nie jest możliwe, gdyż nasz projekt był badaniem przekrojowym, a więc bez możliwości oceny zmiany parametrów w czasie.

Prezentowane wyniki nie wykluczają jednak, że w rozwoju nadciśnienia bierze udział układ immunologiczny. Cytokiny produkowane lokalnie przez śródbłonek mogą nie być w pełni reprezentowane w innych lokalizacjach, a na wynik ich pomiaru wpływać może wiele czynników takich jak: krótki okres półtrwania cytokin, ich wiązanie z rozpuszczalnymi receptorami lub potencjalna degradacja; część interleukin może ulec także zniszczeniu podczas procesu przygotowania próbek do analizy co dodatkowo utrudnia ich badanie i interpretację uzyskanych wyników [99]. Dodatkowo na poziom interleukin mogą mieć także wpływ zmienne osobnicze takie jak styl życia pacjenta, narażenie na zanieczyszczenia powietrza, stres czy aktywność fizyczna [100].

Ocena poziomu niektórych interleukin zapalnych jest powszechnie wykorzystywana w różnych analizach i wydaje się być w dużym stopniu niezależnym od tradycyjnych czynników ryzyka predyktorem wielu chorób (często wykorzystywaną w ocenie ryzyka zachorowania o

podobnym znaczeniu co otyłość, palenie tytoniu lub cukrzyca) o porównywalnym potencjalne prognostycznym w czasie[100]. Biorąc pod uwagę złożoność stanu zapalnego, być może w przewidywaniu rozwoju chorób - w tym chorób sercowo-naczyniowych - większe znaczenie będzie mieć ocena trendów i zmian w poziomie interleukin zapalnych u danego pacjenta, niż poszukiwanie populacyjnych różnic i ustalanie sztywnych zakresów referencyjnych.

Nieco odmienną kwestią jest wpływ Ucn2 na regulację ciśnienia tętniczego krwi. W naszej pracy wykazaliśmy jedynie różnicę w poziomie logUcn2 (grupa z nadciśnieniem tętniczym świeżo wykrytym cechowała się poziomem niższym niż grupa kontrolna). W analogicznej pracy oceniającej poziom Ucn2 [72] u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym uzyskano wyniki sprzeczne z naszymi, jednak warto podkreślić, ze we wspomnianej pracy analizie poddano chorych już w trakcie leczenia hipotensyjnego co mogło w istotny sposób wpływać na poziom Ucn2 [91].

Mamy również świadomość licznych ograniczeń prowadzonych przez nas badań. Głównym z nich jest niewielka liczebność grupy z nadciśnieniem tętniczym świeżo rozpoznanym, co mogło wpływać na interpretację przedstawionych przez nas wyników. Dodatkowo prezentowane prace mają charakter przekrojowy, co uniemożliwia ocenę związku przyczynowo skutkowego. Dodatkowo pacjenci z chorobami zapalnymi stawów nie mieli wykonywanego ABPM tylko pomiary gabinetowe ciśnienia tętniczego, co uniemożliwia pełną analizę wartości ciśnienia tętniczego oraz jego zmienności. Warto również wspomnieć, że oznaczenia wskaźników zapalnych były wykonywane jedynie jednorazowo.

Podsumowując, odkrywanie nowych mechanizmów i cząstek zaangażowanych w regulację wartości ciśnienia tętniczego krwi przyczyni się do skuteczniejszego leczenia nadciśnienia tętniczego i przeciwdziałania jego powikłaniom. Dodatkowo dokładne poznanie mechanizmów immunologicznych zaangażowanych w utrzymanie wysokich wartości ciśnienia być może pozwoli na personalizację leczenia nadciśnienia tętniczego na przykład nadciśnienia opornego.

8. Wnioski

Przeprowadzone analizy pozwoliły na zweryfikowanie hipotez badawczych:

1. Pacjenci ze świeżo rozpoznanym nadciśnieniem tętniczym charakteryzują się porównywalnym do osób zdrowych stężeniem markerów zapalnych ocenianych we krwi żylnej. Nie stwierdzono związku pomiędzy wskaźnikami zapalnymi i wartościami ciśnienia tętniczego krwi.
2. Osoby z świeżo rozpoznanym nadciśnieniem charakteryzują się obniżonym poziomem urokortyny 2 w porównaniu z osobami zdrowymi, a poziom Ucn2 wykazuje niezależny od wieku i płci związek z wartościami rozkurczowego ciśnienia nocnego w grupie pacjentów z nadciśnieniem.
3. Pacjenci z przewlekłymi chorobami zapalnymi stawów o krótkim czasie trwania, pomimo wyższych wartości wskaźników zapalnych oraz obecności cech uszkodzenia śródbłonka, nie różnią się wartościami ciśnienia tętniczego krwi ani sztywnością naczyń w porównaniu z osobami zdrowymi.

Na podstawie uzyskanych wyników sformułowano ponadto następujące wnioski:

1. Nasilenie subklinicznego stanu zapalnego ocenianego przy pomocy poziomu wybranych cytokin mierzonych w krwi obwodowej nie wykazuje związku z wartościami ciśnienia tętniczego u chorych ze świeżo rozpoznanym nadciśnieniem tętniczym i chorobami zapalnymi stawów o krótkim czasie trwania.
2. Ucn2 może mieć wpływ na regulację wartości ciśnienia tętniczego krwi.

9. Streszczenie w języku polskim

Wprowadzenie:

Nadciśnienie tętnicze jest jedną z najczęstszych chorób na świecie. Do uznanych, klasycznych, czynników biorących udział w rozwoju nadciśnienia pierwotnego należy nadmierna aktywność układu renina-angiotensyna-aldosteron i układu współczulnego. Coraz mocniej podkreśla się również udział układu immunologicznego w rozwoju nadciśnienia tętniczego i jego powikłań. Pomimo licznych dowodów w badaniach przedklinicznych na wpływ zapalenia na śródbłonek naczyniowy i wartości ciśnienia tętniczego krwi, brak jest prac oceniających związek interleukin zapalnych z wartościami ciśnienia tętniczego zarówno w zapalnych chorobach przewlekłych jak i samym nadciśnieniu tętniczym. Dodatkowo, poza interleukinami zapalnymi wpływać na rozwój nadciśnienia i regulację wartości ciśnienia krwi mogą także nowe czynniki takie jak urokortyna 2.

Cel pracy:

Celem pracy była ocena zależności pomiędzy markerami stanu zapalnego a wartościami ciśnienia tętniczego oraz określenie związku pomiędzy stanem zapalnym a nadciśnieniem tętniczym i sztywnością naczyń w przewlekłych chorobach zapalnych na przykładzie reumatoidalnego zapalenia stawów i zesztywniającego zapalenia stawów kręgosłupa.

Dodatkowo chcieliśmy także określić zależności pomiędzy wartościami ciśnienia tętniczego krwi a poziomem Ucn2, peptydu o postulowanym działaniu wazodylatacyjnym.

Materiały i metody:

Przebadano łącznie 177 pacjentów w dwóch odrębnych populacjach. Grupę pierwszą stanowili chorzy na choroby zapalne stawów takie jak: reumatoidalne zapalenie stawów (26 pacjentów) i zesztywniające zapalenie stawów kręgosłupa (45 pacjentów) oraz grupa kontrolna (29 pacjentów). Drugą grupą byli chorzy z nadciśnieniem tętniczym świeżo rozpoznanym (38 pacjentów) oraz grupa kontrolna (29 pacjentów). Od każdego z pacjentów w obu grupach uzyskano informację o chorobach towarzyszących, stosowanych lekach, paleniu tytoniu, obciążeniach rodzinnych w zakresie chorób układu sercowo- naczyniowego, przeprowadzono badanie fizykalne, wykonano pomiary antropometryczne oraz parametrów życiowych.

Pacjenci z chorobami zapalnymi stawów mieli dodatkowo wykonaną ocenę aktywności choroby: chorzy z RZS – DAS 28; chorzy z ZZSK – BASDAI; natomiast pacjentom z

nadciśnieniem tętniczym wykonano dodatkowo całodobowe monitorowanie ciśnienia tętniczego krwi.

Ponadto oceniono sztywność naczyń oraz wykonano badania laboratoryjne, w tym ocenę poziomu interleukin zapalnych oraz wskaźników dysfunkcji śródbłonka naczyniowego. W grupie pacjentów z chorobami zapalnymi stawów i w grupie kontrolnej oceniono poziom: IL-6, IL-18, TNFα, fibrynogenu, pentraksyny 3, sICAM, sVCAM, E-selektyny, vWF, tkankowego aktywatora plazminogenu, fibrynogenu. W grupie pacjentów z nadciśnieniem tętniczym świeżo rozpoznanym oraz w grupie kontrolnej oceniono poziom: ITAC, GM-CSF, fractalkiny, IFN-γ, IL-10, MIP-3α, IL-12, IL-13, IL-17A, IL-1β, IL-2, IL-21, IL-23, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, MIP-1α, MIP-1β, TNFα, IL-15 i Ucn2.

Analizę statystyczną przeprowadzono z wykorzystaniem oprogramowania Statistica wersja12 i 13 oraz SPSS IBM wersja 28.

Wyniki:

Populacja pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów, zesztywniającym zapaleniem stawów kręgosłupa oraz grupa kontrolna.

Wartości gabinetowego ciśnienia tętniczego oraz ciśnienia centralnego we wszystkich grupach były porównywalne. Pomiędzy grupami nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w sztywności tętnic ocenianych zarówno prędkością fali tętna, wzmocnieniem fali tętna aortalnego jak i indeksem wzmocnienia fali tętna.

Pacjenci w poszczególnych grupach różnili się od siebie poziomem cholesterolu HDL, kreatyniny i HbA1c. Dodatkowo u pacjentów z RZS i ZZSK podwyższone były markery stanu zapalnego tj. OB, hsCRP, IL-6, fibrynogen oraz TNFα (poziom TNFα po standaryzacji do wieku i płci ostatecznie nie różnił się w populacji osób zdrowych i chorych). Również niektóre parametry funkcji śródbłonka naczyniowego tj. PTX-3, vWF, sVCAM były podwyższone u pacjentów z zapalnymi chorobami stawów; podczas gdy poziomy IL-18 i tPA nie różniły się pomiędzy grupami.

Populacja pacjentów z nadciśnieniem tętniczym świeżo rozpoznanym oraz grupa kontrolna.

Pacjenci z nadciśnieniem tętniczym charakteryzowali się niższym poziomem logUcn2 (2,09±0,63) niż zdrowi ochotnicy (2,44±0,70; p=0,04).

LogUcn2 w grupie chorych z nadciśnieniem tętniczym korelował ujemnie z wartościami nocnego rozkurczowego ciśnienia tętniczego, nie wykazano związku pomiędzy wartościami

ciśnienia tętniczego a Ucn2 w grupie zdrowych ochotników. Analogiczna zależność pomiędzy logUcn2 a nocnym ciśnieniem rozkurczowym została potwierdzona w analizie regresji wieloczynnikowej z uwzględnieniem płci i wieku w całej grupie.

Dodatkowo nie stwierdzono związku logUcn2 z obecnością otyłości, zespołu metabolicznego lub insulinooporności. Zaobserwowano natomiast ujemną zależność pomiędzy logUcn2 a cholesterolem całkowitym i LDL w grupie zdrowej, podobnej zależności nie stwierdzono w grupie z nadciśnieniem tętniczym. Zależność pomiędzy logUcn2 a cholesterolem całkowitym utrzymywała się po uwzględnieniu w analizie wieku, płci i obecności nadciśnienia tętniczego.

Pomimo różnic w wartościach ciśnienia tętniczego krwi grupy pacjentów z nadciśnieniem i zdrowych ochotników nie różniły się prędkością fali tętna (pacjenci z nadciśnieniem versus zdrowi ochotnicy: 9,6 [8,6-10,3] m/s versus 8,75 [7,9 – 10,5]ms; p=0,167) ani poziomem czynników zapalnych takich jak: TNFα, INFγ, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-21, IL-23, hs-CRP, MIP-1α, MIP-1β, MIP-3α, GM-CSF, fraktalkina, ITAC.

Stwierdzono zależność pomiędzy poziomem IL-5, IL-8, hs-CRP oraz ITAC a wartościami ciśnienia tętniczego, która utraciła istotność statystyczną w analizie wieloczynnikowej, po uwzględnieniu wieku, płci i BMI.

Z markerów zapalnych stworzono dwa czynniki – czynnik 1- prozapalny (zawierający: IL-1β, IL-2, IL-6, IL-7, IL-12, IL-6, IL21, TNFα, INFγ) i czynnik 2 – przeciwzapalny (zawierający IL-13 i IL-5). Nie znaleźliśmy żadnego związku pomiędzy badanymi czynnikami a wartościami ciśnienia tętniczego krwi.

Wnioski:

Pacjenci ze świeżo rozpoznanym nadciśnieniem tętniczym charakteryzują się porównywalnym do osób zdrowych stężeniem markerów zapalnych ocenianych we krwi żylnej. Nie stwierdzono związku pomiędzy wskaźnikami zapalnymi i wartościami ciśnienia tętniczego krwi.

Pacjenci z przewlekłymi chorobami zapalnymi stawów o krótkim czasie trwania, pomimo wyższych wartości wskaźników zapalnych oraz obecności cech uszkodzenia śródbłonka, nie różnią się wartościami ciśnienia tętniczego krwi ani sztywnością naczyń w porównaniu z osobami zdrowymi.

Osoby ze świeżo rozpoznanym nadciśnieniem charakteryzują się obniżonym poziomem urokortyny 2 w porównaniu z osobami zdrowymi, a poziom Ucn2 wykazuje

niezależny od wieku i płci związek z wartościami rozkurczowego ciśnienia nocnego w grupie pacjentów z nadciśnieniem.

10. Streszczenie w języku angielskim

Introduction

Hypertension is one of the most common diseases in the world. Among the established classic factors involved in the development of primary hypertension are the excessive activity of the renin-angiotensin-aldosterone system and the sympathetic nervous system. The involvement of the immune system in the development of hypertension and its complications is also increasingly emphasized. Despite abundant evidence in preclinical studies of the effects of inflammation on vascular endothelium and blood pressure values, there is a lack of work evaluating the association of inflammatory interleukins with blood pressure values in both chronic inflammatory diseases and hypertension itself. In addition to inflammatory interleukins, new factors such as urocortin 2 may also influence the development of hypertension and the regulation of blood pressure values.

Aims of the study

The purpose of this study was to evaluate the relationship between inflammatory markers and blood pressure values, and to determine the relationship between inflammation and hypertension and vascular stiffness in chronic inflammatory diseases using rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis as examples. In addition, we also wanted to determine the relationship between blood pressure values and levels of Ucn2, a peptide with postulated vasodilatory effects.

Materials and Methods:

A total of 177 patients were studied in two distinct populations. The first group consisted of patients with inflammatory joint diseases such as rheumatoid arthritis (26 patients) and ankylosing spondylitis (45 patients) and a control group (29 patients). The second group consisted of newly diagnosed hypertension patients (38 patients) and the control group (29 patients). Information about concomitant diseases, medications, smoking, family history of cardiovascular disease, physical examination, anthropometric measurements and vital signs were obtained from each patient in both groups.

Patients with inflammatory joint diseases had an additional disease activity assessment performed: patients with RA - DAS 28; patients with AS - BASDAI; while patients with hypertension had an additional 24-hour blood pressure monitoring performed.

Additionally, vascular stiffness was assessed and laboratory tests were performed, including evaluation of inflammatory interleukins and indices of vascular endothelial dysfunction. The levels of IL-6, IL-18, TNFα, fibrinogen, pentraxin 3, sICAM, sVCAM, E-selectin, vWF, tissue plasminogen activator, fibrinogen were evaluated in the group of patients with inflammatory joint disease and in the control group. The levels of ITAC, GM-CSF, Fractaline, IFNγ, IL-10, MIP-3α, IL-12, IL-13, IL-17A, IL-1β, IL-2, IL-21, IL-23, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, MIP-1α, MIP-1β, TNFα, IL-15, Ucn2 were evaluated in the group of patients with newly diagnosed hypertension and in the control group. Statistical analysis was performed using Statistica version12 and 13 and SPSS IBM version 28 software.

Results:

The population of patients with rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis, and the control group.

The values of office blood pressure and central pressure in all groups were comparable. There were no statistically significant differences between the groups in arterial stiffness as assessed by pulse wave velocity, aortic pulse wave augmentation and pulse wave augmentation index.

The patients in each group differed in HDL cholesterol, creatinine, and HbA1c levels. Furthermore, inflammatory markers, that is, ESR, hsCRP, IL-6, fibrinogen, and TNFα were elevated in patients with RA and AS (TNFα level, after adjustment to age and sex, ultimately did not differ between the groups). Additionally, some parameters of vascular endothelial function, like PTX-3, vWF, sVCAM were elevated in patients with inflammatory arthritis; while IL-18 and tPA levels did not differ between groups.

The population of patients with newly diagnosed hypertension and the control group.

Hypertensive patients had lower logUcn2 levels (2.09±0.63) than healthy volunteers (2.44±0.70; p=0.04).

LogUcn2 in the hypertensive group correlated negatively with values of nocturnal diastolic blood pressure, while no relationship was shown between blood pressure values and Ucn2 in the group of healthy volunteers. An analogous relationship between logUcn2 and nocturnal diastolic blood pressure was confirmed in multivariate regression analysis with gender and age in the whole group.

Furthermore, there was no association of logUcn2 with the presence of obesity, metabolic syndrome, or insulin resistance. However, a negative relationship was observed between

logUcn2 and total and LDL cholesterol in the healthy group; a similar relationship was not found in the hypertensive group. The relationship between logUcn2 and total cholesterol persisted when age, sex, and the presence of hypertension were included in the analysis.

Despite differences in blood pressure values, the groups did not differ in pulse wave velocity (hypertensive patients versus healthy volunteers: 9.6 [8.6-10.3] m/s versus 8.75 [7.9 - 10.5]ms; p=0.167) or the level of inflammatory factors such as: TNFα, INFγ, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-21, IL-23, hs-CRP, MIP-1α, MIP-1β, MIP-3α, GM-CSF, fractalkine, ITAC.

There was a correlation between IL-5, IL-8, hs-CRP, and ITAC levels and blood pressure values, but after adjusting for age, sex and BMI the association were no longer statistically significant.

Two factors were created: Factor 1- pro-inflammatory (containing IL-1β, IL-2, IL-6, IL-7, IL-12, IL-6, IL21, TNFα, INFγ) and Factor 2 anti-inflammatory (containing IL-13 and IL-5). We found no association between the Factors and the blood pressure values.

Conclusions

The levels of inflammatory makers in patients with newly diagnosed hypertension are comparable to those in healthy control group. We do not find any relation between inflammatory indices and blood pressure values.

Patients with short duration chronic inflammatory joint diseases, despite higher values of inflammatory indices and the presence of endothelial dysfunction markers, do not differ in blood pressure values or vascular stiffness compared to healthy subjects.

Subjects with newly diagnosed hypertension have reduced urocortin 2 levels compared to healthy subjects, and Ucn2 levels exhibit an age- and sex-independent association with diastolic nocturnal blood pressure values in hypertensive patients.

11. Wykaz cytowanego piśmiennictwa

1. Zhou, B., et al., Global epidemiology, health burden and effective interventions for elevated blood pressure and hypertension. Nat Rev Cardiol, 2021. 18(11): p. 785-802.
2. Collaborators, G.B.D.R.F., Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet, 2018. 392(10159): p. 1923-1994.
3. Collaboration, N.C.D.R.F., Worldwide trends in hypertension prevalence and progress in treatment and control from 1990 to 2019: a pooled analysis of 1201 population-representative studies with 104 million participants. Lancet, 2021. 398(10304): p. 957-980.
4. Williams, B., et al., 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. J Hypertens, 2018. 36(10): p. 1953-2041.
5. Tanase, D.M., et al., Arterial Hypertension and Interleukins: Potential Therapeutic Target or Future Diagnostic Marker? Int J Hypertens, 2019. 2019: p. 3159283.
6. Drummond, G.R., et al., Immune mechanisms of hypertension. Nat Rev Immunol, 2019. 19(8): p. 517-532.
7. Ebringer, A. and A.E. Doyle, Raised serum IgG levels in hypertension. Br Med J, 1970. 2(5702): p. 146-8.
8. Suryaprabha, P., T. Padma, and U.B. Rao, Increased serum IgG levels in essential hypertension. Immunol Lett, 1984. 8(3): p. 143-5.
9. Ji, Q., et al., Circulating Th1, Th2, and Th17 Levels in Hypertensive Patients. Dis Markers, 2017. 2017: p. 7146290.
10. Itani, H.A., et al., Activation of Human T Cells in Hypertension: Studies of Humanized Mice and Hypertensive Humans. Hypertension, 2016. 68(1): p. 123-32.
11. Shao, J., et al., Imbalance of T-cell subsets in angiotensin II-infused hypertensive rats with kidney injury. Hypertension, 2003. 42(1): p. 31-8.
12. Crowley, S.D., et al., Lymphocyte responses exacerbate angiotensin II-dependent hypertension. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2010. 298(4): p. R1089-97.
13. Guzik, T.J., et al., Role of the T cell in the genesis of angiotensin II induced hypertension and vascular dysfunction. J Exp Med, 2007. 204(10): p. 2449-60.

14. Siedlinski, M., et al., White Blood Cells and Blood Pressure: A Mendelian Randomization Study. Circulation, 2020. 141(16): p. 1307-1317.
15. Harrison, D.G., et al., Role of the adaptive immune system in hypertension. Curr Opin Pharmacol, 2010. 10(2): p. 203-7.
16. Kirabo, A., et al., DC isoketal-modified proteins activate T cells and promote hypertension. J Clin Invest, 2014. 124(10): p. 4642-56.
17. Rizzoni, D., et al., Immune System and Microvascular Remodeling in Humans. Hypertension, 2022. 79(4): p. 691-705.
18. Bomfim, G.F., et al., Toll-like receptor 4 contributes to blood pressure regulation and vascular contraction in spontaneously hypertensive rats. Clin Sci (Lond), 2012. 122(11): p. 535-43.
19. Mikolajczyk, T.P. and T.J. Guzik, Adaptive Immunity in Hypertension. Curr Hypertens Rep, 2019. 21(9): p. 68.
20. Nair, A.R., et al., Angiotensin II-induced hypertensive renal inflammation is mediated through HMGB1-TLR4 signaling in rat tubulo-epithelial cells. Exp Cell Res, 2015. 335(2): p. 238-47.
21. McCarthy, C.G., et al., Circulating mitochondrial DNA and Toll-like receptor 9 are associated with vascular dysfunction in spontaneously hypertensive rats. Cardiovasc Res, 2015. 107(1): p. 119-30.
22. Kim, S., et al., Imbalance of gut microbiome and intestinal epithelial barrier dysfunction in patients with high blood pressure. Clin Sci (Lond), 2018. 132(6): p. 701-718.
23. Mazzali, M., et al., Elevated uric acid increases blood pressure in the rat by a novel crystal-independent mechanism. Hypertension, 2001. 38(5): p. 1101-6.
24. Duewell, P., et al., NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. Nature, 2010. 464(7293): p. 1357-61.
25. Krishnan, S.M., et al., Inflammasome activity is essential for one kidney/deoxycorticosterone acetate/salt-induced hypertension in mice. Br J Pharmacol, 2016. 173(4): p. 752-65.
26. Ren, X.S., et al., NLRP3 Gene Deletion Attenuates Angiotensin II-Induced Phenotypic Transformation of Vascular Smooth Muscle Cells and Vascular Remodeling. Cell Physiol Biochem, 2017. 44(6): p. 2269-2280.
27. Itani, H.A., et al., CD70 Exacerbates Blood Pressure Elevation and Renal Damage in Response to Repeated Hypertensive Stimuli. Circ Res, 2016. 118(8): p. 1233-43.

28. Trott, D.W., et al., Oligoclonal CD8+ T cells play a critical role in the development of hypertension. Hypertension, 2014. 64(5): p. 1108-15.
29. Liu, Y., et al., CD8(+) T cells stimulate Na-Cl co-transporter NCC in distal convoluted tubules leading to salt-sensitive hypertension. Nat Commun, 2017. 8: p. 14037.
30. Wu, Y.L., et al., gammadelta T cells and their potential for immunotherapy. Int J Biol Sci, 2014. 10(2): p. 119-35.
31. Caillon, A., et al., gammadelta T Cells Mediate Angiotensin II-Induced Hypertension and Vascular Injury. Circulation, 2017. 135(22): p. 2155-2162.
32. Liao, Y.H., et al., Autoantibodies against AT1-receptor and alpha1-adrenergic receptor in patients with hypertension. Hypertens Res, 2002. 25(4): p. 641-6.
33. Luther, H.P., V. Homuth, and G. Wallukat, Alpha 1-adrenergic receptor antibodies in patients with primary hypertension. Hypertension, 1997. 29(2): p. 678-82.
34. Chen, X.H., et al., Deficiency of Complement C3a and C5a Receptors Prevents Angiotensin II-Induced Hypertension via Regulatory T Cells. Circ Res, 2018. 122(7): p. 970-983.
35. Zhao, H., et al., Angiotensin II induces TSLP via an AT1 receptor/NF-KappaB pathway, promoting Th17 differentiation. Cell Physiol Biochem, 2012. 30(6): p. 1383-97.
36. Katsuki, M., et al., Decreased proportion of Foxp3+ CD4+ regulatory T cells contributes to the development of hypertension in genetically hypertensive rats. J Hypertens, 2015. 33(4): p. 773-83; discussion 783.
37. Kasal, D.A., et al., T regulatory lymphocytes prevent aldosterone-induced vascular injury. Hypertension, 2012. 59(2): p. 324-30.
38. Barhoumi, T., et al., T regulatory lymphocytes prevent angiotensin II-induced hypertension and vascular injury. Hypertension, 2011. 57(3): p. 469-76.
39. Wang, H.X., et al., CD1d-dependent natural killer T cells attenuate angiotensin II-induced cardiac remodelling via IL-10 signalling in mice. Cardiovasc Res, 2019. 115(1): p. 83-93.
40. Shah, K.H., et al., Myeloid Suppressor Cells Accumulate and Regulate Blood Pressure in Hypertension. Circ Res, 2015. 117(10): p. 858-69.
41. Czesnikiewicz-Guzik, M., et al., Th1-type immune responses to Porphyromonas gingivalis antigens exacerbate angiotensin II-dependent hypertension and vascular dysfunction. Br J Pharmacol, 2019. 176(12): p. 1922-1931.
42. Visseren, F.L.J., et al., 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. Eur Heart J, 2021. 42(34): p. 3227-3337.

43. Kremers, H.M., et al., High ten-year risk of cardiovascular disease in newly diagnosed rheumatoid arthritis patients: a population-based cohort study. Arthritis Rheum, 2008. 58(8): p. 2268-74.
44. Mathieu, S., P. Motreff, and M. Soubrier, Spondyloarthropathies: an independent cardiovascular risk factor? Joint Bone Spine, 2010. 77(6): p. 542-5.
45. Han, C., et al., Cardiovascular disease and risk factors in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis. J Rheumatol, 2006. 33(11): p. 2167-72.
46. Small, H.Y., et al., Hypertension: Focus on autoimmunity and oxidative stress. Free Radic Biol Med, 2018. 125: p. 104-115.
47. Murray, E.C., et al., Therapeutic targeting of inflammation in hypertension: from novel mechanisms to translational perspective. Cardiovasc Res, 2021. 117(13): p. 2589-2609.
48. Herrera, J., et al., Mycophenolate mofetil treatment improves hypertension in patients with psoriasis and rheumatoid arthritis. J Am Soc Nephrol, 2006. 17(12 Suppl 3): p. S218-25.
49. Zhao, Q., et al., Association between anti-TNF therapy for rheumatoid arthritis and hypertension: a meta-analysis of randomized controlled trials. Medicine (Baltimore), 2015. 94(14): p. e731.
50. Rothman, A.M., et al., Effects of Interleukin-1beta Inhibition on Blood Pressure, Incident Hypertension, and Residual Inflammatory Risk: A Secondary Analysis of CANTOS. Hypertension, 2020. 75(2): p. 477-482.
51. Adao, R., et al., Urocortin 2 in cardiovascular health and disease. Drug Discov Today, 2015. 20(7): p. 906-14.
52. Rademaker, M.T., et al., Prolonged urocortin 2 administration in experimental heart failure: sustained hemodynamic, endocrine, and renal effects. Hypertension, 2011. 57(6): p. 1136-44.
53. Bale, T.L., et al., The cardiovascular physiologic actions of urocortin II: acute effects in murine heart failure. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. 101(10): p. 3697-702.
54. Davis, M.E., et al., Urocortin 2 infusion in human heart failure. Eur Heart J, 2007. 28(21): p. 2589-97.
55. Davis, M.E., et al., Urocortin 2 infusion in healthy humans: hemodynamic, neurohormonal, and renal responses. J Am Coll Cardiol, 2007. 49(4): p. 461-71.
56. Brar, B.K., et al., Urocortin protects against ischemic and reperfusion injury via a MAPK-dependent pathway. J Biol Chem, 2000. 275(12): p. 8508-14.
57. Venkatasubramanian, S., et al., Vascular effects of urocortins 2 and 3 in healthy volunteers. J Am Heart Assoc, 2013. 2(1): p. e004267.

58. Dieterle, T., et al., Immediate and sustained blood pressure lowering by urocortin 2: a novel approach to antihypertensive therapy? Hypertension, 2009. 53(4): p. 739-44.
59. Chen, C.Y., et al., Intravenous urocortin II decreases blood pressure through CRF(2) receptor in rats. Regul Pept, 2003. 113(1-3): p. 125-30.
60. Wiley, K.E. and A.P. Davenport, CRF2 receptors are highly expressed in the human cardiovascular system and their cognate ligands urocortins 2 and 3 are potent vasodilators. Br J Pharmacol, 2004. 143(4): p. 508-14.
61. Chan, W.Y., et al., Urocortin-2 infusion in acute decompensated heart failure: findings from the UNICORN study (urocortin-2 in the treatment of acute heart failure as an adjunct over conventional therapy). JACC Heart Fail, 2013. 1(5): p. 433-41.
62. Chen, Z.W., et al., Urocortin-induced relaxation in the human internal mammary artery. Cardiovasc Res, 2005. 65(4): p. 913-20.
63. Huang, Y., et al., Urocortin-induced endothelium-dependent relaxation of rat coronary artery: role of nitric oxide and K+ channels. Br J Pharmacol, 2002. 135(6): p. 1467-76.
64. Grossini, E., et al., Urocortin II induces nitric oxide production through cAMP and Ca2+ related pathways in endothelial cells. Cell Physiol Biochem, 2009. 23(1-3): p. 87-96.
65. Rademaker, M.T. and A.M. Richards, Urocortins: Actions in health and heart failure. Clin Chim Acta, 2017. 474: p. 76-87.
66. Huang, Y., et al., Roles of cyclic AMP and Ca2+-activated K+ channels in endothelium-independent relaxation by urocortin in the rat coronary artery. Cardiovasc Res, 2003. 57(3): p. 824-33.
67. Kageyama, K., et al., Vasodilative effects of urocortin II via protein kinase A and a mitogen-activated protein kinase in rat thoracic aorta. J Cardiovasc Pharmacol, 2003. 42(4): p. 561-5.
68. Rademaker, M.T., et al., Urocortin 2 combined with angiotensin-converting enzyme inhibition in experimental heart failure. Clin Sci (Lond), 2008. 114(10): p. 635-42.
69. Gu, Y., et al., Urocortin 2 lowers blood pressure and reduces plasma catecholamine levels in mice with hyperadrenergic activity. Endocrinology, 2010. 151(10): p. 4820-9.
70. Rademaker, M.T., et al., Endogenous urocortins reduce vascular tone and renin-aldosterone/endothelin activity in experimental heart failure. Eur Heart J, 2005. 26(19): p. 2046-54.
71. Topal, E., et al., Relationship of urocortin-2 with systolic and diastolic functions and coronary artery disease: an observational study. Anadolu Kardiyol Derg, 2012. 12(2): p. 115-20.

72. Aslan, G. and S. Aytekin, Evaluation of Serum Urocortin 2 Levels in Patients with Hypertension. High Blood Press Cardiovasc Prev, 2020.
73. Madhur, M.S., et al., Interleukin 17 promotes angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction. Hypertension, 2010. 55(2): p. 500-7.
74. Nguyen, H., et al., Interleukin-17 causes Rho-kinase-mediated endothelial dysfunction and hypertension. Cardiovasc Res, 2013. 97(4): p. 696-704.
75. Wu, J., et al., Inflammation and mechanical stretch promote aortic stiffening in hypertension through activation of p38 mitogen-activated protein kinase. Circ Res, 2014. 114(4): p. 616-25.
76. Saleh, M.A., A.E. Norlander, and M.S. Madhur, Inhibition of Interleukin 17-A but not Interleukin-17F Signaling Lowers Blood Pressure and Reduces End-organ Inflammation in Angiotensin II-induced Hypertension. JACC Basic Transl Sci, 2016. 1(7): p. 606-616.
77. Yao, W., et al., Elevated Serum Level of Interleukin 17 in a Population With Prehypertension. J Clin Hypertens (Greenwich), 2015. 17(10): p. 770-4.
78. McMaster, W.G., et al., Inflammation, immunity, and hypertensive end-organ damage. Circ Res, 2015. 116(6): p. 1022-33.
79. Marko, L., et al., Interferon-gamma signaling inhibition ameliorates angiotensin II-induced cardiac damage. Hypertension, 2012. 60(6): p. 1430-6.
80. Neumann, P., N. Gertzberg, and A. Johnson, TNF-alpha induces a decrease in eNOS promoter activity. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2004. 286(2): p. L452-9.
81. Sriramula, S., et al., Involvement of tumor necrosis factor-alpha in angiotensin II-mediated effects on salt appetite, hypertension, and cardiac hypertrophy. Hypertension, 2008. 51(5): p. 1345-51.
82. Korim, W.S., et al., In renovascular hypertension, TNF-alpha type-1 receptors in the area postrema mediate increases in cardiac and renal sympathetic nerve activity and blood pressure. Cardiovasc Res, 2019. 115(6): p. 1092-1101.
83. Luther, J.M., et al., Angiotensin II induces interleukin-6 in humans through a mineralocorticoid receptor-dependent mechanism. Hypertension, 2006. 48(6): p. 1050-7.
84. Lee, D.L., et al., Angiotensin II hypertension is attenuated in interleukin-6 knockout mice. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006. 290(3): p. H935-40.
85. Kassan, M., et al., Interleukin-10 released by CD4(+)CD25(+) natural regulatory T cells improves microvascular endothelial function through inhibition of NADPH oxidase activity in hypertensive mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011. 31(11): p. 2534-42.

86. Lima, V.V., et al., Interleukin-10 limits increased blood pressure and vascular RhoA/Rho-kinase signaling in angiotensin II-infused mice. Life Sci, 2016. 145: p. 137-43.
87. Jiang, L., et al., PD-1/PD-L1 regulates Treg differentiation in pregnancy-induced hypertension. Braz J Med Biol Res, 2018. 51(8): p. e7334.
88. Williams, B., et al., 2018 Practice Guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. Blood Press, 2018. 27(6): p. 314-340.
89. O'Brien, E., et al., Accuracy of the SpaceLabs 90207 determined by the British Hypertension Society protocol. J Hypertens, 1991. 9(6): p. 573-4.
90. Van Bortel, L.M., et al., Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. J Hypertens, 2012. 30(3): p. 445-8.
91. Walczewska, J., et al., Urocortin 2 in patients with hypertension treated with angiotensin converting enzyme inhibitors or angiotensin receptor blockers. J Physiol Pharmacol, 2019. 70(2).
92. Silva, I.V.G., R.C. de Figueiredo, and D.R.A. Rios, Effect of Different Classes of Antihypertensive Drugs on Endothelial Function and Inflammation. Int J Mol Sci, 2019. 20(14).
93. Dalekos, G.N., et al., Increased serum levels of interleukin-1beta in the systemic circulation of patients with essential hypertension: additional risk factor for atherogenesis in hypertensive patients? J Lab Clin Med, 1997. 129(3): p. 300-8.
94. Stumpf, C., et al., Enhanced levels of platelet P-selectin and circulating cytokines in young patients with mild arterial hypertension. J Hypertens, 2005. 23(5): p. 995-1000.
95. Rabkin, S.W., The role of interleukin 18 in the pathogenesis of hypertension-induced vascular disease. Nat Clin Pract Cardiovasc Med, 2009. 6(3): p. 192-9.
96. Vazquez-Oliva, G., et al., Lowering of blood pressure leads to decreased circulating interleukin-6 in hypertensive subjects. J Hum Hypertens, 2005. 19(6): p. 457-62.
97. Jayedi, A., et al., Inflammation markers and risk of developing hypertension: a meta-analysis of cohort studies. Heart, 2019. 105(9): p. 686-692.
98. Crouch, S.H., et al., Inflammation and hypertension development: A longitudinal analysis of the African-PREDICT study. Int J Cardiol Hypertens, 2020. 7: p. 100067.
99. Liu, C., et al., Cytokines: From Clinical Significance to Quantification. Adv Sci (Weinh), 2021. 8(15): p. e2004433.
100. Walsh, C.P., et al., A systematic review and meta-analysis of the stability of peripheral immune markers in healthy adults. Brain Behav Immun, 2023. 107: p. 32-46.

12. Publikacje wchodzące w skład rozprawy

12.1 Anna Dzieża-Grudnik, Joanna Sulicka, Magdalena Strach, Olga Siga, Ewa Klimek, Mariusz Korkosz, Tomasz Grodzicki.

Arterial stiffness is not increased in patients with short duration rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis

Blood Pressure, DOI: 10.1080/08037051.2016.1232586, Blood Pressure, 2017, vol. 26, nr 2, s.115-121 IF – 2,107

12.2 Anna Dzieża-Grudnik, Olga Siga, Jolanta Walczewska, Barbara Wizner, Paweł P. Wołkow, Franz H. Messerli, Tomasz Grodzicki

Urocortin 2 – A Protective Effect in Hypertension? Urocortin 2 – A Protective Effect in hypertension?

Journal of Physiology and Pharmacology 2023, 74, 1, 3-10

www.jpp.krakow.pl | DOI: 10.26402/jpp.2023.1.01 IF – 2,859

12.3 Anna Dzieża-Grudnik, Olga Siga, Jolanta Walczewska, Barbara Wizner, Tomasz Mikołajczyk, Joanna Sulicka-Grodzicka, Tomasz Grodzicki

New onset hypertension is not associated with systemic changes in inflammatory cytokine levels

Archives of Medical science, 2023; Epub ahead of print

Archives of Medical Science. 2023. doi:10.5114/aoms/169502 IF – 3,8

12.1

Anna Dzieża-Grudnik, Joanna Sulicka, Magdalena Strach, Olga Siga, Ewa Klimek, Mariusz Korkosz, Tomasz Grodzicki

Arterial stiffness is not increased in patients with short duration rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis

Blood Pressure, 2017,
vol. 26, nr 2, s.115-121

BLOOD PRESSURE, 2016
http://dx.doi.org/10.1080/08037051.2016.1232586

Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

ORIGINAL ARTICLE

Arterial stiffness is not increased in patients with short duration rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis

Anna Dzieża-Grudnik[a], Joanna Sulicka[b], Magdalena Strach[a], Olga Siga[a], Ewa Klimek[a], Mariusz Korkosz[b] and Tomasz Grodzicki[a]

[a]Department of Internal Medicine and Gerontology, Jagiellonian University Medical College, Krakow, Poland; [b]Department of Rheumatology and Balneology, Jagiellonian University Medical College, Krakow, Poland

ABSTRACT

Patients with rheumatoid arthritis (RA) and ankylosing spondylitis (AS) have increased cardiovascular (CV) morbidity and mortality. Arterial stiffness is an independent predictor of CV events. The aim of the study was to assess arterial stiffness and inflammatory markers in patients with short duration chronic arthritis. We assessed carotid-femoral pulse wave velocity (PWV), augmentation index (AIx), traditional CV risk factors and inflammatory and endothelial markers in 71 chronic arthritis patients (RA and AS) and in 29 healthy controls. We did not find differences in PWV (for RA, AS and controls, respectively: 10 [8.8–10.9] versus 10.7 [9.1–11.8] versus 9.2 [8.3–11.4] m/s; $p = .14$) and AIx (for RA, AS and controls, respectively: 24.3 ± 11.5 versus 5.7 ± 12.4 versus $10 \pm 12.8\%$; $p = .22$). Both groups of arthritis patients had active disease with significantly elevated inflammatory markers compared to controls. There were no correlations between endothelial and inflammatory markers and parameters of arterial stiffness in arthritis patients. When analyzing arthritis patients according to median of PVW, there were no significant differences in inflammatory and endothelial markers. We found that in patients with short duration active RA and AS arterial stiffness was not increased and furthermore, there was no association between markers of systemic inflammation and arterial stiffness.

ARTICLE HISTORY
Received 27 June 2016
Revised 31 August 2016
Accepted 1 September 2016
Published online 21 September 2016

KEYWORDS
Arterial stiffness; pulse wave velocity; rheumatoid arthritis; ankylosing spondylitis; cardiovascular risk; endothelial markers; augmentation index

Introduction

Patients with inflammatory arthritis, as well as those with other autoimmune inflammatory diseases, have increased cardiovascular (CV) risk in comparison to the general population.[1–3] Furthermore, rapid progression of atherosclerosis and increased CV mortality and morbidity are not fully explained by traditional CV risk factors.[4] Increased expression of adhesion molecules, elevated level of adipocytokines or genetic factors linked to chronic inflammation may contribute to accelerated development of atherosclerosis.[5–7] Some of these abnormalities have been observed in rheumatoid arthritis (RA) patients even in early stages of the disease.[8] Whereas endothelial functional impairment is acknowledged in established RA patients, data about endothelial function in early RA are still scarce or inconsistent. The results of number of studies demonstrated increased common carotid intima-media thickness (IMT) and rapid progression of plaque in RA patients in comparison to the healthy controls,[9] while some studies failed to show differences in terms of IMT between RA and control patients.[10] The attenuated endothelial response has been observed in untreated patients with recent onset of RA [11]; however, some studies demonstrated preserved endothelium-dependent vasodilatation [9] or skin microvascular function.[12] Furthermore, some authors presented increased arterial stiffness assessed by pulse wave velocity (PWV) in early RA patients [13–15] and baseline C-reactive protein (CRP) was associated with increased PWV in 15 years' observational study by Provan et al. [16]. In meta-analysis by Ambrosino et al. in terms of data deficiency in RA subjects, it was difficult to evaluate other indices of arterial stiffness such as augmentation index (AIx) in early RA patients.[4]

Ankylosing spondylitis (AS) patients have elevated CV morbidity and mortality rates when compared to general population.[2,3] The results of studies on endothelial and vascular function in AS patients are contradictory. Some studies have shown increased

CONTACT Joanna Sulicka jsulicka@su.krakow.pl Department of Rheumatology and Balneology, Jagiellonian University Medical College, 10 Sniadeckich Street, 31-531 Krakow, Poland

Supplemental data for this article can be accessed here

© 2016 Informa UK Ltd, trading as Taylor & Francis Group

IMT,[17,18] impaired endothelium-dependent vasodilatation [18,19] or increased aortic stiffness,[18,20] whereas the other results did not confirm this findings.[17]

In summary, both AS and RA, in spite of different pathogenesis and specific clinical symptoms are chronic inflammatory diseases and elevated CV risk is common for both arthritis patients. AIx and PWV have been used to assess subclinical organ damage and presented positive prognostic value in predicting CV events,[21,22] but data on arterial stiffness in these patients are scarce and conflicting.

The aim of this study was to assess the arterial stiffness and the relationship between arterial stiffness and inflammatory markers in patient with RA and AS.

Material and methods

The study included 100 patients, 71 chronic arthritis patients (26 with RA and 45 with AS) and 29 healthy controls. The exclusion criteria were: uncontrolled hypertension, treatment with disease modifying antirheumatic drugs (DMARDs), acute infection within 2 weeks preceding the study, evidence of atherosclerotic CV disease (history of myocardial infarction, stroke/transitional ischemic attack, coronary artery disease), diabetes, renal failure and history of neoplasm within 5 years after termination of the treatment.

Patients were recruited from the Outpatient Rheumatology Clinic of the Department of Internal Medicine of the University Hospital in Krakow as described previously.[8,23,24] Diagnosis was established according to the revised 1987 American College of Rheumatology Criteria [25] or the modified New York criteria [26] for RA and anyklosing spondylitis, respectively.

The study protocol was approved by the Bioethical Committee of Jagiellonian University. Each patient had given written informed consent before the study inclusion. Patients were asked to refrain from eating and smoking for at least 12 h before the evaluation. The patients' evaluation included physical examination, anthropometric measurements (weight, height, waist and hip circumference, body mass index, waist to hip ratio), medical history of medications, smoking status and family history of premature CV disease. The disease activity was assessed with DAS28 (Disease Activity Score) for RA patients and BASDAI (The Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index) for AS. Three blood pressure measurements were taken on left arm after 5 min resting in a sitting position. The averaged value of the last two measurements was calculated.

Noninvasive haemodynamic indices of arterial stiffness (PWV and Alx) were assessed. Arterial stiffness and wave reflections-radial artery waveforms were recorded using tonometry and transferred to construct the corresponding waveform in the central aorta using SphygmoCor (AtCor Medical, West Ryde, Australia). The effects of arterial stiffness and arterial wave reflection on the central aortic waveform were calculated as: aortic pulse-wave augmentation (AG) – the difference between the second (P2) and the first (P1) systolic peaks of the central arterial waveform, the Alx – the difference between the second (P2) and the first (P1) systolic peaks, divided by pulse pressure expressed as a percentage (AG/PP) or the second systolic peak (P2) divided by the pressure to the first systolic peak (P1) of the central arterial waveform (P2/P1). Pulse wave was analysed through central pulse pressure and central systolic pressure. Carotid-femoral PWV was assessed using Complior (Complior, Colson, Garges-les-Gonesse, France). Two pressure sensitive transducers were placed directly on the skin above femoral and carotid artery track. The average of 10 consecutive measurements was considered for analysis followed by elimination of two extreme values (the minimum and maximum ones). PWV was calculated automatically as a proportion of total distance between the carotid and femoral sites and a wave transition's time.

Blood samples were taken from the left antecubical vein to evaluate the interleukin-6 (IL-6), interleukin 18 (IL-18), tumor necrosis factor α (TNF-α), high sensitivity C-reactive protein (hsCRP), fibrinogen, pentraxin 3 (PTX-3), soluble form of intracellular adhesion molecule-1 (sICAM), soluble form of vascular cell adhesion molecules (sVCAM), soluble form of E-selectin (sE-selectin), von Willebrand factor (vWF), tissue plasminogen activator (tPA) were measured using immunonephelometry or enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Plasma fibrinogen was estimated with a BCS Coagulation Analyzer (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Erlangen, Germany). For biochemical parameters (serum fasting glucose, total cholesterol, triglycerides, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, creatinine) measured with Hitachi 917 analyser (Roche Diagnostics, F. Hoffmann-La Roche AG, Basel, Switzerland) were assessed using standardized laboratory technics.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using Statistica 12 software (StatSoft Inc., Tulusa, OK). The accordance

Table 2. Inflammatory markers in RA and AS patients and in the control group.

	RA patients ($n = 26$)	AS patients ($n = 45$)	Control group ($n = 29$)	p Value	Age, sex adjusted p value
ESR (mm/h)	28 (16–50)	18 (8–36)	5 (2–10)	<.001[b,c]	<.001[b,c]
hsCRP (mg/L)	2.8 (1.6–14.2)	4.72 (2.5–15.9)	0.66 (0.32–1.09)	<.001[b,c]	.01[b,c]
IL-6 (pg/ml)	4.7 (1.2–11.9)	3.23 (1.8–5.6)	0.76 (0.58–1)	<.001[b,c]	<.001[b,c]
IL-18 (pg/ml)	435.8 (325.9–530)	407.1 (326.4–508.8)	429.1 (35.,6–461.4)	.66	n/a
TNF-α (pg/ml)	2.2 (1.7–2.8)	1.8 (1.6–2.1)	1.5 (1.3–1.8)	<.001[b,c]	.27
Fibrinogen (g/L)	3.5 (2.7–5.1)	4.1 (3.4–5.2)	3.1 (2.4–3.5)	<.001[b,c]	<.001[b,c]
sICAM (ng/ml)	156.5 (118.7–220.4)	251.3 (226.9–229.6)	204.9 (186.1–231.8)	<.001[a,c]	.005[a,c]
sVCAM (ng/ml)	682.9 (601.5–851.8)	586.8 (500.3–657.8)	558.74 (520.7–678.8)	.002[a,b]	.03[a,b]
E-selectin (ng/ml)	15.3 (11.3–20)	13.7 (10.4–16.9)	10.1 (7–16.6)	.04[b]	.15
vWF (%)	102 (75–128)	66 (54.2–82.2)	74 (54–94)	<.001[a,b]	.002[a,b]
tPA (ng/ml)	7.2 (5.3–9.7)	7.6 (5.9–11.1)	5.59 (4.43–9.98)	.16	n/a
PTX-3 (ng/ml)	0.7 (0.5–0.9)	0.6 (0.5–0.8)	0.4 (0.4–0.5)	<.001[a,b]	.003[a,c]

Values are presented as medians (IQR: interquartile range), means (SD).
Statistically significant differences between groups are denoted:
[a]RA patients versus AS patients;
[b]RA patients versus control group;
[c]AS patients versus control group.
n/a: not applicable; ESR: erythrocyte sedimentation rate; hsCRP: high sensitivity C-reactive protein; IL-6: interleukin-6; IL-18: interleukin-18; TNF-α: tumor necrosis factor α; sICAM: soluble intracellular cell adhesion molecule; sVCAM: soluble vascular cell adhesion molecule; vWF: von Willebrand factor; tPA: tissue plasminogen activator; PTX-3: pentraxin 3.

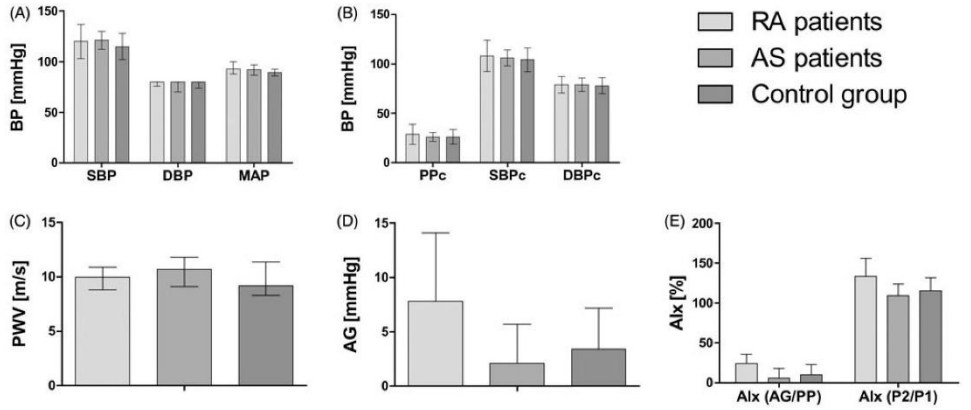

Figure 1. Blood pressure and arterial stiffness in RA and AS patients and in the control group. A. Blood pressure and mean arterial pressure (mmHg); B. Central blood pressure and central pulse pressure (mmHg); C. Pulse wave velocity (m/s); D. Aortic pulse wave augmentation (AG); E. AIx augmentation indexes. There were no statistically significant differences between the groups after age and sex standardization ($p > .05$).

9.3 ± 13.1%; $p = .18$), AIx (P2/P1) (121.1 ± 22.6 versus 113.2 ± 18.3% $p = .15$) were similar in both groups (Table 2 available in Online Data Supplement). The groups did not differ in any measured endothelial and inflammatory markers (data not shown). There were no correlations between inflammatory or endothelial markers and vascular function in arthritis patients.

Discussion

Patients with RA have increased CV mortality and morbidity in comparison to general population and it cannot be fully explained by traditional CV risk factors. There is evidence linking accelerated atherogenesis with systemic inflammation.[27] Circulating inflammatory cytokines exert its functions in numerous tissues and organs causing insulin resistance, dyslipidemia, endothelial dysfunction, prothrombotic effect and pro-oxidative stress contributing to accelerated atherosclerosis. Aortic PWV may be a surrogate end point for CV disease and together with central haemodynamic indices it is a strong predictor of future CV events.[21,22] Thus, in this work we attempted to assess arterial stiffness in DMARD naive inflammatory arthritis patients in comparison to healthy subjects. Our results did not reveal any statistically significant differences between groups after adjustment for age and gender in terms of aortic

with normal distribution was tested by Shapiro–Wilk test and the uniformity of variance by Levene's test. To assess differences between the groups, we used one-way ANOVA and post-hoc Bonferroni test or Mann–Whitney U test, Student's t-test and χ^2 test according to the distribution pattern and groups quantity. General linear models (GLM) or covariation test analysis were applied to test adjusted gender and age p value. P value equal or less than 0.05 was considered statistically significant. Correlation between PWV, AIx, peripheral and central systolic and diastolic blood pressure value as well as markers of inflammation was tested by Spearman's correlation test.

Results

Mean age of the patients was 40 years (SD ±9.7), 33 years (SD ±6.6) and 32 years (SD ±7.6) in RA patients, AS patients and healthy controls, respectively. The characteristics of patients and the control group are provided in Table 1. The median duration of symptoms in RA patients was 12 [4–22, 5] months and in AS patients 6 [4–10] years. RA patients were predominantly women and were older than both control and AS subjects. Furthermore, groups differed in terms of HDL cholesterol, creatinine and HbA1C level. The disease activity was moderate (DAS28:4.4 ± 1.5) for RA and in AS - BASDAI score was 4.2 (±2.0), indicating active disease.

In RA and AS patients, we observed increased ESR, hsCRP, IL-6, fibrinogen and TNF-α, whereas after standardization for age and gender the TNF-α value did not differ between the groups. Some endothelial markers were significantly increased in both RA and AS groups (PTX-3, vWF, sVCAM), the highest level of sICAM was found in AS. The healthy control and RA patients did not differ in terms of IL-18 and tPA (Table 2). After adjustment for age and gender, there were no statistically significant differences between patients in arterial stiffness measured with PWV (for RA, AS and controls, respectively: 10 [8.8–10.9] versus 10.7 [9.1–11.8] versus 9.2 [8.3–11.4] m/s; $p = .14$), as well as with AG (for RA, AS and controls, respectively: 7.8 ± 6.3 versus 2.1 ± 3.6 versus 3.4 ± 3.8 mmHg; $p = .69$) and AIx (AG/PP) (for RA, AS and controls, respectively: 24.3 ± 11.5 versus 5.7 ± 12.4 versus 10 ± 12.8%; $p = .22$), (P2/P1) (for RA, AS and controls, respectively 133.7 ± 22.7 versus 109.3 ± 14.5 versus 115.5 ± 16.6 versus 115.5 ± 16.6%; $p = .5$) (Figure 1). Detailed parameters of arterial stiffness are available in Table 1 in Online Data Supplement.

We analysed RA and AS patients together as a one group and divided the group into two categories according to median PWV. Patients with median value of PWV equal or above 10.1 m/s had elevated MAP (93 [90–100] versus 89 [85–93] mmHg; $p = .02$) and PPc (28 [24–34] versus 25 [22–28] mmHg; $p = .046$), increased AG (4 [1–8] versus 2 [0.5–4] mmHg; $p = .02$) but Alx(AG/PP) (14.5 ± 16.2 versus

Table 1. Characteristic of the patients in the study.

	RA patients ($n = 26$)	AS patients ($n = 45$)	Control group ($n = 29$)	p Value	Age, sex-adjusted p value
Age (years)	40 ± 9.7	33 ± 6.6	32 ± 7.6	<.001[a,b]	n/a
Female gender (No, %)	21 (80.7)	6 (13.3)	13 (44.8)	<.001*	n/a
Positive family history of CVD (%)	14 (56)	10 (22.2)	20 (20.7)	.005*	n/a
Duration of symptoms (years)	1 (0.33–1.83)	6 (4–10)	n/a	<.001*	n/a
Steroids (No, %)	10 (38)	2 (5)	0	<.001*	n/a
NSAID (No, %)	16 (62)	36 (92)	0	<.001*	n/a
BMI (kg/m^2)	23 ± 4	24.5 ± 3	23.35 ± 2.6	.15	n/a
WHR	0.8 ± 0.05	0.9 ± 0.07	0.81 ± 0.08	.002[c]	.37
Smoking (No, %)	10 (40.0)	13 (28.9)	5 (17.2)	.18*	n/a
SBP (mmHg)	120 ± 17	121 ± 9	115 ± 13	.11[c]	n/a
DBP (mmHg)	80 (76–80)	80 (70–80)	80 (74–80)	.30	n/a
Total cholesterol (mmol/L)	5.1 ± 1.2	5 ± 1.2	5.04 ± 0.74	.92	n/a
LDL-C (mmol/L)	3.1 ± 0.9	3.2 ± 1	2.86 ± 0.8	.36	n/a
HDL-C (mmol/L)	1.5 (1.2–1.9)	1.3 (1.2–1.4)	1.7 (1.4–1.9)	.002[c]	.02[c]
Triglicerides (mmol/L)	0.8 (0.7–1.3)	0.9 (0.6–1.1)	0.8 (0.6–1.3)	.97	n/a
HbA1c %	5.5 ± 0.3	5.6 ± 0.4	5.3 ± 0.42	.007[c]	.03[c]
Glucose (mmol/L)	4.6 ± 0.4	4.6 ± 0.6	4.73 ± 0.46	.67	n/a
Creatinine (μmol/L)	58.8 ± 10	65.6 ± 13.4	69.8 ± 9.67	.003[b]	.02[a,b]

Values are presented as medians (IQR: interquartile range), means (SD). Statistically significant differences between groups are denoted:
[a]RA patients versus AS patients;
[b]RA patients versus control group;
[c]AS patients versus control group.
*Chi square for table.
n/a: not applicable; LDL-C: low-density cholesterol; HDL-C: high-density cholesterol; HbA1c: glycosylated haemoglobin; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure.

ankylosing spondylitis. J Rheumatol. 2006;33: 2167–2172.
[4] Ambrosino P, Tasso M, Lupoli R, et al. Non-invasive assessment of arterial stiffness in patients with rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis of literature studies. Ann Med. 2015;47:457–467.
[5] Soltesz P, Kerekes G, Der H, et al. Comparative assessment of vascular function in autoimmune rheumatic diseases: considerations of prevention and treatment. Autoimmun Rev. 2011;10:416–425.
[6] Sandoo A, Chanchlani N, Hodson J, et al. The relationship between cardiovascular disease risk prediction scores and vascular function and morphology in rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol. 2014;32: 914–921.
[7] Montecucco F, Mach F. Common inflammatory mediators orchestrate pathophysiological processes in rheumatoid arthritis and atherosclerosis. Rheumatology. 2009;48:11–22.
[8] Klimek E, Skalska A, Kwasny-Krochin B, et al. Differential associations of inflammatory and endothelial biomarkers with disease activity in rheumatoid arthritis of short duration. Mediators Inflamm. 2014;2014:681635.
[9] Ambrosino P, Lupoli R, Di Minno A, et al. Subclinical atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. A meta-analysis of literature studies. Thromb Haemost. 2015;113:916–930.
[10] Sodergren A, Karp K, Boman K, et al. Atherosclerosis in early rheumatoid arthritis: very early endothelial activation and rapid progression of intima media thickness. Arthritis Res Ther. 2010;12:R158.
[11] Chatterjee Adhikari M, Guin A, Chakraborty S, et al. Subclinical atherosclerosis and endothelial dysfunction in patients with early rheumatoid arthritis as evidenced by measurement of carotid intima-media thickness and flow-mediated vasodilatation: an observational study. Semin Arthritis Rheum. 2012; 41:669–675.
[12] van Eijk IC, Serne EH, Dijkmans BA, et al. Microvascular function is preserved in newly diagnosed rheumatoid arthritis and low systemic inflammatory activity. Clin Rheumatol. 2011;30:1113–1118.
[13] Turkyilmaz AK, Devrimsel G, Kirbas A, et al. Relationship between pulse wave velocity and serum YKL-40 level in patients with early rheumatoid arthritis. Rheumatol Int. 2013;33:2751–2756.
[14] Kocabay G, Hasdemir H, Yildiz M. Evaluation of pulse wave velocity in systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and Behçet's disease. J Cardiol. 2012;59:72–77.
[15] Avalos I, Chung CP, Oeser A, et al. Increased augmentation index in rheumatoid arthritis and its relationship to coronary artery atherosclerosis. J Rheumatol. 2007;34:2388–2394.
[16] Provan SA, Angel K, Semb AG, et al. Early prediction of increased arterial stiffness in patients with chronic inflammation: a 15-year follow-up study of 108 patients with rheumatoid arthritis. J Rheumatol. 2011;38:606–612.
[17] Mathieu S, Joly H, Baron G, et al. Trend towards increased arterial stiffness or intima-media thickness in ankylosing spondylitis patients without clinically evident cardiovascular disease. Rheumatology. 2008;47:1203–1207.
[18] Bodnar N, Kerekes G, Seres I, et al. Assessment of subclinical vascular disease associated with ankylosing spondylitis. J Rheumatol. 2011;38:723–729.
[19] van Eijk IC, Peters MJ, Serne EH, et al. Microvascular function is impaired in ankylosing spondylitis and improves after tumour necrosis factor alpha blockade. Ann Rheum Dis. 2009;68: 362–366.
[20] Berg IJ, van der Heijde D, Dagfinrud H, et al. Disease activity in ankylosing spondylitis and associations to markers of vascular pathology and traditional cardiovascular disease risk factors: a cross-sectional study. J Rheumatol. 2015;42:645–653.
[21] Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis. J Am Coll Cardiol. 2010;55: 1318–1327.
[22] Vlachopoulos C, Aznaouridis K, O'Rourke MF, et al. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with central haemodynamics: a systematic review and meta-analysis. Eur Heart J. 2010;31: 1865–1871.
[23] Klimek E, Mikolajczyk T, Sulicka J, et al. Blood monocyte subsets and selected cardiovascular risk markers in rheumatoid arthritis of short duration in relation to disease activity. Biomed Res Int. 2014;2014:736853.
[24] Surdacki A, Sulicka J, Korkosz M, et al. Blood monocyte heterogeneity and markers of endothelial activation in ankylosing spondylitis. J Rheumatol. 2014;41:481–489.
[25] 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.
[26] van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. Arthritis Rheum. 1984;27:361–368.
[27] Di Minno MN, Iervolino S, Lupoli R, et al. Cardiovascular risk in rheumatic patients: the link between inflammation and atherothrombosis. Semin Thromb Hemost. 2012;38:497–505.
[28] Sandoo A, Veldhuijzen van Zanten JJ, Metsios GS, et al. Vascular function and morphology in rheumatoid arthritis: a systematic review. Rheumatology. 2011;50:2125–2139.
[29] Lo Gullo A, Mandraffino G, Imbalzano E, et al. Toll-like receptor 3 and interleukin 1β expression in CD34+ cells from patients with rheumatoid arthritis: association with inflammation and vascular involvement. Clin Exp Rheumatol. 2014;32: 922–929.
[30] Chung CP, Oeser A, Raggi P, et al. Increased coronary-artery atherosclerosis in rheumatoid arthritis: relationship to disease duration and

PWV and central haemodynamics. These findings were consistent with some previous studies which showed no differences in arterial stiffness indices in AS in comparison to control group [17] or between chronic inflammatory rheumatic disease groups.[14] Sandoo et al. [28] showed that PWV was elevated in several cross-sectional studies, nevertheless most of analysed studies described patients with established RA with exception to Avalos et al. [15], who did not demonstrate any differences in brachial PWV in early RA. In contrary to these and our data, some studies have reported elevated aortic PWV value even in early RA.[4] Our results depicting PWV and AIx are not in concordance with results of meta-analysis performed by Ambrosino et al. [4]. However, the authors of this meta-analysis showed a publication bias concerning aortic PWV, what may to certain extent explain the discrepancy between our results and results of this meta-analysis. Moreover, in this meta-analysis, the AIx was shown to be higher in RA but that observation was based on the results of only one study which was done in early RA patients.[29] Furthermore, there may be an increased CV risk even before or shortly after the onset of RA. The results of some studies indicated that CV risk may accumulate during years of disease duration, whereas there were no evident CV changes in early stage.[30] On the other hand, several reports indicate that disease duration does not independently affect the risk of CVD but rather the overall time with persistent high disease activity contribute the most.[31] Treatment with TNF-α antagonists may probably partially reverse or intermit vascular changes whereas it was not certain if the effect is specific for this drug or related to decrease in inflammation.[32]

We have divided the inflammatory arthritis group according to the aortic PWV median value. We did not find significant differences in any inflammatory or endothelial markers despite of differences in peripheral and central blood pressure as well as in AG. We did not find any relationship between indices of arterial stiffness and inflammatory markers in combined inflammatory arthritis group, which is consistent with previous reports [28,33] assessing micro- and macrovascular endothelial function in correlation to inflammation.

In our study, patients and healthy controls did not present any differences in terms of classical CV disease risk factors with exception of HDL cholesterol. The lowest level of HDL was found in AS patients. That finding might be explained by the fact that in active untreated inflammatory disease the lipid level may be reduced and increase during treatment, whereas it may not represent increased CV risk.[34] Lower HDL cholesterol level presumably reflects increased inflammatory state and our results are in agreement with results of previously reported studies.

Limitations of the study

Nonetheless, some limitations must be taken into consideration when interpreting the results of our study. First, some of arthritis patients were treated with glucocorticoids (38.4% in RA and 5.2% in AS) or non-steroidal anti-inflammatory drugs (62% in RA and 92% in AS) which may influence endothelial function. Second, there were significant differences in age and gender between the studied groups, so the results have been adjusted for these factors. Third, heart rate may influence AIx, but these data were not recorded in our study. Finally, the patients have not had 24-h blood pressure monitoring study, which would have allowed to estimate the dynamic relationship between SBP and DBP during the course of the day.

Conclusions

We found that in patients with short duration active RA and AS arterial stiffness was not increased. Additionally, there was no association between markers of systemic inflammation and arterial stiffness.

Disclosure statement

The authors report no conflicts of interests.

Funding

This work was supported by the Research Grant from the Ministry of Science and Higher Education, 10.13039/501100004569 [No. NN402267636].

References

[1] Kremers HM, Crowson CS, Therneau TM, et al. High ten-year risk of cardiovascular disease in newly diagnosed rheumatoid arthritis patients: a population-based cohort study. Arthritis Rheum. 2008;58:2268–2274.

[2] Mathieu S, Motreff P, Soubrier M. Spondyloarthropathies: an independent cardiovascular risk factor? Joint Bone Spine. 2010;77:542–545.

[3] Han C, Robinson DW Jr, Hackett MV, et al. Cardiovascular disease and risk factors in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and

cardiovascular risk factors. Arthritis Rheum. 2005; 52:3045–3053.

[31] Arts EE, Fransen J, den Broeder AA, et al. The effect of disease duration and disease activity on the risk of cardiovascular disease in rheumatoid arthritis patients. Ann Rheum Dis. 2015;74:998–1003.

[32] Tam LS, Kitas GD, Gonzalez-Gay MA. Can suppression of inflammation by anti-TNF prevent progression of subclinical atherosclerosis in inflammatory arthritis? Rheumatology. 2014;53: 1108–1119.

[33] Sandoo A, Kitas GD, Carroll D, et al. The role of inflammation and cardiovascular disease risk on microvascular and macrovascular endothelial function in patients with rheumatoid arthritis: a cross-sectional and longitudinal study. Arthritis Res Ther. 2012;14:R117.

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

Online Data Supplement

Arterial stiffness is not increased in patients with short duration rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis.

Anna Dzieża-Grudnik, Joanna Sulicka, Magdalena Strach, Olga Siga, Ewa Klimek, Mariusz Korkosz, Tomasz Grodzicki

Table 1. Arterial stiffness parameters

	RA patients (n=26)	AS patients (n=45)	Control group (n=29)	p value	Age,sex-adjusted p value
PVW [m/sec]	10[8.8-10.9]	10.7[9.1-11.8]	9.2[8.3-11.4]	0.14	n/a
AG [mmHg]	7.8±6.3	2.1±3.6	3.4±3.8	0.001[a,b]	0.69
AIx (AG/PPc) [%]	24.3±11.5	5.7±12.4	10±12.8	0.002[a,b]	0.22
AIx (P1/P2) [%]	133.7±22.7	109.3±14.5	115.5±16.6	0.001[a,b]	0.50
PPc [mmHg]	28.9±10.2	26.3±4.4	26.4±7.5	0.19	n/a
SBPc [mmHg]	108±15.8	106±8	104±12	0.65	n/a
DBPc [mmHg]	79±8.5	79±6.8	78±8	0.51	n/a

Values are presented as medians [IQR-interquartile range], average (SD-standard deviation). Statistically significant differences between groups are denoted: a) RA patients vs AS patients b) RA patients vs control group c) AS patients vs control group. n/a - not applicable. PVW, pulse wave velocity; AG, aortic pulse wave augmentation; AIx, aortic pulse wave augmentation index; PPc, central pulse pressure; SPBc, systolic central blood pressure; DBPc, diastolic central blood pressure.

Table 2. Comparison between groups according to median PWV.

	PWV (<10.1m/s) N=35	PWV (≥10.1 m/s) N=36	p value	Age, sex, adjusted p value
Age [years]	33.5 ±7.5	37.6±9.2	0.05	n/a
SBP [mmHg]	120[110-120]	122.5[120-130]	0.01	0.03
DBP [mmHg]	90 [85-93]	80[75-85]	0.01	0.04
MAP [mmHg]	89[85-93]	93[90-100]	0.004	0.02
Alx (AG/PP) [%]	9.3±13.1	14.5±16.2	0.18	n/a
Alx (P2/P1) [%]	113.2±18.3	121.1±22.6	0.15	n/a
AG [mmHg]	2[0.5-4]	4[1-8]	0.04	0.02
PPc [mmHg]	25[22-28]	28[24-34]	0.03	0.046
SBPc [mmHg]	103[98-106]	110[100-116]	0.004	0.048
DBPc [mmHg]	77.7[71-81]	81[75-86]	0.05	0.25

Values are presented as medians [IQR-interquartile range], average (±SD). n/a – not applicable

SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure, MAP, mean blood pressure; PVW, pulse wave velocity; AG, aortic pulse wave augmentation; AIx, pulse wave augmentation index; PPc, central pulse pressure; SPBc, systolic central blood pressure; DBPc, diastolic central blood pressure.

12.2

Anna Dzieża-Grudnik, Olga Siga, Jolanta Walczewska, Barbara Wizner, Paweł P. Wołkow, Franz H. Messerli, Tomasz Grodzicki

Urocortin 2 – A Protective Effect in Hypertension?

Journal of Physiology and Pharmacology 2023, 74, 1, 3-10

JOURNAL OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY 2023, 74, 1, 3-10
www.jpp.krakow.pl | DOI: 10.26402/jpp.2023.1.01

Original articles

A. DZIEZA-GRUDNIK[1], O. SIGA[1], J. WALCZEWSKA[1], B. WIZNER[1], P.P. WOLKOW[2], F.H. MESSERLI[3,4,5], T. GRODZICKI[1]

UROCORTIN 2 - A PROTECTIVE EFFECT IN HYPERTENSION?

[1]Jagiellonian University Medical College, Department of Internal Medicine and Gerontology, Cracow, Poland;
[2]Jagiellonian University Medical College, Center for Medical Genomics Omicron, Cracow, Poland;
[3]Swiss Cardiovascular Center, University of Bern, Switzerland;
[4]Mount Sinai Icahn School of Medicine, New York, United State of America; [5]Jagiellonian University, Cracow, Poland

Urocortin 2, an endogenous selective ligand for the corticotropin-releasing hormone receptor type 2, has been suggested to exert cardioprotective effects. We analyzed the possible relationship between the level of Ucn2 and specific indicators of cardiovascular risk factors in patients with untreated hypertension and in healthy subjects. Sixty seven subjects were recruited: 38 with newly diagnosed treatment-naïve hypertension (with no pharmacological treatment - HT group) and 29 healthy subjects without hypertension (nHT group). We evaluated ambulatory blood pressure monitoring, Ucn2 levels and metabolic indices. Multivariable regression analyses were performed to assess the effects of gender, age, and Ucn2 levels on metabolic indices or blood pressure (BP) level. Log of Ucn2 levels were higher in healthy subjects than in hypertensive patients (2.44±0.7 versus 2.09±0.66, $p<0.05$) and correlated inversely with 24-hour diastolic blood pressure, and both night-time systolic and diastolic blood pressure regardless of age and gender (R2=0.06; R2=0.06; R2=0.052; respectively). Furthermore, Ucn2 levels inversely correlated with cholesterol and low-density cholesterol (LDL) concentrations in healthy subjects only. Ucn2 was independently related to total cholesterol (but not to LDL) regardless of age, gender and the presence of hypertension (R2=0.18). However, we did not find any relationship between urocortin 2, body mass index or waist-hip ratio as well as parameters of glucose metabolism. Our data indicates that higher levels of urocortin 2 are related to more favorable lipid profiles and lower blood pressure.

Key words: *urocortin 2, arterial hypertension, cholesterol, metabolic syndrome, lipid profile, glucose homeostasis*

INTRODUCTION

Urocortin 2 (Ucn2) is an endogenous selective ligand for the corticotropin-releasing hormone receptor type 2 (CRH-R2). CRH-R2 is abundant in the central nervous system and throughout the periphery, including cardiac and vascular expression and appears to mediate the majority of Ucn2 action in the cardiovascular system (1). To date, there is a limited number of studies which have documented inconsistent effects of urocortins (Ucns) on the cardiovascular system (2, 3). Ucn2 has been shown to improve cardiac contractility and cardiac output (4-7), as well as to exert cardioprotective effects against ischemia reperfusion injury (8), simultaneously with lowering blood pressure (6, 7, 9, 10).

Intravenous administration of Ucn2 to healthy volunteers induced a dose-dependent decrease in diastolic BP and mean arterial BP without changes in systolic BP. Furthermore, similar hypotensive effects were observed in patients with chronic heart failure (7) as well as in those with acute decompensated heart failure (11).

Moreover, experimental studies demonstrated appetite suppression of the Ucn2/CRH-R2 axis and its delaying the development of obesity. In mice, Ucn2 was shown to induce a decrease of meal size through peripheral CRH-R2 (12). Conversely, reduced CRH-R2 expression in the central nervous system has been shown to cause weight gain and accumulation of white adipose tissue (13).

However, studies evaluating the serum level of Ucn2 in humans are limited. Some studies (14) revealed the elevated level of Ucn2 in patients with mild to moderate systolic heart failure, whereas the level of Ucn2 in severe systolic heart failure, diastolic dysfunction or coronary artery disease were comparable to those in healthy subjects. To our best knowledge, there is only one study evaluating the level of Ucn2 in hypertensive patients most of whom were on antihypertensive therapy (15).

Hypertensive cardiovascular disease is commonly accompanied by metabolic cardiovascular (CV) risk factors such as abdominal obesity, hypercholesterolemia, and insulin resistance/metabolic disorders. Given the potential anorexic effects of Ucn2, we decided to investigate the relationship between Ucn2 and BP and metabolic risk factors in treatment-naïve hypertensive individuals and to compare them with those in healthy subjects.

The aim of the study was to assess the possible relationship between the level of Ucn2 and specific indicators of (CV) risk factors in patients with untreated hypertension.

MATERIALS AND METHODS

Study population

We recruited 77 patients from the Hypertension Outpatient Clinic and Primary Care Clinic of the University Hospital in Cracow, Poland. Ten of them were excluded due to concomitant medication use (statins - 4 subjects) or concomitant illness (diabetes - 1 patient, inflammatory bowel disease - 1 patient) or elevated levels of NTproBNP (above 125 pg/ml - 3 subjects) or hsCRP (1 patient). Finally, 67 subjects were included for analysis: 38 patients with newly diagnosed treatment-naïve hypertension (with no pharmacological treatment - HT group) and 29 healthy subjects without hypertension (nHT group). Secondary forms of hypertension were excluded in the HT group. Informed consent was obtained from all participants.

The study protocol was approved by the Bioethical Committee of Jagiellonian University Medical College (nr 151/B/2012).

Anthropometric assessments

Weight was measured in kilograms (kg) with light clothes and without shoes by a calibrated scale. Height was measured in centimeters (cm). Body mass index (BMI) was calculated as weight in kg divided by height in a square meters. Waist and hip circumferences were measured in the supine position at the umbilical and around the widest portion of the buttocks, respectively. Waist to hip ratio (WHR) was calculated as the measurement of waist in cm divided by the maximum measurement of hip in cm. Based on the above measurements, abdominal obesity was found as abdominal waist circumference ≥80 cm in women or ≥94 cm in men.

Office blood pressure measurement

Office BP measurements were taken after 10 minutes resting in a sitting position in a quiet room according to the guideline (16). We obtained 3 consecutive readings in 1-2 minutes interval using the validated device (OMRON 705IT, HEM-759-E, Omron Corporation, Kyoto, Japan) (17). The average value of BP was calculated by the second and third measurement.

Ambulatory blood pressure measurement

Ambulatory BP monitoring (ABPM) were performed using an automatic SpaceLabs90207 (18) oscillometric device (SpaceLabs Healthcare, Hertford, UK) during ordinary patient's activity considering the night and day period. All recordings were performed on nondominant arms, every 20 minutes during the day and every 30 minutes during the night hours. ABPM data were valid if the number of successful readings exceed 70%. The diagnoses of hypertension were established based on ABPM measurements (16). If any value of systolic or diastolic (ambulatory BP - daytime mean ≥135 mmHg and/or ≥85 mmHg; night-time mean ≥120 mmHg and/or ≥70 mmHg; 24h mean ≥130 mmHg and/or ≥80 mmHg 24-hours) BP was above the reference, the patient was assigned to the hypertensive groups, otherwise was qualified as a healthy one.

Blood analyses

Blood samples were taken after at least 8 hours fasting between 7 and 8 am. We assessed the complete blood count with differential, serum levels of glucose, creatinine, glycated haemoglobin (HbA1c), total cholesterol (TC), low-density cholesterol, high-density cholesterol (HDL), triglycerides (TG), insulin. Glomerular filtration rate was estimated using the MDRD equation.

Metabolic indices

Insulin sensitivity was estimated from fasting insulin and glucose levels using the homeostasis model assessment:

(HOMA-IR = [fasting insulin in IU/ml] × [fasting glucose in mmol/l/22.5]).

Insulin resistance (IR) was defined as HOMA-IR ≥2.5.

Based on the above results, in the coexistence of 3 out of 5 components such as HT (arterial hypertension), abdominal obesity, hypertriglyceridemia, IFG (impaired fasting glucose), and reduced HDL levels, the metabolic syndrome was diagnosed according to the consensus definition (IDF/NHLBI/AHA/WHF/IAS/IASO) (19).

Urocortin 2 measurements

We performed in duplicate measurements of serum Ucn2 concentration using Ucn2 ELISA Kit (Cloud-Clone, Katy, TX, USA) according to the manufacturer's instructions. 100 µl of serum was used per well. The readings were made at 450 nm and 2 Parametric Linear fit was used for calculation of the results. The minimum detectable amount of Ucn2 was less than 48.6 pg/mL.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using Statistica version 13 software (Statistica, StatSoft Poland, Dell Inc) licensed to the Jagiellonian University, Cracow, Poland. Continuous variables were summarized and presented as mean ±SD. The normality of distribution was confirmed using the Shapiro-Wilk test. Variables with skewed distribution were presented as median and quartile range (upper-lower quartile). Data on frequency were given as number and percentages. The comparative analyses were conducted with Student's t-test or the U-Mann-Whitney for continuous variables and the Chi-square test and Fisher exact test for qualitative data. Homogeneity of variance was verified by Levene's test. Two-tailed p values of less than 0.05 were considered as statistically significant. Correlations between quantitative variables were assessed with Pearson's test. Multivariable regression analyses were performed to assess the independent effects of gender, age, and Ucn2 levels after log transformation to metabolic indices or BP level.

RESULTS

Baseline characteristics and comparison of the two investigated groups

We examined 67 patients, 29 healthy subjects, and 38 with newly diagnosed hypertension. None of the patients had ever taken antihypertensive medication before or during the assessment. Characteristics of the patients are presented in *Table 1*. Patients with hypertension were slightly younger and predominantly men, with significantly more frequent metabolic syndrome (abdominal obesity), higher BMI, and level of triglycerides and HOMA-IR.

The concentrations of Ucn2 were comparable in both groups (nHT group - 9.37 ng/ml (7.8–20.0) and HT group - 9.05 ng/ml (5.9–11.9)) however logUcn2 was elevated in healthy subject (2.44±0.70 versus 2.09±0.63; p=0.04) (*Fig. 1*).

Table 1. Baseline characteristics of the studied population.

Parameters	**nHT group** N=29	**HT group** N=38	**p-value**
Age, years	45.1 (8.8)	43.7 (11.8)	0.60
Gender, male, n, (%),	10 (34.5)	21 (55.3)	0.09
BMI, kg/m^2	24.3 (3.64)	28.3 (4.0)	≤0.001
WHR	0.9 (0.8–0.9)	0.9 (0.8–1.0)	0.13
Weight, kg	69.8 (14.6)	84.0 (14.1)	≤0.001
Abdominal obesity, n, (%)	10 (37)	30 (83)	≤0.001
Creatinine level, mmol/l	71.7 (10.3)	74.5 (11.7)	0.31
eGFR MDRD, ml/min/1.73m^2	96.0 (78.1–108.0)	92.6 (86.6–102.2)	0.77
Glucose, mmol/l	5 (0.5)	5 (0.6)	0.91
Total cholesterol, mmol/l	5.2 (1.0)	5.5 (0.9)	0.23
LDL, mmol/l	3.1 (0.9)	3.3 (0.8)	0.32
HDL, mmol/l	1.5 (1.2–1.9)	1.4 (1.2–1.7)	0.21
TG, mmol/l	1.0 (0.7–1.6)	1.6 (1.1–1.9)	0.01
HbA1C, %	5.4 (0.3)	5.4 (0.4)	0.59
HOMA-IR	1.7 (0.9–2.2)	2.7 (1.7–4.1)	0.003
Metabolic syndrome, n, %	5 (17)	19 (50)	0.01
hsCRP, mg/l	0.8 (0.4–1.5)	1.0 (0.7–1.3)	0.50
Office SBP, mm Hg	118 (9.7)	141.3 (15.2)	≤0,001
Office DBP, mm Hg	81.1 (9.6)	97.4 (11.3)	≤0.001
SBP_24hours, mm Hg	114.6 (7.3)	134.1 (9.4)	≤0.001
DBP_24hours, mm Hg	71.7 (4.6)	85.7 (9.2)	≤0.001
DAY_SBP, mm Hg	119.2 (7.8)	139.4 (11.0)	≤0.001
DAY_DBP, mm Hg	76.3 (5.0)	90.4 (9.9)	≤0.001
NIGHT_SBP, mm Hg	103.6 (6.5)	121.1 (7.9)	≤0.001
NIGHT_DBP, mm Hg	61.3 (4.7)	74.2 (9.9)	≤0.001
DIPS, %	13.0 (4.6)	13.0 (5.8)	0.99
DIPD, %	19.6 (5.6)	17.9 (7.6)	0.33
Ucn2, ng/ml	9.37 (7.8–20.0)	9.05 (5.9–11.9)	0.12
LogUcn2	2.44 (0.70)	2.09 (0.63)	0.04

Data are presented as means (SD) or medians (upper-lower quartile) or numbers (percentages).
Abdominal obesity was defined as waist circumference in women ≥80 cm, men ≥94 cm.
Insulin resistance was defined as HOMA-IR ≥2.5. Metabolic syndrome was defined according to the consensus definition (IDF/NHLBI/AHA/WHF/IAS/IASO) (19).
Abbreviations: BMI, body mass index; DBP, diastolic blood pressure; DIPD, night diastolic dipping; DIPS, night systolic dipping; eGFR, estimated glomerular filtration rate; HbA1c, glycated haemoglobin; HDL, high-density lipoprotein; HOMA-IR, homeostatic model assessment for insulin resistance; HT group, group with newly detected hypertension; LDL, low-density lipoprotein; LogUcn2, urocortin 2 value after log-transformation; nHT group, group without hypertension; SBP, systolic blood pressure; TG, triglyceride; Ucn2, urocortin 2 value; WHR, waist to hip ratio.

Association between the level of Ucn2 and blood pressure values

In the whole group Ucn2 correlated negatively with diastolic 24-hours pressure, night systolic and diastolic pressure (*Fig. 2*), whereas in the hypertensive group correlated negatively with diastolic night pressure and positively with dipping of diastolic pressure (*Table 2*). In healthy subjects, we did not notice any relationship with systolic or diastolic BP (SBP_24hours, DBP_24hours, DAY_SBP, DAY_DBP, NIGHT_SBP, NIGHT_DBP or office blood pressure measurements) with Ucn2.

To summarize higher logUcn2 level is correlated with lower blood pressure (especially with NIGHT_DBP) in hypertensive group.

Association between Ucn2 and metabolic parameters

Indices of glucose metabolism such as fasting glucose, HbA1c, insulin level and HOMA-IR, or BMI and WHR did not correlate with Ucn2 in either group. Moreover, the serum concentration of Ucn2 was not affected by the occurrence of abdominal obesity, insulin resistance, or metabolic syndrome in either group.

However, we observed an inverse relationship between Ucn2 and total cholesterol in healthy volunteers and in the whole group (*Fig. 2*) but not in HT group. The LDL level was negatively correlated with Ucn2 only in nHT group (*Table 2*). In both groups, we did not find any correlation between HDL and TG with Ucn2.

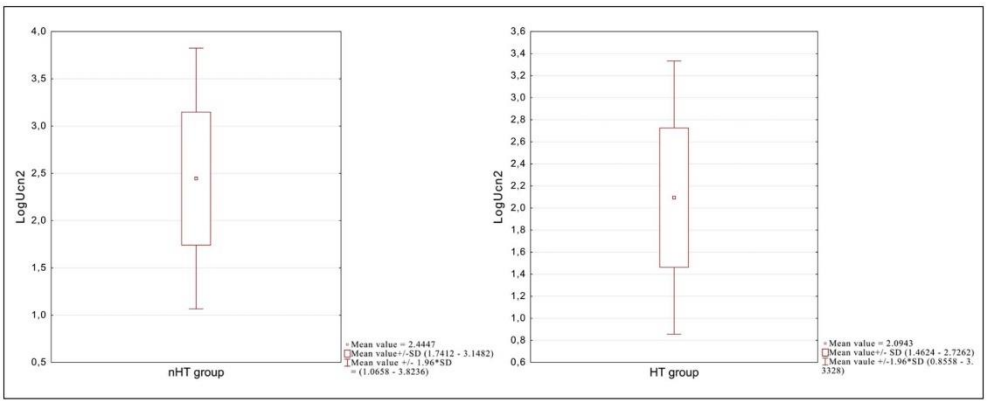

Fig. 1. LogUcn2 concentration in nHT and HT groups.
nHT group, group without hypertension; HT group, group with newly detected hypertension.

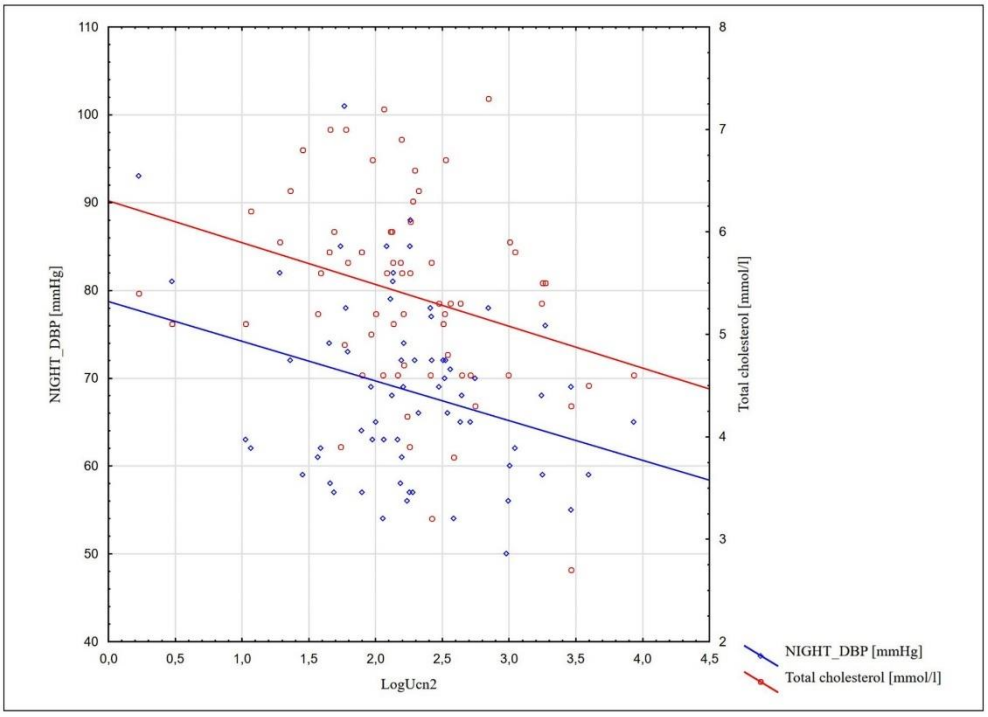

Fig. 2. Correlations between logUcn2 and NIGHT_DBP or total cholesterol.

Multivariable regression analysis - blood pressure

In multivariable regression analysis in the entire study population, Ucn2 was independently related to the 24-hours diastolic blood pressure (R2=0.06), and both systolic (R2=0.06) and diastolic night BP (R2=0.052) regardless of age and gender (*Table 3*).

Multivariable regression analysis - metabolic indices

In multivariable regression analysis in the entire study population, Ucn2 was independently related to TC (but not to LDL) regardless of age, gender, and the presence of hypertension (R2=0.18).

Table 2. Correlation (Pearson's test) between metabolic parameters, blood pressure value, and urocortin 2 levels among newly diagnosed hypertensive patients and healthy individuals.

Parameters	LogUcn2					
	nHT group (N=29)		**HT group** (N=38)		**All patients (nHT+HT group)**	
	r	**p-value**	**r**	**p-value**	**r**	**p-value**
Total cholesterol, mmol/l	–0.51	0.004	–0.03	0.88	–0.29	0.02
LDL, mmol/l	–0.45	0.01	0.11	0.51	–0.20	0.11
DBP_24 hours, mm Hg	0.08	0.67	–0.2	0.23	–0.25	0.04
NIGHT_SBP, mm Hg	–0.04	0.85	–0.17	0.31	–0.27	0.03
NIGHT_DBP, mm Hg	0.15	0.45	–0.34	0.038	–0.3	0.01
DIPD, %	–0.03	0.86	0.36	0.028	0.23	0.07

DBP, diastolic blood pressure; DIPD, night diastolic dipping; HT group, group with newly detected hypertension; LDL, low-density lipoprotein; LogUcn2, Urocortin 2 value after log-transformation; nHT group, group without hypertension; r, correlation coefficient; SBP, systolic blood pressure.

Table 3. Multivariable regression analysis in the whole group.

	DBP_24hours		**NIGHT_SBP**		**NIGHT_DBP**	
	β (SE)	**p**	**β** (SE)	**p**	**β** (SE)	p
Age	–0.50 (0.11)	0.69	0.06 (0.13)	0.65	0.03 (0.12)	0.77
Gender	3.69 (2.38)	0.13	3.26 (2.65)	0.22	0.57 (2.46)	0.82
LogUcn2	–3.85 (1.75)	0.03	–4.53 (1.95)	0.023	–4.47 (1.8)	0.02

β, regression coefficient; DBP, diastolic blood pressure; LogUcn2, urocortin 2 value after log-transformation; SBP, systolic blood pressure;

Table 4. Multivariable regression analysis in the whole group.

	Total cholesterol		**LDL**	
	β (SE)	**p**	**β** (SE)	**p**
Age	0.033 (0.01)	0.003	0.03 (0.01)	0.01
Gender	0.29 (0.22)	0.20	0.24 (0.205)	0.25
Arterial hypertension	0.13 (0.23)	0.58	0.103 (0.21)	0.63
LogUcn2	–0.33 (0.16)	0.046	–0.19 (0.15)	0.23

β, regression coefficient; LDL, low-density lipoprotein; LogUcn2, urocortin 2 value after log-transformation.

DISCUSSION

Our study documented that the logUcn2 were lower in patients with newly diagnosed treatment-naïve hypertension compared to normotensive subjects. Higher levels of logUcn2 were associated with lower values of BP and a more favourable lipid profile (lower total and LDL cholesterol). However, there was no relationship between logUcn2 concentration and parameters of carbohydrate metabolism (glucose level and insulin resistance) nor between logUcn2 and body weight (BMI, WHR).

Ucn2 and hypertension

Previous studies indicated that administration of Ucn2 has a vasodilatatory effect and decreased BP in healthy volunteers (6) as well as in patients with heart failure (7, 20). We therefore assumed that hypertensive individuals would exhibit a lower level of Ucn2 in comparison to healthy subjects. Indeed, we confirmed that patients with newly diagnosed treatment-naïve hypertension exhibited lower levels of logUcn2 than healthy subjects. Lower logUcn2 levels were associated with increased diastolic BP regardless of age or gender. Our findings are at variance with those of Aslan *et al*. (15) who found levels of Ucn2 in normotensive subjects to be significantly lower than in hypertensive patients (0.79 ng/ml versus 5.17 ng/ml). Of note, we had recruited treatment-naïve patients only, whereas in Aslan *et al*. study mostly (88%) treated patients were included. As we reported previously (21) patients treated with ACEI exhibit greater Ucn2 levels than those treated with ARB. Conceivably the elevated levels of Ucn2 in the hypertensive group may have been related to antihypertensive therapy. In meta - analysis Kovacs *et al*. confirmed short term BP lowering effect after administration of Ucn2 in patients with chronic HFrEF (heart failure with reduced ejection fraction), whereas hypotensive effect of Ucn2 in the other group is unable to meta-analyze due to lack of appropriate amount of data (22).

The mechanism responsible for lowering blood pressure mediated by Ucn2 could be related to vascular dilatation attributed by endothelium dependent (observed in both animal models and human internal mammary artery) or independent

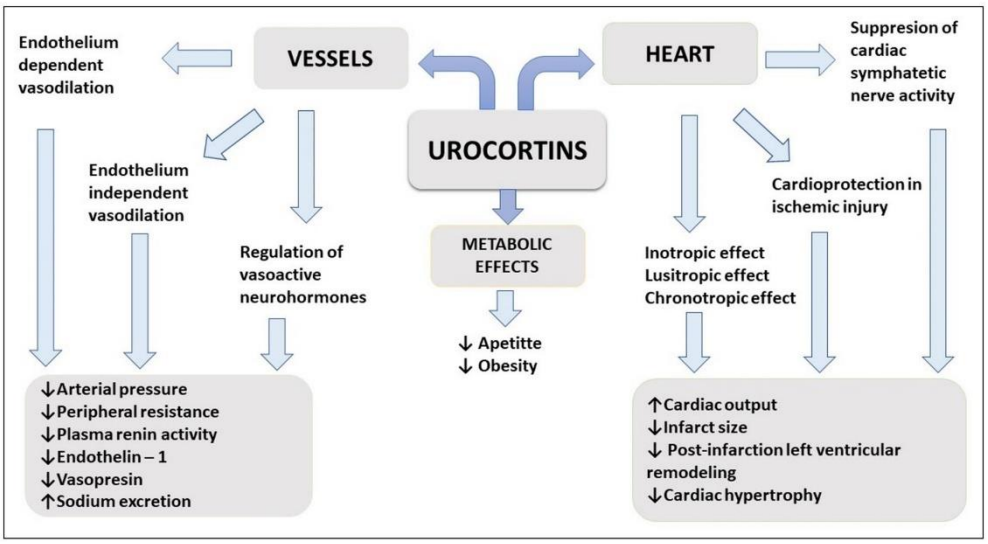

Fig. 3. Urocortins effects in cardiovascular system (adapted from references:12, 26, 27, 33).

manner (rat pulmonary arteries or rat coronary arteries) as well as changes in renin-angiotensin-aldosterone system activity (hypertensive rats) (23). However, based on our results we could not reliably identify the mechanism underlying the observed correlation between logUcn2 and blood pressure value.

Ucn2 and lipid profile

As of this writing, there have been no human studies assessing the relationship between Ucn2 and lipid parameters. In the Venkatasubramanian *et al*. study, administration of Ucn2 to healthy male volunteers did not cause clinically significant changes in cholesterol level. However, urocortins infusion may have been too short to have an effect on lipid level (9).

Knowing that the concentration of plasma cholesterol depends on the integrated balance of the endogenous and exogenous pathways of cholesterol metabolism (24), a possible positive effect of Ucns on cholesterol levels may be due to either an effect on cholesterol consumption or absorption (exogenous cholesterol) or an effect on lipid metabolism (endogenous cholesterol). Although our data demonstrates the association between Ucn2 and lipid metabolism, causative relationship between them requires further studies. To date, no effect of Ucn2 on hepatic lipid metabolism has been demonstrated, however Ucn2 overexpression in the adrenal glands reduces the steroidogenic response (25). Another possible beneficial effect of Ucn2 on the lipid profile may be due to the anorectic action of this peptide as there are a number of studies on animals showing that activation of Ucn2/CRH-R2 axis suppresses appetite (12), inhibit obesity development, and reduces whole-body fat mass without alteration in lean mass (26). To our knowledge this is the first study confirming that a higher level of logUcn2 is associated with a lower level of total cholesterol regardless of age, gender, and presence of arterial hypertension. Nevertheless, we did not find a relationship with the level of logUcn2 and body weight or related parameters such as BMI, WHR. To sum up, Ucn2 similarly to the endothelial lipase (27) may be a novel factor playing potential role in regulation of lipids blood level.

Ucn2 and glucose homeostasis

In our study, we found no relationship between logUcn2 and glucose level or insulin resistance indices, however the available data is inconsistent (26, 28-31). In humans, the short-term administration of Ucn2 did not affect blood glucose in healthy subjects (6, 9) as well as in patients with heart failure (7). The concentration of Ucn2 in women with polycystic ovary syndrome and in a healthy control group showed a positive correlation of Ucn2 with BMI, waist circumference, serum glucose, insulin and HOMA-IR (32). We did not find any association between metabolic indices or body mass and logUcn2 in our study.

Summarizing, the level of logUcn2 is lower in treatment-naïve hypertensive patients compared to normotensive subjects. Higher blood level of logUcn2 may be associated with a more favorable lipid profile and lower blood pressure values in healthy and untreated hypertensive patients. Ucn2 may become another pebble in Page's mosaic of blood pressure regulation and may turn out a potential target for cardiovascular prevention.

Strengths and limitations

To the best of our knowledge, this is the first study evaluating Ucn2 levels in treatment-naïve hypertensive patients. Also, there are no data assessing the relationship between Ucn2 and cardiovascular risk factors (BP, lipid profile, glucose homeostasis) in humans.

The main limitation of our study is the small size of the group. The cross-sectional design of the current study, although cost-effective and convenient, precludes the determination of causality between measured variables. Unfortunately, revealing cause-and-effect relationships between Ucn2 concentration, the values of BP and lipid levels seems to be crucial to fully

understand the results. Additionally the low value of the R-squared in the regressions is also the limitations of the study. That is why the level of evidence is of moderate importance. The study protocol has not been registered previously, so the incomplete data presentation bias cannot be estimated. Therefore, future projects exploring the topic of urocortins and the cardiovascular system need to be performed on large cohorts or registries assessing longitudinal data.

Author's contribution: A. Dzieza-Grudnik and O. Siga contributed equally to this work.

Funding: This work was supported by the Polish National Science Centre, DEC-2012/05/B/NZ4/02712.

Conflict of Interests: none declared.

REFERENCES

1. Wiley KE, Davenport AP. CRF2 receptors are highly expressed in the human cardiovascular system and their cognate ligands urocortins 2 and 3 are potent vasodilators. *Br J Pharmacol* 2004; 143: 508-514.
2. Adao R, Santos-Ribeiro D, Rademaker MT, Leite-Moreira AF, Bras-Silva C. Urocortin 2 in cardiovascular health and disease. *Drug Discov Today* 2015; 20: 906-914.
3. Chatzaki E, Kefala N, Drosos I, Lalidou F, Baritaki S. Do urocortins have a role in treating cardiovascular disease? *Drug Discov Today* 2019; 24: 279-284.
4. Rademaker MT, Charles CJ, Ellmers LJ, Lewis LK, Nicholls MG, Richards AM. Prolonged urocortin 2 administration in experimental heart failure: sustained hemodynamic, endocrine, and renal effects. *Hypertension* 2011; 57: 1136-1144.
5. Bale TL, Hoshijima M, Gu Y, *et al*. The cardiovascular physiologic actions of urocortin II: acute effects in murine heart failure. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 3697-3702.
6. Davis ME, Pemberton CJ, Yandle TG, *et al*. Urocortin 2 infusion in healthy humans: hemodynamic, neurohormonal, and renal responses. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 461-471.
7. Davis ME, Pemberton CJ, Yandle TG, *et al*. Urocortin 2 infusion in human heart failure. *Eur Heart J* 2007; 28: 2589-2597.
8. Brar BK, Jonassen AK, Egorina EM, *et al*. Urocortin-II and urocortin-III are cardioprotective against ischemia reperfusion injury: an essential endogenous cardioprotective role for corticotropin releasing factor receptor type 2 in the murine heart. *Endocrinology* 2004; 145: 24-35. Discussion 21-23.
9. Venkatasubramanian S, Griffiths ME, McLean SG, *et al*. Vascular effects of urocortins 2 and 3 in healthy volunteers. *J Am Heart Assoc* 2013; 2: e004267. doi: 10.1161/JAHA.112.004267
10. Dieterle T, Meili-Butz S, Buhler K, *et al*. Immediate and sustained blood pressure lowering by urocortin 2: a novel approach to antihypertensive therapy? *Hypertension* 2009; 53: 739-744.
11. Chan WY, Frampton CM, Crozier IG, Troughton RW, Richards AM. Urocortin-2 infusion in acute decompensated heart failure: findings from the UNICORN study (urocortin-2 in the treatment of acute heart failure as an adjunct over conventional therapy). *JACC Heart Fail* 2013; 1: 433-441.
12. Wang L, Stengel A, Goebel M, *et al*. Peripheral activation of corticotropin-releasing factor receptor 2 inhibits food intake and alters meal structures in mice. *Peptides* 2011; 32: 51-59.
13. Chao H, Digruccio M, Chen P, Li C. Type 2 corticotropin-releasing factor receptor in the ventromedial nucleus of hypothalamus is critical in regulating feeding and lipid metabolism in white adipose tissue. *Endocrinology* 2012; 153: 166-176.
14. Topal E, Yagmur J, Otlu B, *et al*. Relationship of urocortin-2 with systolic and diastolic functions and coronary artery disease: an observational study. *Anadolu Kardiyol Derg* 2012; 12: 115-120.
15. Aslan G, Aytekin S. Evaluation of serum urocortin 2 levels in patients with hypertension. *High Blood Press Cardiovasc Prev* 2020; 27: 35-42.
16. Williams B, Mancia G, Spiering W, *et al*. 2018 Practice guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. *Blood Press* 2018; 27: 314-340.
17. Coleman A, Freeman P, Steel S, Shennan A. Validation of the Omron 705IT (HEM-759-E) oscillometric blood pressure monitoring device according to the British Hypertension Society protocol. *Blood Press Monit* 2006; 11: 27-32.
18. O'Brien E, Mee F, Atkins N, O'Malley K. Accuracy of the SpaceLabs 90207 determined by the British Hypertension Society protocol. *J Hypertens* 1991; 9: 573-574.
19. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, *et al*. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009; 120: 1640-1645.
20. Stirrat CG, Venkatasubramanian S, Pawade T, *et al*. Cardiovascular effects of urocortin 2 and urocortin 3 in patients with chronic heart failure. *Br J Clin Pharmacol* 2016; 82: 974-982.
21. Walczewska J, Siga O, Dzieza-Grudnik A, *et al*. Urocortin 2 in patients with hypertension treated with angiotensin converting enzyme inhibitors or angiotensin receptor blockers. *J Physiol Pharmacol* 2019; 70: 315-322.
22. Kovacs DK, Farkas N, Soos A, *et al*. Assessment of clinical data on urocortins and their therapeutic potential in cardiovascular diseases: A systematic review and meta-analysis. *Clin Transl Sci* 2021; 14: 2461-2473.
23. Walczewska J, Dzieza-Grudnik A, Siga O, Grodzicki T. The role of urocortins in the cardiovascular system. *J Physiol Pharmacol* 2014; 65: 753-766.
24. Shepherd J. The role of the exogenous pathway in hypercholesterolaemia. *Eur Heart J Suppl* 2001; 3 (Suppl. E): E2-E5.
25. Spyroglou A, Riester A, Mueller-Peltzer K, *et al*. Adrenal and ovarian phenotype of a tissue-specific urocortin 2-overexpressing mouse model. *Endocrinology* 2015; 156: 2646-2656.
26. Borg ML, Massart J, Schonke M, *et al*. Modified UCN2 peptide acts as an insulin sensitizer in skeletal muscle of obese mice. *Diabetes* 2019; 68: 1403-1414.
27. Knapp M, Gorski J. Endothelial lipase: endothelial and biological function. *J Physiol Pharmacol* 2022; 73: 329-336.
28. Kim YC, Giamouridis D, Lai NC, *et al*. Urocortin 2 gene transfer reduces the adverse effects of a Western diet on cardiac function in mice. *Hum Gene Ther* 2019; 30: 693-701.
29. Gao MH, Giamouridis D, Lai NC, *et al*. One-time injection of AAV8 encoding urocortin 2 provides long-term resolution of insulin resistance. *JCI Insight* 2016; 1(15): e88322. doi: 10.1172/jci.insight.88322
30. Chen A, Brar B, Choi CS, *et al*. Urocortin 2 modulates glucose utilization and insulin sensitivity in skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 16580-16585.
31. Bale TL, Anderson KR, Roberts AJ, Lee KF, Nagy TR, Vale WW. Corticotropin-releasing factor receptor-2-deficient

mice display abnormal homeostatic responses to challenges of increased dietary fat and cold. *Endocrinology* 2003; 144: 2580-2587.
32. Temur M, Yilmaz O, Aksun S, *et al*. The relationship of urocortin-2 with insulin resistance patients having PCOS. *Gynecol Endocrinol* 2017; 33: 124-127.
33. Rademaker MT, Richards AM. Urocortins: actions in health and heart failure. *Clin Chim Acta* 2017; 474: 76-87.

Received: January 24, 2023
Accepted: February 28, 2023

Authors address: Dr. Jolanta Walczewska, Department of Internal Medicine and Gerontology, University Hospital, 2 Jakubowskiego Street, 30-688 Cracow, Poland.
E-mail: jolanta.walczewska@uj.edu.pl

12.3

Anna Dzieża-Grudnik, Olga Siga, Jolanta Walczewska, Barbara Wizner, Tomasz Mikołajczyk, Joanna Sulicka-Grodzicka, Tomasz Grodzicki

New onset hypertension is not associated with systemic changes in inflammatory cytokine levels.

Archives of Medical Science, 2023

New-onset hypertension is not associated with systemic changes in inflammatory cytokine levels

Anna Dzieża-Grudnik[1], Olga Siga[1], Jolanta Walczewska[1], Barbara Wizner[1], Tomasz P. Mikołajczyk[2,3], Joanna Sulicka-Grodzicka[4], Tomasz Grodzicki[1]

[1]Department of Internal Medicine and Gerontology, Jagiellonian University Medical College, Krakow, Poland
[2]Department of Internal and Agricultural Medicine, Jagiellonian University Medical College, Krakow, Poland
[3]Center for Medical Genomics OMICRON, Jagiellonian University Medical College, Krakow, Poland
[4]Clinic of Rheumatology and Immunology, Jagiellonian University Medical College, Krakow, Poland

Corresponding author:
Jolanta Walczewska PhD
Department of Internal Medicine and Gerontology
Jagiellonian University Medical College
10 Śniadeckich St
31-531 Krakow, Poland
E-mail: jolanta.walczewska@uj.edu.pl

Submitted: 16 May 2023; **accepted:** 11 July 2023
Online publication: 14 July 2023

Arch Med Sci
DOI: https://doi.org/10.5114/aoms/169502
Copyright © 2023 Termedia & Banach

Abstract

Introduction: Recent studies have suggested that hypertension development may be associated with an altered immune system. However, there is a paucity of data evaluating the association between blood pressure values and inflammatory markers in patients with new-onset hypertension.
Material and methods: We evaluated 61 subjects, including 24 healthy individuals and 37 newly diagnosed hypertensive patients (aged 45 ±9.6 vs. 43.8 ±11.9 years; SBP_24hours 114 ±7.1 vs. 134.2 ±9.5 mm Hg; DBP_24hours 71.2 ±4.7 vs. 85.8 ±9.3 mm Hg, respectively) without prior antihypertensive treatment. The diagnosis of hypertension was based on 24-hour ambulatory blood pressure monitoring (ABPM). We analysed the association between blood pressure values and levels of individual inflammatory markers (ITAC, GM-CSF, fractalkine, IFN-γ, IL-10, MIP-3α, IL-12, IL-13, IL-17A, IL-1β, IL-2, IL-21, IL-23, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, MIP-1α, MIP-1β, TNF-α, and IL-15) separately, as well as in clusters of inflammatory mediators (factor 1 – proinflammatory: IL-1β, IL2, IL-6, IL-7, IL-12, IL-6, IL-21, TNF-α, IFN-γ; and factor 2 – anti-inflammatory: IL-13, IL-5).
Results: Our study did not show any differences in concentrations of inflammatory markers between patients and controls. Plasma levels of inflammatory markers were not associated with 24-hour ambulatory blood pressure values in patients with new-onset hypertension.
Conclusions: Patients with new-onset hypertension did not differ from healthy subjects regarding the levels of plasma inflammatory markers. Our findings demonstrate the need for larger, more comprehensive studies on this topic to further elucidate the relationship between hypertension and inflammation.

Key words: hypertension, ambulatory blood pressure monitoring, cytokines, inflammatory factors.

Introduction

The regulation of blood pressure involves a complex interplay between the heart, vessels, and kidneys. However, recent studies have suggested that hypertension development may be associated with an altered

Creative Commons licenses: This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International (CC BY -NC -SA 4.0). License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

immune system [1–3]. Activation of immune cells (cytotoxic T lymphocyte [4], B lymphocyte [5, 6], or T helper lymphocyte [7]) leads to endothelial dysfunction, a process that involves abnormalities in endothelium-derived nitric oxidate production or bioavailability, impaired production of constrictive/relaxant factors, as well as pro-inflammatory and prothrombotic cytokines [8]. Consequently, inflammation increases vascular permeability, formation of neo-intima, and promotes vascular fibrosis [9].

The current scientific literature on the relationship between hypertension and inflammation in humans is limited. However, Siedlinski *et al.* discovered a positive and potentially causal relationship between blood lymphocyte counts and blood pressure [10]. Furthermore, an elevated level of interleukin (IL)-6 or high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) (but not IL-1β) is associated with an increased risk of developing hypertension [11]. The serum level of IL-17 is also elevated in patients with diabetes, hypertension [7], and pre-eclampsia [12]. The role of tumour necrosis factor α (TNF-α) remains unclear and may depend on the activation of one of the types of TNF-α receptors.

Despite preclinical evidence suggesting elevated levels of IL-1β in mouse models of hypertension are present, administration of canakinumab (a human monoclonal antibody targeted at IL-1β) does not reduce blood pressure or the development of hypertension in patients with cardiovascular disease [13]. In contrast, IL-10 plays a protective role in hypertension development in adults [14] or during pregnancy. Additionally, the serum levels of IL-10 are reduced in pre-eclampsia [15].

Given these limited findings, our study aimed to assess the role of inflammatory cytokines in newly diagnosed hypertensive patients and in healthy controls. We sought to establish the association between inflammatory markers and blood pressure in both groups.

Material and methods

Study population

We investigated a total of 61 adult subjects, comprising 24 healthy individuals and 37 newly diagnosed hypertensive patients without any prior treatment. The participants were recruited form Hypertension Outpatient Clinic and Primary Care Clinic of the University Hospital in Krakow, Poland. The study was conducted in the years 2013–2016. All participants provided informed consent. Patients with heart failure, diabetes, malignant tumour, chronic kidney disease, inflammatory bowel disease, secondary forms of hypertension, or taking statins were excluded from the study. The evaluation included anthropometric measurements (weight, height, body mass index), physical examination, and medical history. The study protocol was approved by the Bioethical Committee of the Jagiellonian University Medical College (no. 151/B/2012).

Ambulatory blood pressure measurement

Ambulatory blood pressure monitoring (ABPM) was conducted using an automatic SpaceLabs-90207 [16] oscillometric device (SpaceLabs Healthcare, Hertford, UK) during the patient's ordinary activity considering both night and day periods. Recordings were taken every 20 min during the day and every 30 min during the night on the nondominant arms, and a minimum of 70% successful readings were required for data validation. A diagnosis of hypertension based on ABPM measurements [17], with patients assigned to the hypertensive group if any value of systolic or diastolic blood pressure (ambulatory blood pressure – daytime mean ≥ 135 mm Hg and/or ≥ 85 mm Hg; night-time mean ≥ 120 mm Hg and/or ≥ 70 mm Hg; 24 h mean ≥ 130 mm Hg and/or ≥ 80 mm Hg 24 h) exceeded the reference range; they were otherwise classified as healthy.

Carotid femoral pulse wave velocity

The evaluation of carotid-femoral pulse wave velocity (cfPWV) was performed using a Complior device (Complior, Colson, Garges-les-Gonesse, France) with 2 pressure-sensitive transducers placed directly on the skin above the femoral and carotid artery track. The distance was calculated as 80% of the direct tape-measured length between those 2 points. The average of 10 consecutive measurements was considered for analysis with the elimination of the 2 extreme values (the minimum and maximum). Measurements were performed according to the expert consensus on cfPWV [18].

Blood analyses

Blood samples were taken after at least 8 hours fasting in the morning (between 7 and 9 a.m.). We assessed the serum levels of glucose, creatinine, total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), and triglycerides (TG) using a Hitachi 917 analyser (Roche Diagnostic, Hitachi Ltd., Japan) using standardized laboratory technics. Serum levels of hs-CRP were measured with immunonephelometry (Nephelometer BM II, Siemens Healthcare Diagnostics Inc., USA). The glomerular filtration rate was estimated using the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) equation [19]. Glycated haemoglobin (HbA1c) was assessed in whole blood samples using a Bio Rad D-10 (Bio Rad Laboratories, Inc., USA).

Peripheral blood was collected in tubes containing ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) to

assess circulating biomarkers. Next, the samples were centrifuged at 400 × g for 10 min. The platelet-rich plasma was then collected and centrifuged at 2000 × g for 15 min at 4°C. Plasma samples without pellets were then collected and stored at –80°C until analysis. Samples were analysed for interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant (ITAC), granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), fractalkine, interferon-γ (IFN-γ), IL-10, macrophage inflammatory protein (MIP)-3α, IL-12, IL-13, IL-17A, IL-1β, IL-2, IL-21, IL-23, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, MIP-1α, MIP-1β, TNF-α, and IL-15 with Luminex technology using standard kits (MILLIPLEX® Human High Sensitivity T Cell Magnetic Bead Panel, Millipore, Merck and Luminex Performance Human High Sensitivity Cytokine Panel B, R&D, Bio-Techne, respectively) and were read on a Luminex 200 machine (Biorad) in accordance with the manufacturer's instructions.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using Statistica version 13 software (Statistica, StatSoft Poland, Dell Inc.). The normality of distribution was confirmed using the Shapiro-Wilk test. Variables with a Gaussian distribution were presented as mean ± standard deviation (SD) whereas those with a skewed distribution were presented as median and quartile range (upper-lower quartile). Data on frequency were given as numbers and percentages. The comparative analyses were conducted with Student's t-test (normal distribution pattern) or the *U* Mann-Whitney test (skewed distribution) for continuous variables, and the χ^2 test and Fisher exact test for qualitative data. Two-tailed *p* values of less than 0.05 were considered statistically significant. Correlations between variables were assessed with Pearson's or Spearman's tests. Logarithmic transformation was performed with variables with non-Gaussian distribution when necessary. Multivariable regression analyses were performed to assess the independent effects of gender, age, BMI, and appropriate interleukin on the blood pressure value.

Exploratory factor analysis (EFA) with SPSS IBM version 28 (IBM Corporation, Armonk, New York) was used to create pro-inflammatory and anti-inflammatory mediator factors. EFA was performed using principal component analysis and varimax rotation; only factors with an eigenvalue value > 1 were retained. The minimum factor loading criteria was 0.3. The Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) value was used to measure sampling adequacy. Factors with double loading or without any were eliminated from the analysis. Finally, based on the literature, we eliminated 2 inflammatory mediators (IL-10 and IL-8 from the pro-inflammatory factor and anti-inflammatory factor, respectively).

Results

We investigated 61 subjects: 24 healthy and 37 with newly diagnosed hypertension without any treatment. The groups differed in terms of BMI and blood pressure values (Table I). We did not find differences in the level of pro-inflammatory and anti-inflammatory factors, such as TNF-α, IFN-γ, IL-1β, IL-2, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-21, IL-23, hs-CRP, MIP-1α, MIP-1β, MIP-3α, GM-CSF, fractalkine, and ITAC (Table II), nor in arterial stiffness parameters (cfPWV).

There were no differences in lipid levels between patients after Bonferroni corrections.

Table I. Comparison between the 2 groups

Parameters	nHT group *N* = 24	HT group *N* = 37	*P*-value
Age [years]	45 ±9.6	43.8 ±11.9	0.683
Gender – male *n*, (%)	9 (37.5)	20 (54.05)	0.206
BMI [kg/m^2]	24.2 ±3.7	28.2 ±4	0.000
Creatinine level [µmol/l]	72.4 ±10.2	74.3 ±11.8	0.524
HbA1c [%]	5.4 ±0.2	5.38 ±0.37	0.474
SBP_24hours [mm Hg]	114 ±7.1	134.2 ±9.5	0.000
DBP_24hours [mm Hg]	71.2 ±4.7	85.8 ±9.3	0.000
cfPWV [m/s]	8.75 (7.9–10.5)	9.6 (8.6–10.3)	0.167
Cholesterol [mmol/l]	5.2 ±1.1	5.5 ±0.9	0.247
HDL-C [mmol/l]	1.54 (1.2–1.9)	1.4 (1.16–1.72)	0.197
LDL-C [mmol/l]	3.1 ±1	3.3 ±0.8	0.323
TG [mmol/l]	1.0 (0.76–1.63)	1.63 (1.14–1.96)	0.016

Bonferroni correction – p significant < 0.001. Data shown as means (SD), medians (IQR), or numbers (percentages). BMI – body mass index, DBP – diastolic blood pressure, HbA1c – glycated haemoglobin, HDL-C – high-density lipoprotein cholesterol, HT group – group with newly detected hypertension, LDL-C – low-density lipoprotein cholesterol, nHT group – group without hypertension, SBP – systolic blood pressure, TG – triglyceride.

Table II. Comparison of the levels of pro-inflammatory and anti-inflammatory factors in the non-hypertensive and hypertensive groups

Inflammatory factor	nHT group *N* = 24	HT group *N* = 37	*P*-value
IL-1β [pg/ml]	2.53 (1.43–4.59)	1.9 (1.12–3.36)	0.43
IL-2 [pg/ml]	3.53 (6.23–3.29)	2,48 (0.92–4.64)	0.295
IL-5 [pg/ml]	5.19 (2.75–8.31)	5.34 (2.56–8.38)	0.976
IL-6 [pg/ml]	2 ±1.27	1.8 ±1.27	0.551
IL-7 [pg/ml]	0.68 (0.42–4.35)	3.1 (0.42–6.6)	0.144
IL-8 [pg/ml]	4.35 (3.65–5.79)	3.94 (3.06–5.42)	0.301
IL-10 [pg/ml]	9.06 (5.29–27.18)	16.86 (5.92–24.96)	0.600
IL-12 [pg/ml]	7.32 (2.89–10.4)	5.78 (1.78–10.86)	0.38
IL-13 [pg/ml]	4.83 (1.87–9.78)	3.08 (1,46–6.36)	0.220
IL-15 [pg/ml]	1.11 ±0.32	1.04 ±0.37	0.406
IL-17A [pg/ml]	6.13 (3.85–10.08)	5.92 (2.8–13.18)	0.959
IL-21 [pg/ml]	0.45 (0.14–1.68)	0.14 (0.14–1.02)	0.275
IL-23 [pg/ml]	165.33 (34.44–586.88)	85.66 (21.42–430.4)	0.392
TNF-α [pg/ml]	5.46 (3.61–7.82)	5.58 (3.82–7.82)	0.894
IFN-γ [pg/ml]	21.38 ±15.64	25.68 ±17.04	0.324
hs-CRP [mg/l]	0.8 (0.44–1.27)	1.03 (0.66–1.35)	0.159
MIP-1α [pg/ml]	20.67 (17.18–25.43)	21.16 (11.98–26.72)	0.953
MIP-1β [pg/ml]	13.72 (11.36–25.43)	12.7 (8.74–17.4)	0.326
MIP-3α [pg/ml]	0.83 (0.8–2.03)	0.83 (0.83–3.24)	0.808
GM-CSF [pg/ml]	22.65 (2.95–35.58)	14.88 (4.44–42.2)	0.935
Fractalkine [pg/ml]	54.36 (25.88–111.99)	91.38 (23.84–127.82)	0.575
ITAC [pg/ml]	24.68 (15.73–35.66)	29.3 (23.64–38.62)	0.291

Bonferroni correction – p significant < 0.001. Data shown as means (SD) or medians (IQR). GM-CSF – granulocyte-macrophage colony-stimulating, IFN-γ – interferon-γ, IL – interleukin, ITAC –interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant, MIP – macrophage inflammatory protein, TNF-α – tumour necrosis factor α.

Correlation between inflammatory factors and the value of blood pressure

We analysed 22 markers of inflammation (TNF-α, IFN-γ, IL-1β, IL-2, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-21, IL-23, hs-CRP, MIP-1α, MIP-1β, MIP-3α, GM-CSF, fractalkine, and ITAC) and 24-hour blood pressure monitoring of systolic and diastolic blood values during the day and night period (SBP_24hour, DBP_24hour, SBP_DAY, DBP_DAY, SBP_NIGHT, DBP_NIGHT). We found that 4 of these markers (IL-5, IL-8, hs-CRP, and ITAC) were significantly correlated with ambulatory blood pressure values in patients or controls (Table III).

Table III. Correlations (Spearman) between inflammatory indices (hs-CRP, ITAC, IL-5, IL-8) and the value of blood pressure in controls and patients with hypertension

Parameters	nHT group (*N* = 23) hs-CRP		nHT group (*N* = 24) ITAC		HT group (*N* = 37) IL-5		HT group (*N* = 37) IL-8	
	r	*p*-value	*r*	*p*-value	*r*	*p*-value	*r*	*p*-value
SBP_24hours [mm Hg]	0.239	0.272	0.509	0.011	0.079	0.643	0.041	0.808
DBP_24hours [mm Hg]	–0.108	0.624	0.400	0.053	0.361	0.028	0.235	0.162
SBP_DAY [mm Hg]	0.056	0.798	0.423	0.04	0.077	0.652	0.004	0.983
DBP_DAY [mm Hg]	–0.191	0.382	0.411	0.046	0.335	0.043	0.184	0.276
SBP_NIGHT [mm Hg]	0.561	0.005	0.46	0.024	0.232	0.167	0.228	0.175
DBP_NIGHT [mm Hg]	0.23	0.292	0.415	0.044	0.460	0.004	0.436	0.007

nHT group – group without hypertension, HT group – group with newly detected hypertension, r – correlation coefficient, hs-CRP – high-sensitivity C-reactive protein, IL – interleukin, ITAC – interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant, DBP – diastolic blood pressure, SBP – systolic blood pressure.

Table IV. A – Multivariable regression analysis in patients and the control group (loghs-CRP, logIL-5, logIL-8)

Parameters	SBP_NIGHT (loghs-CRP)		DBP_24hours (logIL-5)		DBP_DAY (logIL-5)		DBP_NIGHT (logIL-5)		DBP_NIGHT (logIL-8)	
	β (SE)	*p*	β (SE)	*p*	β (SE)	*p*	β (SE)	*p*	β (SE)	*p*
Age	–0.104 (0.13)	0.409	–0.068 (0.13)	0.608	–0.097 (0.13)	0.46	0.026 (0.13)	0.846	0.001 (0.13)	0.996
Gender	1.218 (2.89)	0.676	0.095 (0.14)	0.488	0.129 (0.13)	0.341	–0.014 (0.14)	0.92	–0.491 (2.88)	0.865
BMI	1.226 (0.36)	0.001	0.247 (0.14)	0.075	0.252 (0.13)	0.066	0.21 (0.14)	0.131	0.604 (0.34)	0.086
Inflammatory factor	1.513 (1.68)	0.373	0.136 (0.14)	0.305	0.137 (0.13)	0.296	0.192 (0.13)	0.153	3.284 (3.37)	0.333

hs-CRP – high-sensitivity C-reactive protein; IL – interleukin, ITAC – interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant.

Table IV. B – Multivariable regression analysis in patients and control group (logITAC)

Parameters	SBP_24hours		SBP_DAY		DBP_DAY		SBP_NIGHT		DBP_NIGHT	
	β (SE)	*p*	β (SE)	*p*	β (SE)	*p*	β (SE)	*p*	β (SE)	*p*
Age	–0.149 (0.13)	0.269	–0.172 (0.14)	0.223	–0.096 (0.13)	0.449	–0.105 (0.12)	0.399	0.019 (0.13)	0.882
Gender	6.275 (6.28)	0.040	8.28 (3.13)	0.011	2.316 (2.82)	0.416	0.928 (2.78)	0.739	–0.822 (2.88)	0.776
BMI	1.124 (0.37)	0.003	1.152 (0.39)	0.004	0.718 (0.35)	0.044	1.149 (0.34)	0.001	0.612 (0.35)	0.090
logITAC	8.813 (5.63)	0.124	8.899 (5.92)	0.139	–3.316 (5.33)	0.537	6.347 (5.24)	0.231	–2.701 (5.44)	0.622

ITAC – interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant.

The remaining inflammatory markers were not correlated with any of the blood pressure values (SBP_24hours, DBP_24hours, SBP_DAY, DBP_DAY, SBP_NIGHT, DBP_NIGHT), either in subgroups or collectively.

Multivariable regression analysis

After adjusting for gender, age, BMI, and the logarithmic value of hs-CRP, IL-5, IL-8, and ITAC levels were not associated with blood pressure values (Tables IV A, B).

Exploratory factor analysis

Initially, we included 22 inflammatory factors in the analysis (KMO value – 0.732; Bartlett's sphericity test was < 0.001). During the analysis only 11 mediators met all the requirements (KMO value – 0.732; Bartlett's sphericity test was < 0.001) and 2 factors were created (Table V) – factor 1 (proinflammatory: IL-1β, IL-2, IL-6, IL-7, IL-12, IL-6, IL-21, TNF-α, IFN-γ) and factor 2 (anti-inflammatory: IL-13, IL-5). The mediators: IL-8, IL-10, IL-15, IL-23, hs-CRP, MIP-1α, MIP-1β, MIP-3α, GM-CSF, fractalkine, and ITAC were eliminated during the analysis.

We did not find any differences in factor 1 (p = 0.825) and factor 2 (p = 0.4) values in the hypertensive or healthy group; nor did we find any correlation between factor 1 or factor 2 and any of the blood pressure values.

Discussion

We did not find any differences in the concentration of multiple inflammatory markers between normotensive and hypertensive patients; nor did we find any correlation between blood pressure

Table V. Inflammatory mediator scores in patients and controls

Parameters	Factor 1	Factor 2
IL-1β	0.807	
IL-2	0.873	
IL-6	0.758	
IL-7	0.629	
IL-12	0.802	
IL-17	0.805	
IL-21	0.552	
INF-γ	0.750	
TNF-α	0.687	
IL-5		0.847
IL-13		0.929
Eigenvalue	5.216	1.712
Cumulative %	47.415	62.976
Alfa Cronbach	0.773	0.800

Factor 1: pro-inflammatory, Factor 2: anti-inflammatory.

values and inflammatory factors. However, the patients included in our study had new-onset hypertension and did not show evidence of increased arterial stiffness (cfPWV 8.75 (7.9–10.5) m/s vs. 9.6 (8.6–10.3) m/s, $p = 0.17$; normotensive versus hypertensive patients, respectively). Our findings do not necessarily exclude a connection between inflammatory factors and hypertension, because this may be due to a low level of inflammatory markers in the plasma at this stage of the disease. Similarly, Vazquez-Oliva *et al.*, found no difference in IL-6 levels between normotensive and newly diagnosed hypertensive patients; however, after irbesartan treatment, IL-6 levels decreased significantly [20]. On the other hand, Jayedi *et al.* performed a meta-analysis [11] and showed that there was a relationship between inflammatory markers (hs-CRP and IL-6) and the risk of developing hypertension in a prospective or nested case-control study. Some studies evaluated PCSK9 as an early biomarker of screening-detected hypertension [21]. Our study was cross-sectional; therefore, it was not possible to assess a causal association between inflammation and hypertension.

Contrary to our results, the study by Stumpf *et al.* showed elevated levels of hs-CRP, IL-6, TNFα, and MCP-1 in 15 patients with newly diagnosed mild hypertension compared to healthy controls [22]. Similarly, prehypertensive patients had higher levels of IL-17, even after adjusting for confounding factors [23]. Furthermore, Madhur *et al.* demonstrated that 94 patients with diabetes and hypertension had elevated IL-17 levels compared to healthy patients [7]. However, most patients in the latter study had comorbidities (diabetes, cardiovascular disease, or obesity) and were on anti-hypertensive treatment, which could have affected the IL-17 levels [24, 25], or they took lipid lowering medication, which may have influenced CRP levels [26]. In our study, both groups differed only in blood pressure and BMI values and had no comorbidities.

Considering the complexity of the interaction between the innate and adaptive immune systems in hypertension, we created 2 clusters of inflammatory mediators: factor 1 – pro-inflammatory (IL-1β, IL-2, IL-6, IL-7, IL-12, IL-17, IL-21, INF-γ, TNF-α) and factor 2 – anti-inflammatory (IL-5, IL-13). We did not find any correlation between blood pressure values and clusters of inflammatory markers. However, a similar analysis revealed a relationship between the inflammatory clusters and changes in blood pressure during a 4.5-year follow-up, but not with the baseline blood pressure [27].

The role of the immune system in the development of hypertension is complex and activates both the innate and the adaptive immune system [1]. The suggested mechanism of activation of the immune system assumes that a primary moderate increase in the blood pressure initiates mechanical and oxidative damage, which results in the formation of danger-associated molecular protein (DAMPS) and hypertension-specific neoantigens [28]. Then DAMPS are recognized by TLRs (toll-like receptors) in macrophages and dendritic cells, which in response produce inflammatory cytokines; neoantigens may be presented to B cells and T cells by dendritic cells, which promotes the differentiation of plasma cells and effector T cells [1]. Some immune cells (Treg) may also play a protective role against the development of hypertension.

In summary, our study did not identify any differences in cytokine levels between normotensive and hypertensive patients, nor any correlation with blood pressure values. However, it should be noted that we included subjects with mild hypertension because the mean circadian blood pressure value in the hypertensive group was relatively low (134.2/85.8 mm Hg) and they did not present arterial stiffness. The inclusion of patients with new-onset hypertension could potentially explain the similar levels of inflammatory markers observed in both groups.

Although our study did not find significant differences in inflammatory factors among patients with early hypertension, this does not rule out the possible role of inflammation in hypertension. First, it is possible that local inflammatory processes in the kidneys and blood vessels are not fully reflected by systemic cytokine levels. Second, inflammation may become more pronounced in the advanced stages of hypertension, whereas the initial stimulus for the development of the disease is related to sympathetic activation and other classical mechanisms of hypertension.

One of the limitations of our study is the relatively small number of patients included; however, it is important to note that numerous studies conducted on even smaller-sized groups have yielded insightful and valid results [29]. Additionally, there are several factors, such as smoking, abdominal obesity [30], lifestyle [31, 32], sodium intake, uric acid level, and hormonal status [33], which may have influenced the levels of the studied inflammatory markers but were not included in our analyses.

However, our study has several strengths that contribute to its unique nature. Firstly, we have successfully recruited treatment-naïve patients in the early stages of the disease, allowing us to explore the disease progression with fresh insights. Additionally, our utilization of ambulatory blood pressure monitoring ensures a comprehensive

evaluation of blood pressure. Furthermore, our study stands out due to its novelty in assessing not only common inflammatory markers but also a wide range of inflammatory interleukins, many of which have not been studied in the context of hypertension. Overall, the combined strengths of our study include the enrolment of treatment-naïve patients, the use of ambulatory blood pressure monitoring, and a comprehensive assessment of inflammatory markers separately and combined in pro- or anti-inflammatory factors.

In conclusion, patients with new-onset hypertension did not differ in the levels of plasma inflammatory markers from healthy subjects. IL-5 and IL-8 positively correlated with blood pressure levels in hypertensive patients, and CRP and ITAC positively correlated with blood pressure levels in the normotensive group, but after adjusting for age, sex, and BMI the associations were no longer statistically significant. We did confirm a significant relationship between blood pressure and BMI, so the main effort should be focused on reducing body weight for the prevention and treatment of hypertension. Further research is necessary to evaluate a possible association between inflammation and blood pressure.

Acknowledgments

This work was supported by the Polish National Science Centre, DEC-2012/05/B/NZ4/02712.

Our laboratory is supported by the Polish National Centre for Research and Development (ERA-CVD/NEMO/7/2019 – TPM) and the Mobility Plus Program of the Polish Ministry of Science and Higher Education (1280/MOB/IV/2015/0 – TPM).

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Drummond GR, Vinh A, Guzik TJ, Sobey CG. Immune mechanisms of hypertension. Nat Rev Immunol 2019; 19: 517-32.
2. Rizzoni D, De Ciuceis C, Szczepaniak P, Paradis P, Schiffrin EL, Guzik TJ. Immune system and microvascular remodeling in humans. Hypertension 2022; 79: 691-705.
3. Murray EC, Nosalski R, MacRitchie N, et al. Therapeutic targeting of inflammation in hypertension: from novel mechanisms to translational perspective. Cardiovasc Res 2021; 117: 2589-609.
4. Trott DW, Thabet SR, Kirabo A, et al. Oligoclonal CD8+ T cells play a critical role in the development of hypertension. Hypertension 2014; 64: 1108-15.
5. Guzik TJ, Hoch NE, Brown KA, et al. Role of the T cell in the genesis of angiotensin II induced hypertension and vascular dysfunction. J Exp Med 2007; 204: 2449-60.
6. Sundgren NC, Vongpatanasin W, Boggan BM, et al. IgG receptor FcgammaRIIB plays a key role in obesity-induced hypertension. Hypertension 2015; 65: 456-62.
7. Madhur MS, Lob HE, McCann LA, et al. Interleukin 17 promotes angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction. Hypertension 2010; 55: 500-7.
8. Silva IVG, de Figueiredo RC, Rios DRA. Effect of different classes of antihypertensive drugs on endothelial function and inflammation. Int J Mol Sci 2019; 20: 3458.
9. Oparil S, Acelajado MC, Bakris GL, et al. Hypertension. Nat Rev Dis Primers 2018; 4: 18014.
10. Siedlinski M, Jozefczuk E, Xu X, et al. White blood cells and blood pressure: a Mendelian randomization study. Circulation 2020; 141: 1307-17.
11. Jayedi A, Rahimi K, Bautista LE, Nazarzadeh M, Zargar MS, Shab-Bidar S. Inflammation markers and risk of developing hypertension: a meta-analysis of cohort studies. Heart 2019; 105: 686-92.
12. De Miguel C, Rudemiller NP, Abais JM, Mattson DL. Inflammation and hypertension: new understandings and potential therapeutic targets. Curr Hypertens Rep 2015; 17: 507.
13. Rothman AM, MacFadyen J, Thuren T, et al. Effects of interleukin-1beta inhibition on blood pressure, incident hypertension, and residual inflammatory risk: a secondary analysis of CANTOS. Hypertension 2020; 75: 477-82.
14. Timasheva YR, Nasibullin TR, Zakirova AN, Mustafina OE. Association of interleukin-6, interleukin-12, and interleukin-10 gene polymorphisms with essential hypertension in Tatars from Russia. Biochem Genet 2008; 46: 64-74.
15. McMaster WG, Kirabo A, Madhur MS, Harrison DG. Inflammation, immunity, and hypertensive end-organ damage. Circ Res 2015; 116: 1022-33.
16. O'Brien E, Mee F, Atkins N, O'Malley K. Accuracy of the SpaceLabs 90207 determined by the British Hypertension Society protocol. J Hypertens 1991; 9: 573-4.
17. Williams B, Mancia G, Spiering W, et al. 2018 Practice Guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. Blood Press 2018; 27: 314-40.
18. Van Bortel LM, Laurent S, Boutouyrie P, et al.; Artery Society; European Society of Hypertension Working Group on Vascular Structure and Function; European Network for Noninvasive Investigation of Large Arteries. Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. J Hypertens 2012; 30: 445-8.
19. Levey AS, Greene T, Kusek JW, Beck GJ. A simplified equation to predict GFR from serum creatinine. Am J Kidney Dis 2002; 39 (2 suppl.): S76-S110.
20. Vazquez-Oliva G, Fernandez-Real JM, Zamora A, Vilaseca M, Badimon L. Lowering of blood pressure leads to decreased circulating interleukin-6 in hypertensive subjects. J Hum Hypertens 2005; 19: 457-62.
21. Charkiewicz AE, Garley M, Ratajczak-Wrona W, et al. The diagnostic potential of novel biomarkers of hypertension in men. Arch Med Sci 2022; 18: 1666-71.
22. Stumpf C, John S, Jukic J, et al. Enhanced levels of platelet P-selectin and circulating cytokines in young patients with mild arterial hypertension. J Hypertens 2005; 23: 995-1000.
23. Yao W, Sun Y, Wang X, Niu K. Elevated serum level of interleukin 17 in a population with prehypertension. J Clin Hypertens (Greenwich) 2015; 17: 770-4.
24. Amador CA, Barrientos V, Pena J, et al. Spironolactone decreases DOCA-salt-induced organ damage by blocking the activation of T helper 17 and the downregulation of regulatory T lymphocytes. Hypertension 2014; 63: 797-803.

25. Awad K, Zaki MM, Mohammed M, et al. Effect of the renin-angiotensin system inhibitors on inflammatory markers: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Mayo Clin Proc 2022; 97: 1808-23.
26. Ugovsek S, Zupan J, Likozar AR, Sebestjen M. Influence of lipid-lowering drugs on inflammation: what is yet to be done? Arch Med Sci 2022; 18: 855-69.
27. Crouch SH, Botha-Le Roux S, Delles C, Graham LA, Schutte AE. Inflammation and hypertension development: a longitudinal analysis of the African-PREDICT study. Int J Cardiol Hypertens 2020; 7: 100067.
28. Harrison DG, Vink A, Lob H, Madhur MS. Role of the adaptive immune system in hypertension. Curr Opin Pharmacol 2010; 10: 203-7.
29. Rysz J, Banach M, Cialkowska-Rysz A, et al. Blood serum levels of IL-2, IL-6, IL-8, TNF-alpha and IL-1beta in patients on maintenance hemodialysis. Cell Mol Immunol 2006; 3: 151-4.
30. Dobrowolski P, Prejbisz A, Kurylowicz A, et al. Metabolic syndrome – a new definition and management guidelines: A joint position paper by the Polish Society of Hypertension, Polish Society for the Treatment of Obesity, Polish Lipid Association, Polish Association for Study of Liver, Polish Society of Family Medicine, Polish Society of Lifestyle Medicine, Division of Prevention and Epidemiology Polish Cardiac Society, "Club 30" Polish Cardiac Society, and Division of Metabolic and Bariatric Surgery Society of Polish Surgeons. Arch Med Sci 2022; 18: 1133-56.
31. Surma S, Sahebkar A, Banach M. Coffee or tea: Anti-inflammatory properties in the context of atherosclerotic cardiovascular disease prevention. Pharmacol Res 2023; 187: 106596.
32. Chrusciel P, Stemplewska P, Stemplewski A, et al. Associations between the lipid profile and the development of hypertension in young individuals – the preliminary study. Arch Med Sci 2022; 18: 25-35.
33. Ryczkowska K, Adach W, Janikowski K, Banach M, Bielecka-Dabrowa A. Menopause and women's cardiovascular health: Is it really an obvious relationship? Arch Med Sci 2023; 19: 458-66.

13. Oświadczenia współautorów

Oświadczenia części współautorów zgodnie z § 5 ust. 2 Rozporządzenia MNiSW z dnia 30 października 2015 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, w postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora.
(Dz. U. z 2015 r., poz. 1842)

13.1 Anna Dzieża-Grudnik, Joanna Sulicka, Magdalena Strach, Olga Siga, Ewa Klimek, Mariusz Korkosz, Tomasz Grodzicki

Arterial stiffness is not increased in patients with short duration rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis

Kraków, 29.05.2023

Lek. Anna Dzieża-Grudnik
Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy: „Arterial stiffness is not increased in patients with short duration rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis", Blood Pressure, 2017, vol. 26, nr 2, s.115-121 oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: opracowywaniu danych, wykonywaniu analiz statystycznych, interpretacji danych, tworzeniu manuskryptu; analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

.....
(podpis współautora)

Kraków, 29.05.2023

Lek.Olga Siga
Klinika Reumatologii
Szpital Uniwersytecki w Krakowie

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy: „Arterial stiffness is not increased in patients with short duration rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis", Blood Pressure, 2017, vol. 26, nr 2, s.115-121 oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: interpretacji danych, analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Annę Dzieżę-Grudnik jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Anny Dzieży-Grudnik polegający na: opracowywaniu danych, wykonywaniu analiz statystycznych, interpretacji danych, tworzeniu manuskryptu; analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

Olga Siga
.....
(podpis współautora)

Kraków, 29.05.2023

Dr n.med.Ewa Klimek
Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy: „Arterial stiffness is not increased in patients with short duration rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis", Blood Pressure, 2017, vol. 26, nr 2, s.115-121 oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: opracowaniu koncepcji badań, pozyskiwaniu danych, wykonywania pomiarów, opracowywaniu danych, analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Annę Dzieżę-Grudnik jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Anny Dzieży-Grudnik polegający na: opracowywaniu danych, wykonywaniu analiz statystycznych, interpretacji danych, tworzeniu manuskryptu; analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

.....
(podpis współautora)

Kraków, 29.05.2023

Dr n. med. Joanna Sulicka - Grodzicka
Klinika Reumatologii
Szpital Uniwersytecki w Krakowie

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy: „Arterial stiffness is not increased in patients with short duration rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis", Blood Pressure, 2017, vol. 26, nr 2, s.115-121 oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: opracowaniu koncepcji badań, pozyskiwaniu danych, wykonywania pomiarów, opracowywaniu danych, wykonywaniu analiz statystycznych, interpretacji danych, tworzeniu manuskryptu, analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Annę Dzieżę-Grudnik jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Anny Dzieży-Grudnik polegający na: opracowywaniu danych, wykonywaniu analiz statystycznych, interpretacji danych, tworzeniu manuskryptu, analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

J. Sulicka-Grodzicka

(podpis współautora)

Kraków, 30.05.2023

Prof. dr hab. Tomasz Grodzicki
Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy: „Arterial stiffness is not increased in patients with short duration rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis", Blood Pressure, 2017, vol. 26, nr 2, s.115-121 oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, opracowaniu koncepcji badań, analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Annę Dzieżę-Grudnik jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Anny Dzieży-Grudnik polegający na: opracowywaniu danych, wykonywaniu analiz statystycznych, interpretacji danych, tworzeniu manuskryptu, analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

KIEROWNIK
Oddziału Klinicznego
Chorób Wewnętrznych i Geriatrii
Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie
prof. dr hab. med. Tomasz Grodzicki

.....
(podpis współautora)

13.2 Anna Dzieża-Grudnik, Olga Siga, Jolanta Walczewska, Barbara Wizner, Paweł P. Wołkow, Franz H. Messerli, Tomasz Grodzicki

Urocortin 2 – A Protective Effect in Hypertension?

Journal of Physiology and Pharmacology 2023, 74, 1, 3-10

Kraków, 29.05.2023

Lek. Anna Dzieża-Grudnik
Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy: "Urocortin 2 – Urocortin 2 – A Protective Effect in Hypertension? Urocortin 2 – A Protective Effect in hypertension?" Journal of Physiology and Pharmacology 2023, 74, 1, 3-10 oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: opracowaniu koncepcji badań, pozyskiwaniu danych, wykonywania pomiarów, opracowywaniu danych, wykonywaniu analiz statystycznych, interpretacji danych, tworzeniu manuskryptu; analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

.....
(podpis współautora)

Kraków, 29.05.2023

Lek.Olga Siga
Klinika Reumatologii
Szpital Uniwersytecki w Krakowie

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy: "Urocortin 2 – Urocortin 2 – A Protective Effect in Hypertension? Urocortin 2 – A Protective Effect in hypertension?" Journal of Physiology and Pharmacology 2023, 74, 1, 3-10 oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: opracowaniu koncepcji badań, pozyskiwaniu danych, wykonywania pomiarów, opracowywaniu danych, wykonywaniu analiz statystycznych, interpretacji danych, tworzeniu manuskryptu; analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Annę Dzieżę-Grudnik jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Anny Dzieży-Grudnik polegający na: opracowaniu koncepcji badań, pozyskiwaniu danych, wykonywania pomiarów, opracowywaniu danych, wykonywaniu analiz statystycznych, interpretacji danych, tworzeniu manuskryptu; analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

.....
(podpis współautora)

Kraków, 29.05.2023

Dr n. med. Jolanta Walczewska
Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy: "Urocortin 2 – Urocortin 2 – A Protective Effect in Hypertension? Urocortin 2 – A Protective Effect in hypertension?" Journal of Physiology and Pharmacology 2023, 74, 1, 3-10 oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, opracowaniu koncepcji badań, pozyskiwaniu danych, interpretacji danych, analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Annę Dzieżę-Grudnik jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Anny Dzieży-Grudnik polegający na: opracowaniu koncepcji badań, pozyskiwaniu danych, wykonywania pomiarów, opracowywaniu danych, wykonywaniu analiz statystycznych, interpretacji danych, tworzeniu manuskryptu; analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

Jolanta Walczewska

.....
(podpis współautora)

Kraków, 29.05.2023

Dr hab. n.med. Barbara Wizner
Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy: "Urocortin 2 – Urocortin 2 – A Protective Effect in Hypertension? Urocortin 2 – A Protective Effect in hypertension?" Journal of Physiology and Pharmacology 2023, 74, 1, 3-10 oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: opracowaniu i interpretacji wyników tej pracy, analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Annę Dzieżę-Grudnik jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Anny Dzieży-Grudnik polegający na: opracowaniu koncepcji badań, pozyskiwaniu danych, wykonywaniu pomiarów, opracowywaniu danych, wykonywaniu analiz statystycznych, interpretacji danych, tworzenie manuskryptu; analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

Barbara Wizner
.....
(podpis współautora)

Kraków, 30.05.2023

Prof. dr hab. Tomasz Grodzicki
Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy: "Urocortin 2 – Urocortin 2 – A Protective Effect in Hypertension? Urocortin 2 – A Protective Effect in hypertension?" Journal of Physiology and Pharmacology 2023, 74, 1, 3-10 oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, opracowaniu koncepcji badań, analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Annę Dzieżę-Grudnik jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Anny Dzieży-Grudnik polegający na: opracowaniu koncepcji badań, pozyskiwaniu danych, wykonywania pomiarów, opracowywaniu danych, wykonywaniu analiz statystycznych, interpretacji danych, tworzeniu manuskryptu; analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

KIEROWNIK
Oddziału Klinicznego
Chorób Wewnętrznych i Geriatrii
Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie
prof. dr hab. med. Tomasz Grodzicki

.....
(podpis współautora)

Anna Dzieża-Grudnik, Olga Siga, Jolanta Walczewska, Barbara Wizner, Tomasz Mikołajczyk, Joanna Sulicka-Grodzicka, Tomasz Grodzicki

New onset hypertension is not associated with systemic changes in inflammatory cytokine levels.

Archives of Medical Science, 2023, opublikowane on line

Kraków, 29.05.2023

Lek. Anna Dzieża-Grudnik
Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy: „New onset hypertension is not associated with systemic changes in inflammatory cytokine levels"; Archives of Medical Science, 2023;oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: opracowaniu koncepcji badań, pozyskiwaniu danych, wykonywania pomiarów, opracowywaniu danych, wykonywaniu analiz statystycznych, interpretacji danych, tworzeniu manuskryptu, analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy

.....
(podpis współautora)

Kraków, 29.05.2023

Lek.Olga Siga
Klinika Reumatologii
Szpital Uniwersytecki w Krakowie

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy „New onset hypertension is not associated with systemic changes in inflammatory cytokine levels"; Archives of Medical Science, 2023 oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: opracowaniu koncepcji badań, pozyskiwaniu danych, wykonywania pomiarów, opracowywaniu danych, wykonywaniu analiz statystycznych, interpretacji danych, tworzeniu manuskryptu, analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Annę Dzieżę-Grudnik jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Anny Dzieży-Grudnik polegający na: opracowaniu koncepcji badań, pozyskiwaniu danych, wykonywania pomiarów, opracowywaniu danych, wykonywaniu analiz statystycznych, interpretacji danych, tworzeniu manuskryptu, analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

Olga Siga
.....
(podpis współautora)

Kraków, 29.05.2023

Dr n.med. Joanna Sulicka - Grodzicka
Klinika Reumatologii
Szpital Uniwersytecki w Krakowie

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy „New onset hypertension is not associated with systemic changes in inflammatory cytokine levels"; Archives of Medical Science, 2023 oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: interpretacji danych, tworzeniu manuskryptu, analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Annę Dzieżę-Grudnik jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Anny Dzieży-Grudnik polegający na: opracowaniu koncepcji badań, pozyskiwaniu danych, wykonywania pomiarów, opracowywaniu danych, wykonywaniu analiz statystycznych, interpretacji danych, tworzeniu manuskryptu, analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

J. Sulicka-Grodzicka

(podpis współautora)

Kraków, 29.05.2023

Dr n. med. Jolanta Walczewska
Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy „New onset hypertension is not associated with systemic changes in inflammatory cytokine levels"; Archives of Medical Science, 2023; oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, opracowaniu koncepcji badań, pozyskiwaniu danych, interpretacji danych, analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Annę Dzieżę-Grudnik jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Anny Dzieży-Grudnik polegający na: opracowaniu koncepcji badań, pozyskiwaniu danych, wykonywania pomiarów, opracowywaniu danych, wykonywaniu analiz statystycznych, interpretacji danych, tworzeniu manuskryptu, analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

Jolanta Walczewska

.....
(podpis współautora)

Kraków, 30.05.2023

Prof. dr hab. Tomasz Grodzicki
Katedra Chorób Wewnętrznych i Gerontologii
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
(stopień/tytuł, imię i nazwisko, afiliacja)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy „New onset hypertension is not associated with systemic changes in inflammatory cytokine levels"; Archives of Medical Science, 2023 oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji polegał na: opracowywaniu pomysłu badań, stworzeniu hipotezy badawczej, analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie ww. pracy przez lek Annę Dzieżę-Grudnik jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część ww. pracy wykazuje indywidualny wkład lek Anny Dzieży-Grudnik polegający na: opracowaniu koncepcji badań, pozyskiwaniu danych, wykonywania pomiarów, opracowywaniu danych, wykonywaniu analiz statystycznych, interpretacji danych, tworzeniu manuskryptu, analizie poprawności danych i zawartości merytorycznej pracy.

KIEROWNIK
Oddziału Klinicznego
Chorób Wewnętrznych i Geriatrii
Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie
prof. dr hab. med. Tomasz Grodzicki

.....
(podpis współautora)