

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu  
Wydział Lekarski

Katarzyna Barska

Dysfunkcja śródbłonna i rozwój subklinicznej miażdżycy  
u pacjentów zakażonych HIV z koinfekcją HCV

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor

Prof. dr hab. n. med. Brygida Knysz

Poznań 2015

Publikacja jest częścią projektu “Wrovasc – Zintegrowane Centrum Medycyny Sercowo – Naczyniowej”, współfinansowanego przez Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego, w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka na lata 2007-2013 realizowanego w Wojewódzkim Szpitalu Specjalistycznym we Wrocławiu, Ośrodku Badawczo-Rozwojowym

*Wyrazy wdzięczności*

*Z całego serca dziękuję*

*Pani prof. dr hab. n. med. Brygidzie Knysz,*

*za zrozumienie i daną mi szansę rozwoju naukowego.*

*Pani dr n. med. Wiesławie Kwiatkowskiej,*

*za inspirację, wsparcie i poświęcony czas.*

*Panu prof. dr hab. n. med. Wojciechowi Witkiewiczowi,*

*Pani Małgorzacie Krynickiej-Duszyńskiej,*

*dziękuję za umożliwienie mi przeprowadzenia badań*

*naukowych w ramach projektu Wrovasc.*

*Dziękuję*

*Mężowi za cierpliwość i motywację,*

*Rodzicom za pomoc i wiarę,*

*Justynie za zaangażowanie i czas.*

*Dziękuję wszystkim tym, bez których ta praca by nie powstała.*

*I dziękuję Olusiowi*

*za to, że każdego dnia mi udowadnia,*

*że rzeczy niemożliwe – stają się możliwe.*

## Spis treści:

Wykaz skrótów	5
1. Wstęp	8
1.1. Zarys epidemiologii zakażeń HIV na świecie i w Polsce	9
1.2. Epidemiologia koinfekcji HIV/HCV	14
1.3. Etiopatogeneza i diagnostyka miażdżycy	18
1.3.1. Wpływ zakażenia HIV na aktywację komórek śródbłonka i rozwój miażdżycy	32
1.3.2. Koinfekcja HCV a ryzyko chorób sercowo-naczyniowych	34
2. Cele	37
3. Materiał i metody	38
3.1. Materiał	38
3.2. Metody	42
4. Wyniki badań i ich omówienie	48
4.1. Ocena wpływu koinfekcji HCV na dysfunkcję śródbłonka i zaawansowanie subklinicznej miażdżycy u osób żyjących z HIV	51
4.2. Ocena zachowania się stężenia markerów zapalnych i markerów dysfunkcji śródbłonka w osoczu krwi oraz wpływu tradycyjnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowych na ich stężenie u osób żyjących HIV z koinfekcją HCV	58
4.3. Analiza wpływu poszczególnych markerów dysfunkcji śródbłonka na zaawansowanie subklinicznej miażdżycy u osób żyjących z HIV	68
5. Podsumowanie wyników i dyskusja	73
5.1. Wpływ współistniejącego zakażenia HCV na zaawansowanie subklinicznej miażdżycy u osób żyjących z HIV	73
5.2. Ocena zachowania się wybranych markerów stanu zapalnego i dysfunkcji śródbłonka w osoczu krwi oraz ich wpływ na zaawansowanie subklinicznej miażdżycy u osób zakażonych HIV oraz pacjentów ze współistniejącym zakażeniem HCV	80
5.2.1. Cytokiny prozapalne	81
5.2.2. Markery dysfunkcji śródbłonka i hemostazy	83
6. Wnioski	95
7. Streszczenie	96
8. Abstract	99
9. Piśmiennictwo	101

## Wykaz skrótów:

AIDS	zespół nabytego niedoboru odporności (ang. <i>acquired immune deficiency syndrome</i> ),
ARV	leczenie antyretrowirusowe (ang. <i>antiretroviral therapy</i> ),
A-SRA	receptory zmiatające klasy A (ang. <i>scavenger receptors-A</i> ),
BMI	wskaźnik masy ciała (ang. <i>body mass index</i> ),
cART	kombinowana terapia antyretrowirusowa (ang. <i>combined antiretroviral therapy</i> ),
CCR2	receptor monocytu typu 2 (ang. <i>Chemokine (C-C motif) receptor type 2</i> ),
cIMT	grubość kompleksu błony wewnętrznej i środkowej tętnic szyjnych (ang. <i>carotid intima-media thickness</i> ),
CVD	choroby sercowo-naczyniowe (ang. <i>cardiovascular diseases</i> ),
CRP	białko C reaktywne (ang. <i>C- reactive protein</i> ),
eGFR	filtracja kłębuszkowa (ang. <i>estimated glomerular filtration rate</i> ),
HAART	wysoce aktywna terapia antyretrowirusowa (ang. <i>highly active antiretroviral therapy</i> ),
HAD	zespół otępienny związany z HIV (ang. <i>HIV-associated dementia</i> ),
HCV	wirusowe zapalenie wątroby typu C (ang. <i>hepatitis C virus</i> ),
HDL-C	cholesterol HDL (ang. <i>high density lipoprotein cholesterol</i> ),
HIV	ludzki wirus niedoboru odporności (ang. <i>human immunodeficiency virus</i> ),
HIVAN	nefropatia związana z HIV (ang. <i>HIV-associated nephropathy</i> ),
HMGB1	białko wysokiej ruchliwości (ang. <i>high mobility group box</i> ),
HSP	białko szoku cieplnego (ang. <i>heat shock protein</i> ),
HET	osoby heteroseksualne (ang. <i>heterosexual</i> ),
HOMA-IR	wskaźnik oceny modelu homeostazy oporności na insulinę (ang. <i>homeostasis model assessment of insulin resistance</i> ),
ICAM-1	międzykomórkowa cząsteczka adhezyjna 1 (ang. <i>intercellular adhesion molecule-1</i> ),
IDU	osoby przyjmujące środki odurzające drogą dożylną (ang. <i>intravenous drug user</i> ),
IFN- $\alpha$	interferon-alfa (ang. <i>interferon –alpha</i> ),

IGF-1	insulinopodobny czynnik wzrostowy typu 1 (ang. <i>insulin-like growth factor -1</i> ),
IL	interleukina (ang. <i>interleukin</i> ),
IMT <sub>meanmax</sub>	- grubość kompleksu błony wewnętrznej i środkowej tętnic szyjnych średnia maksymalna (ang. <i>intima media thickness mean max</i> ),
LDL	lipoproteiny o małej gęstości (ang. <i>low-density lipoprotein</i> ),
LDL-C	cholesterol LDL (ang. <i>low density lipoprotein cholesterol</i> ),
mmLDL	minimalnie zmodyfikowana LDL (ang. <i>mildly oxidized LDL</i> ),
oxLDL	utlenowana cząsteczka LDL (ang. <i>oxidised LDL</i> ),
LPS	lipopolisacharyd, endotoksyna bakteryjna,
LOX 1	laktynooporny receptor dla utlenowanych LDL (ang. <i>lectin like oxidized low density protein</i> ),
LRP	białko związane z receptorem lipoprotein o małej gęstości (ang. <i>low density lipoprotein-receptor-related protein</i> ),
MCP-1	białko chemotaktyczne dla monocytów typu 1 (ang. <i>monocyte chemoattractant protein -1</i> ),
M-CSF	czynnik stymulujący wzrost kolonii makrofagów (ang. <i>macrophage colony-stimulating factor</i> ),
MMP	metaloproteiny macierzy (ang. <i>matrix metalloproteinase</i> ),
MP	mikrocząstki (ang. <i>microparticles</i> ),
MSM	mężczyźni homoseksualni (ang. <i>men who have sex with men</i> ),
NCEP-ATPIII	Narodowy Program Edukacji Cholesterolowej Leczenia Dorosłych (ang. <i>National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III</i> ),
NF-κB	jądrowy czynnik kappa B (ang. <i>nuclear factor-kappa-B</i> ),
NIZP-PZH	Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego - Państwowy Zakład Higieny,
NRTI	nukleozydowe inhibitory odwrotnej transkryptazy (ang. <i>nucleoside reverse transcriptase inhibitors</i> ),
NNRTI	nienukleozydowe inhibitory odwrotnej transkryptazy (ang. <i>non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors</i> ),
PAI-1	inhibitor aktywatora plazminogenu (ang. <i>plasminogen activator inhibitor 1</i> ),
PCR	reakcja łańcuchowa polimerazy (ang. <i>polymerase chain reactin</i> ),
PDGF	płytkopochodny czynnik wzrostowy (ang. <i>platelet-derived growth factor</i> ),
PECAM	płytkowo-śródbłonkowa cząsteczka adhezyjna (ang. <i>platelet-endothelial cell adhesion molecule</i> ),

PF4	płytkowy czynnik 4 (ang. <i>platelet factor 4</i> ),
PI	inhibitory proteazy (ang. <i>protease inhibitors</i> ),
PSGL	ligand P-selektyn (ang. <i>P-selectin glikoprotein ligand</i> ),
RAGE	receptory końcowych produktów zaawansowanej glikacji (ang. <i>receptor for advanced glycation endproducts</i> ),
RANTES	(ang. <i>regulated upon activation normal T cell expressed presumed secreted</i> ),
RBV	rybawiryna (ang. <i>ribavirin</i> ),
sTM	rozpuszczalna trombomodulina (ang. <i>soluble thrombomodulin</i> ),
TC	cholesterol całkowity (ang. <i>total cholesterol</i> ),
TAFI	inhibitor fibrynolizy aktywowany przez trombinę (ang. <i>thrombin activatable fibrinolysis inhibitor</i> ),
TF	czynnik tkankowy (ang. <i>tissue factor</i> ),
TFPI	inhibitor zależnej od czynnika tkankowego drogi krzepnięcia (ang. <i>tissue factor pathway inhibitor</i> ),
TMD1	domena lektynopodobna typu 1 (ang. <i>lectin like domain 1</i> ),
TNF- $\alpha$	czynnik martwicy nowotworów (ang. <i>tumor necrosis factor alfa</i> ),
TLR	receptor Toll podobny (ang. <i>Toll- like receptors</i> ),
t-PA	tkankowy aktywator plazminogenu (ang. <i>tissue plasminogen activator</i> ),
UNAIDS	Wspólny Program Narodów Zjednoczonych Zwalczenia HIV i AIDS (ang. <i>The Joint United Nations Programme on HIV and AIDS</i> ),
VCAM-1	naczyniowa cząsteczka adhezyjna 1 (ang. <i>vascular cell adhesion molekule-1</i> ),
VEGF	czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego (ang. <i>vascular endothelial growth factor</i> ),
WHO	Światowa Organizacja Zdrowia (ang. <i>World Health Organization</i> ),
VLA-4	(ang. <i>very late antigen 4</i> ),
vWF	czynnik von Willebranda (ang. <i>von Willebrand factor</i> ),

# 1. Wstęp

Osoby zakażone HIV (ang. *human immunodeficiency virus*) wykazują większe zaawansowanie subklinicznej miażdżycy oraz większą zapadalność na choroby sercowo-naczyniowe. Dyskusje wokół przyczyn tego stanu wskazują na rolę zakażenia HIV *per se*, metaboliczne następstwa leczenia antyretrowirusowego oraz nasilenie w tej populacji niektórych tradycyjnych czynników ryzyka. Podkreśla się również wpływ przewlekłego stanu zapalnego, prowadzącego do aktywacji komórek śródbłonka i zaburzeń w układzie krzepnięcia. W patomechanizmie rozwoju miażdżycy u osób żyjących z HIV główną rolę czynnika inicjującego pełnią białka Tat, gp 120 oraz Nef. Wykazują one funkcję prozapalną, proangiogenetyczną oraz proapoptyczną, prowadząc do uszkodzenia komórek śródbłonka, a tym samym do upośledzenia jego zdolności wazorelaksacyjnych, przeciwwazopiętnych, profibrynolitycznych i przeciwmiażdżycowych. Białka te zwiększają sekrecję cytokin prozapalnych tj. TNF- $\alpha$  (ang. *tumor necrosis factor - alpha*), IL-1, IL-6, IL-8 (*interleukin-1, -6, -8*) oraz indukują ekspresję cząstek adhezyjnych: VCAM-1 (ang. *vascular cell adhesion molecule - 1*), ICAM-1 (ang. *intercellular adhesion molecule - 1*) i selektyny E, nasilając tym samym adhezję monocytów i makrofagów do śródbłonka naczyń. Zwiększona sekrecja TNF- $\alpha$  i IL-6 ściśle koreluje z poziomem wirerii HIV. Wydzielane cytokiny prozapalne zwiększają ekspresję molekuł adhezyjnych VCAM-1 i ICAM-1 oraz czynnika von Willebranda (ang. *von Willebrand factor - vWF*) niezależnie od wirerii. IL-1 oraz TNF- $\alpha$  stymulują natomiast produkcję i sekrecję czynnika tkankowego (ang. *tissue factor -TF*), który odgrywa zasadniczą rolę w patogenezie miażdżycy tętnic. Wpływają również na stężenie trombomoduliny (ang. *thrombomodulin -TM*), jednego z markerów dysfunkcji śródbłonka naczyń.

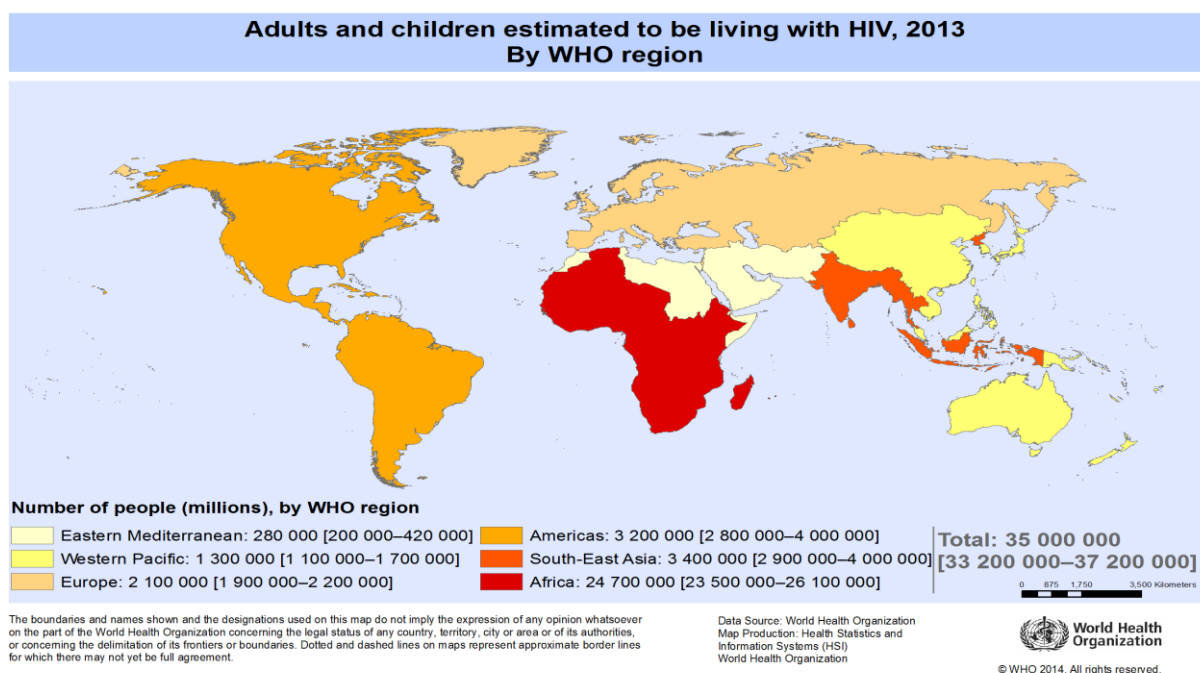
Wpływ zakażenia HCV (ang. *hepatitis C virus*) na rozwój chorób sercowo-naczyniowych nie jest dokładnie poznany. Infekcja HCV stymuluje mechanizmy odpornościowe gospodarza, aktywuje pomocnicze limfocyty T oraz zwiększa sekrecję prozapalnych cytokin tj. IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  czy IFN- $\alpha$  (ang. *interferon-alpha*). Indukcja przewlekłego stanu zapalnego oraz liczne metaboliczne powikłania spowodowane zakażeniem HCV, mogłyby predysponować do rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, w tym miażdżycy tętnic. W literaturze brak jest również jednoznacznych doniesień na temat wpływu koinfekcji HCV na dysfunkcję śródbłonka oraz zaawansowanie subklinicznej miażdżycy u pacjentów zakażonych HIV.



## 1.1. Zarys epidemiologii zakażeń HIV na świecie i w Polsce

„żadna wojna na ziemi nie sieje takich spustoszeń jak AIDS”  
sekretarz stanu USA Collin Powell

Według danych epidemiologicznych opublikowanych przez Światową Organizację Zdrowia (WHO - *World Health Organization*) oraz UNAIDS (*The Joint United Nations Programme on HIV and AIDS*, Wspólny Program Narodów Zjednoczonych Zwalczenia HIV i AIDS) pod koniec 2013 roku na świecie żyło 35 milionów osób zakażonych wirusem HIV, w tym 16 milionów kobiet i 3,2 milionów dzieci (ryc.1) [1,2]. Odnotowano również 2,1 miliona nowych zakażeń, z czego około 240 tysięcy zakażonych to dzieci poniżej 15 roku życia. W opublikowanych raportach z tego roku wynika, że liczba nowych zakażeń HIV spadła o 38% w stosunku do roku 2001, w którym zanotowano największą liczbę zakażeń. Doniesienia na temat nowych zakażeń HIV w latach od 2001 do 2013 podkreślają, że w 27 krajach na świecie roczna liczba zakażeń spadła o ponad 50%, a w 10 krajach nawet o ponad 75%. Najniższy wskaźnik zachorowalności stwierdzono wśród dzieci, a od roku 2001 liczba ta spadła o 58%. Przyczyną spadku liczby nowych zakażeń na świecie jest coraz powszechniejszy dostęp do diagnostyki i terapii antyretrowirusowej (ARV) [1,2].



Rycina 1. Liczba osób i dzieci żyjących z HIV na świecie [cyt.2].

Od początku trwania pandemii AIDS tj. od 1981 roku, prawie 78 milionów ludzi zostało zakażonych HIV na świecie, a około 39 milionów spośród nich zmarło [2]. Tylko w 2013 roku odnotowano 1,5 miliona zgonów z powodu AIDS. W publikowanych raportach obserwuje się tendencję do redukcji śmiertelności wśród osób żyjących z HIV, i tak w 2013 roku wskaźnik śmiertelności był niższy o 35% w porównaniu do roku 2005. Powodem takiego stanu rzeczy, jest coraz szerszy i łatwiejszy dostęp do terapii ARV, którą pod koniec roku 2013 otrzymywało 12,9 milionów osób. Osoby poddane leczeniu stanowią nadal jednak zaledwie 37% wszystkich ludzi żyjących z HIV, a 76% wszystkich zakażonych dzieci pozostaje bez dostępu do leków [1,2].

Epidemiologia zakażeń HIV jest bardzo zróżnicowana w zależności od kraju i regionu świata. Od wielu lat największą liczbę nowych zakażeń odnotowuje się w regionie Afryki Subsaharyjskiej. Według danych szacunkowych UNAIDS, 24,7 milionów zakażonych HIV żyje właśnie w tym rejonie, a w niektórych państwach afrykańskich nawet 1 na 25 dorosłych osób żyje z HIV. Dodatkowo 80% wszystkich zakażonych kobiet na świecie pochodzi z Afryki Subsaharyjskiej. Pomimo notowanego wciąż od kilku lat najwyższego wskaźnika zachorowalności w tym regionie, liczba nowych zakażeń HIV spadła w porównaniu do roku 2005 o 33%. Odnotowano również istotny spadek śmiertelności z powodu AIDS, a liczba zgonów na przestrzeni lat 2005-2013 spadła o 39%, co ściśle koreluje z coraz większym dostępem do leczenia antyretrowirusowego w tym regionie. Niestety, nadal jednak 67% mężczyzn i 57% kobiet pozostaje bez leczenia [1,2].

Kolejnym regionem o niekorzystnej sytuacji epidemiologicznej jest Azja i Oceania. Pod koniec 2013 roku żyło tam 4,8 milionów osób z HIV, w tym 2,1 miliona w samych Indiach. Najwięcej zakażonych odnotowuje się wśród mężczyzn mających sex z mężczyznami (ang. *men who have sex with men* - MSM), osób transseksualnych, prostytutek oraz osób stosujących narkotyki w iniekcji (ang. *intravenous drug users* – IDU). Jednak uznaje się, że główną drogą rozprzestrzeniania się epidemii są stosunki heteroseksualne (ang. *heterosexual* – HET). Duża część zakażonych osób nie przekroczyła 25 roku życia. Pod koniec 2013 roku 700 tysięcy ludzi z tego obszaru żyjących z HIV otrzymywało terapię antyretrowirusową, a śmiertelność z powodu AIDS spadła w porównaniu do roku 2005 o 37%. Największy spadek śmiertelności odnotowano w Kambodży (72%) oraz Tajlandii (56%) [1,2].

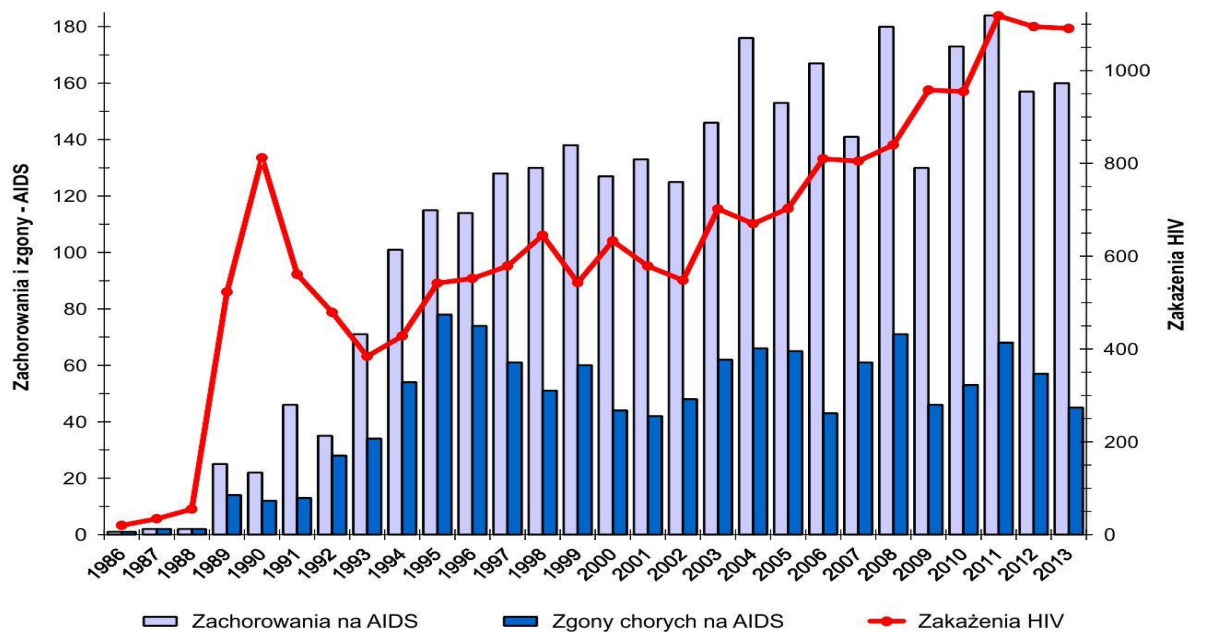
Regionem świata, w którym obserwuje się obecnie największą dynamikę epidemii HIV jest Europa Wschodnia i Azja Centralna. Według danych szacunkowych WHO, żyje tam 1,1 miliona osób zakażonych HIV, z czego ponad 85% w samej Federacji Rosyjskiej oraz na Ukrainie. Główną grupą ryzyka zakażenia HIV nadal pozostają osoby stosujące narkotyki

dożylnie, chociaż ostatnio obserwowany jest znaczny wzrost zakażeń drogą heteroseksualną oraz wśród MSM, osób transseksualnych i prostytutek. Czynnikiem sprzyjającym zakażeniom jest znaczne ubóstwo większości społeczeństwa, a co się z tym wiąże niska świadomość, brak możliwości stworzenia precyzyjnego nadzoru epidemiologicznego oraz brak dostępności do leczenia [3]. Według danych z raportu UNAIDS zaobserwowano w tym rejonie w latach 2005-2013 wzrost śmiertelności z powodu AIDS o 5%. W samej Federacji Rosyjskiej w ostatnim roku liczba zgonów z powodu AIDS wzrosła z 20115 do 22387. Terapię antyretrowirusową otrzymuje zaledwie 21% zakażonych [1,2].

Sytuacja epidemiologiczna w krajach Europy Zachodniej i Ameryki Północnej od kilku lat utrzymuje się na stabilnym poziomie. W tym regionie 2,3 milionów osób żyje z HIV, z czego 56% w Stanach Zjednoczonych, 8% we Francji, 6% w Hiszpanii i po 5% we Włoszech i w Wielkiej Brytanii. W 2013 roku, w Stanach Zjednoczonych oraz w krajach Europy Zachodniej i Centralnej, odnotowano 88 tysięcy nowych zakażeń. Najwięcej zakażeń odnotowuje się wśród MSM oraz wśród społeczności Afroamerykańskiej i imigrantów, pochodzących z obszarów endemicznych, szczególnie Afryki Subsaharyjskiej. Afroamerykanie stanowią 46% wśród wszystkich zakażonych w Stanach Zjednoczonych. W populacji tej największą częstość zakażeń obserwuje się wśród heteroseksualnych kobiet, będących partnerkami biseksualnych mężczyzn o nieznanym statusie serologicznym. W Europie, dodatkowo w grupie ryzyka pozostają osoby stosujące narkotyki dożylnie i ich partnerzy, oraz osoby transseksualne, więźniowie i prostytutki. Jednak w różnych państwach, istnieją znaczące różnice w odsetkach zakażeń w zależności od drogi przenoszenia. W 2011 roku, w Europie Zachodniej 40,1% nowych zakażonych osób stanowili MSM. W Europie Centralnej odpowiednio odsetek ten wynosił 27,3% nowych przypadków, z kolei w Europie Centralnej liczba zakażeń wśród IDU była dwukrotnie wyższa niż w Europie Zachodniej i wynosiła 8,2%. Ze względu na dostateczną dostępność leczenia antyretrowirusowego oraz możliwość coraz wcześniejszego wykrycia zakażenia HIV, śmiertelność w tym regionie zdecydowanie spadła [1,2,3].

W Polsce, według najnowszych danych NIZP-PZH (Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego - Państwowy Zakład Higieny), od roku 1985 do 31 sierpnia 2014 stwierdzono zakażenie HIV u 18 204 osób, a 1283 osoby zmarły z powodu AIDS [4]. Według szacunków rzeczywista liczba osób zakażonych HIV jest znacznie większa i może wynosić nawet 35 tysięcy. Od roku 1985 odnotowano 150 zakażeń drogą wertykalną. W roku 2013 odnotowano 1258 nowych zakażeń, najwięcej w województwie mazowieckim (313), śląskim (143)

i dolnośląskim (138) [4,5]. Przedstawione dane można przyjąć jako wstępne, z uwagi na istotne opóźnienia w zgłaszaniu nowych zakażeń. Ostatecznie mogą być one większe o około 10-25%.

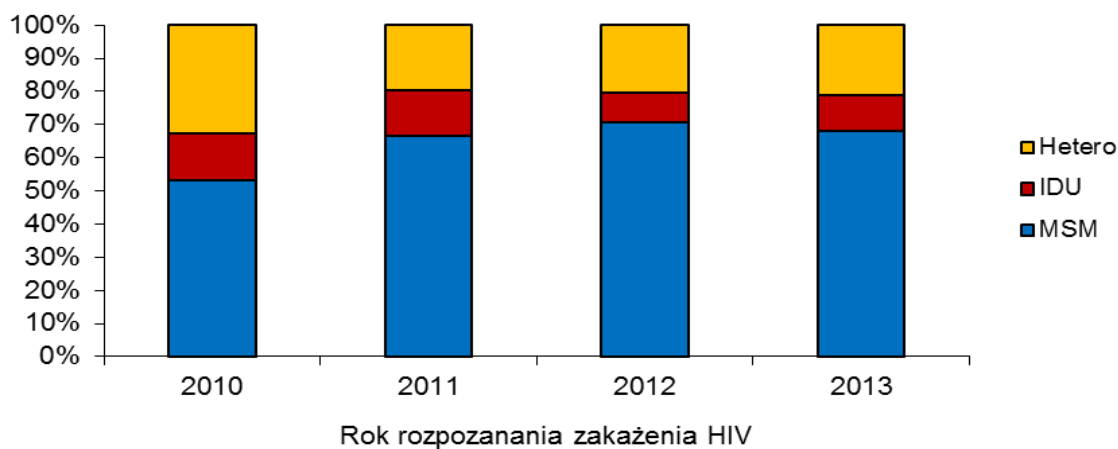


Rycina 2. Zakażenia HIV, zachorowania na AIDS i zgoni chorych na AIDS w latach 1986-2013 [cyt.4] (Źródło: NIZP-PZH).

W Polsce, od kilku lat główną drogą transmisji zakażenia są ryzykowne zachowania seksualne, a dotyczą w szczególności populacji ludzi młodych w wieku od 20-29 lat. W 2013 roku największą liczbę nowych zakażeń zanotowano wśród mężczyzn utrzymujących stosunki seksualne z innymi mężczyznami i stanowiły one 67% wszystkich zakażeń o znanej drodze transmisji (ryc.3) [4]. Osoby w wieku produkcyjnym (20-49 lat) stanowią 84% wszystkich żyjących z HIV w naszym kraju [6]. W raporcie NIZP-PZH z 2013 roku niepokojącym jest fakt, iż w 46,1% przypadkach nie podano prawdopodobnej drogi zakażenia.

Pod koniec roku 2013 terapię antyretrowirusową otrzymywało 7110 osób, w tym 123 dzieci, 78 ciężarnych kobiet i 52 noworodków [4]. Leczenie jest prowadzone i finansowane od roku 2001 w ramach programu Ministerstwa Zdrowia „Leczenie antyretrowirusowe osób żyjących z wirusem HIV w Polsce”. Dodatkowo od połowy 2008 roku dla pacjentów zakażonych HIV leczonych antyretrowirusowo został wprowadzony Program Kompleksowej Ambulatoryjnej Opieki Specjalistycznej (KAOS), którego głównym założeniem jest regularna ocena stanu zdrowia i monitorowanie skuteczności leczenia [7]. Pomimo wprowadzenia szerokich działań mających na celu zapewnienie stałego dostępu do leczenia antyretrowirusowego, poprawę życia zakażonych osób oraz zmniejszenie wskaźników zachorowalności i śmiertelności, Polska jest wciąż krajem, w którym zakażenie HIV jest

rozpoznawane późno, często już w fazie AIDS. Wynika to wciąż ze zbyt małej liczby osób wykonujących badania przeciwciał anty-HIV.



Rycina 3. Droga transmisji zakażenia HIV w latach 2010–2013 (z wykluczeniem braków danych na temat prawdopodobnej drogi zakażenia HIV) [cyt.4] (Źródło: NIZP-PZH)

Rozpatrując epidemiologię zakażenia HIV na świecie i w Polsce, należy podkreślić fakt wzrastającej liczby osób żyjących z HIV wśród populacji powyżej 50 roku życia. Obecnie na świecie żyje 4,2 miliona ludzi zakażonych HIV, które przekroczyły 50 rok życia, a w Europie Zachodniej i Centralnej oraz Ameryce Północnej stanowią one 1 na 5 osób żyjących z HIV [1]. Wprowadzenie w 1996 roku wysoce aktywnej terapii antyretrowirusowej oraz poprawa standardów życia wśród ludzi zakażonych HIV, skutkowało wydłużeniem czasu przeżycia, którego średnia staje się porównywalna do średniej przeżycia ogólnej populacji w krajach wysokorozwiniętych [7]. Wzrostowi liczby zakażeń w tej grupie wiekowej sprzyjają również: niska świadomość ryzyka zakażenia, stabilizacja materialna, zawodowa, rodzinna, podejmowanie ryzykownych kontaktów seksualnych bez odpowiedniego zabezpieczenia (niskie ryzyko ciąży), zmiany w obrębie narządów płciowych związane z meno- i andropauzą [7,9]. Konsekwencjami wynikającymi ze starzenia się populacji osób żyjących z HIV są gorsza odpowiedź na leczenie antyretrowirusowe, częstsze występowanie działań niepożądanych i interakcji lekowych oraz wyższe koszty terapii [6]. U pacjentów powyżej 50 roku życia znamienne częściej występują również choroby współistniejące, w tym te związane z niezdrowym stylem życia, otyłością czy brakiem aktywności fizycznej. Wymusza to uwzględnienie w programach opieki zdrowotnej, dla chorych zakażonych HIV, modyfikacji związanych z częstszym występowaniem w tej populacji chorób przewlekłych, takich jak: choroby sercowo-naczyniowe (dalej: CVD), w tym nadciśnienie tętnicze i miażdżyca, zespół metaboliczny, cukrzyca, osteoporoza czy choroby nowotworowe niezwiązane z AIDS [8,10].

## 1.2. Epidemiologia koinfekcji HIV/HCV

Według danych szacunkowych WHO na świecie żyje ponad 170-190 milionów osób zakażonych wirusem zapalenia wątroby typu C (ang. *hepatitis C virus* - HCV), co stanowi około 3% ogólnej populacji. Dokładna liczba zakażonych jest jednak niemożliwa do oszacowania ze względu na bezobjawowy przebieg ostrej fazy zakażenia. Przyjmuje się, że rocznie zakaża się około 3-4 milionów osób na świecie. Najwięcej zakażonych stwierdza się wśród osób używających dożylnie środków odurzających, wśród hemofilików oraz osób leczonych hemodializami. Ryzyko zakażenia na drodze kontaktów seksualnych jest minimalne, i wynosi od 0,4 do 1,5% rocznie wśród stałych partnerów. Wzrasta ono w sytuacji częstej zmiany partnerów, stanów zapalnych skóry i błon śluzowych narządów płciowych oraz przy praktykowaniu ryzykownych zachowań seksualnych z możliwością uszkodzenia błon śluzowych. Ryzyko to jest większe w populacji MSM, zwłaszcza, gdy współistnieje z koinfekcją HIV. Zwiększone ryzyko zakażenia dotyczy również osób poddawanych częstym hospitalizacjom, korzystających z nieprofesjonalnych gabinetów tatuażu i akupresury, czy salonów kosmetycznych. Od 1992 roku, kiedy w transfuzjologii wprowadzono badania na obecność przeciwciał anti-HCV, a od 2000 roku na HCV RNA, ryzyko zakażenia tą drogą istotnie spadło. Ze względu na podobne drogi transmisji zakażenie HCV często współistnieje z zakażeniem HIV.

Obecnie wśród 35 milionów osób żyjących z HIV na świecie, 30% jest zakażonych HCV. Pośród IDU odsetek ten wzrasta nawet do 90% [2]. Jednak w ciągu ostatniej dekady rejestrowanych jest coraz więcej przypadków infekcji HCV w grupie MSM, a związane jest to z podejmowaniem przez nich ryzykownych zachowań seksualnych. Czynnikiem ryzyka transmisji zakażenia w tej grupie są: częsta zmiana partnerów, udział w seksualnych orgiach, w tym w tzw. „party drugs”, urazy podczas stosunku czy istniejące współzakażenia innymi chorobami przenoszonymi drogą płciową. Znacznie rzadziej odnotowuje się wśród MSM zakażonych HCV stosowanie narkotyków dożylnie, aczkolwiek obserwuje się nadużywanie doustnych i wziewnych środków odurzających, co również niesie ze sobą ryzyko zakażenia zarówno HCV, jak i HIV [11,12]. Zakażenia perinatalne HCV odnotowuje się u około 3-6% noworodków, natomiast odsetek ten istotnie wzrasta, jeśli u matki współistnieje zakażenie HIV [13].

Dodatkowo stwierdzono, że u osób z koinfekcją HIV/HCV częściej dochodzi do zakażenia genotypem 1a lub 3a HCV. Wśród IDU można stwierdzić występowanie dużej

różnorodności w budowie cząsteczek HCV, co jest związane z częstą ekspozycją w tej grupie na zakażenie tym wirusem [14,15]. Wykazano także, że znacznie częściej dochodzi najpierw do zakażenia HCV, następnie HIV, a jednoczesne transmisje obu wirusów są rzadkie [16].

Według szacunkowych danych epidemiologicznych, w Polsce żyje około 730 000 osób zakażonych HCV, tj. ok. 1,9% populacji. Przyjmuje się, że 230 000 chorych ma aktywną postać zakażenia, wymagającą leczenia. W ostatnich latach obserwuje się wzrost liczby zakażeń w naszym kraju. Tylko w roku 2013 zgłoszono 2705 nowych zachorowań na HCV. Nadal, aż 95% zakażonych osób nie jest świadomych choroby i jej następstw [4,17]. Według danych z badania EuroSIDA, w Polsce u 61,2% osób zakażonych HIV występuje koinfekcja HCV [3,17]. Główną drogą transmisji wirusa w tej populacji, jest droga parentalna, związana ze stosowaniem dożylnie środków odurzających. W naszym kraju obecnie najczęściej dochodzi do zakażenia genotypem 1b HCV, który jest charakterystyczny dla tego regionu w Europie [18,19]. Jednak w ostatnich latach obserwuje się w niektórych regionach Polski wzrost dominacji genotypów, charakterystycznych dla innych obszarów geograficznych: 3a (południe Europy) i 4 (Egipt, Afryka Północna). Fakt ten, związany jest z coraz szerszą migracją społeczeństwa [19]. W badaniach populacji Dolnego Śląska stwierdzono dominację genotypu 3 HCV wśród badanych [19,20].

Ryzyko transmisji wertykalnych u dzieci matek zakażonych HIV z koinfekcją HCV wynosi 16,2% [21].

U pacjentów zakażonych HIV z koinfekcją HCV, znacznie częściej dochodzi do progresji zmian w wątrobie, a niewydolność wątroby stanowi oprócz AIDS, jedną z najczęstszych przyczyn zgonu wśród osób żyjących z HIV. Czynniki sprzyjającymi większemu zaawansowaniu zmian w wątrobie, wśród chorych z koinfekcją HIV/HCV, są: większe nasilenie replikacji wirusów i wyższy poziom wirerii, hepatotoksyczne działanie stosowanych leków antyretrowirusowych, zaburzenia metaboliczne wynikające ze stosowania HAART, deficyty immunologiczne, a także nadużywanie alkoholu oraz środków odurzających [3,22,23]. Wykazano, że po tym samym okresie obserwacji u osób zakażonych zarówno HIV, jak i HCV, znacznie częściej rozwija się marskość wątroby, niż u pacjentów zakażonych tylko HCV (40% vs. 10%) [24]. Stwierdzono również, że u chorych z liczbą limfocytów T CD4+ < 200 kom/μl występuje większe zaawansowanie włóknienia wątroby i szybsza progresja do marskości [23,25]. U osób zakażonych HIV wykazano wyższą wiramię HCV, natomiast nie odnotowano korelacji pomiędzy poziomem HCV RNA w osoczu a zaawansowaniem włóknienia [26]. Równocześnie zaobserwowano, że pacjenci HCV (+) znacznie częściej odstawiają terapię

antyretrowirusową z powodu występowania działań niepożądanych i objawów toksyczności [22,27,28].

Aktywacja i zaburzenia regulacji układu immunologicznego w przebiegu koinfekcji HIV/HCV prowadzą do progresji zakażenia HIV i HCV, oraz do dysfunkcji wielu narządów. W wielośrodkowych badaniach wykazano wśród pacjentów zakażonych HIV/HCV zwiększone ryzyko nefropatii związanych z HIV (ang. *HIV-associated nephropathy* – HIVAN), białkomoczu oraz ostrego uszkodzenia nerek, obserwowano również częstsze występowanie przewlekłej niewydolności nerek. Dodatkowo obecność HCV wiąże się z pogorszeniem filtracji kłębuszkowej (ang. *estimated glomerular filtration rate* - eGFR) oraz jest niezależnym czynnikiem ryzyka chorób nerek [29,30].

W przeprowadzonych w ostatnich latach badaniach zaobserwowano, że zarówno HIV, jak i HCV wykazują zdolność replikacji w płynie mózgowo-rdzeniowym, i mogą być przyczyną zaburzeń neurologicznych i psychiatrycznych, prowadząc do rozwoju zespołu otępiennego. Wykazano, że u osób z koinfekcją HIV/HCV częściej dochodzi do wystąpienia zaburzeń poznawczych, szczególnie dotyczących procesu uczenia się i pamięci. Zaobserwowano, że białko rdzeniowe HCV może aktywować komórki mikrogleju i prowadzić do nasilenia neurotoksyczności związanej z HIV. Dodatkowo, u pacjentów z koinfekcją HCV wykazano wyższe stężenie osoczowych lipopolisacharydów (LPS), wskaźników translokacji bakteryjnej, które nasilając aktywację makrofagów w przebiegu HIV przyczyniają się do rozwoju zespołu otępiennego związanego z HIV (ang. *HIV-associated dementia* – HAD) [29,31]. Stwierdzono także, że u pacjentów z HCV występują istotne zaburzenia perfuzji mózgowej, szczególnie pod postacią hiperperfuzji w zakresie jąder podstawy. Prawdopodobnie zmiany te są związane z obecnością stanu zapalnego we wczesnym stadium uszkodzenia tkanki mózgowej w przebiegu HCV [31].

W przebiegu zakażenia HCV często obserwuje się zaburzenia autoimmunologiczne, głównie związane z odkładaniem się kompleksów immunologicznych. Najczęściej opisywanym zaburzeniem w przebiegu HCV jest krioglobulinemia mieszana, charakteryzująca się występowaniem monoklonalnych przeciwciał IgM i poliklonalnych IgG. Dominującym typem krioglobulinemii w przebiegu HCV jest typ II, rzadziej występują pozostałe typy. Objawy choroby związane są z występowaniem vasculitis – zapalenia drobnych naczyń, powstałego w wyniku odkładania się kompleksów krioglobulin w ścianie naczyń. Do najczęstszych objawów należą: plamica, osłabienie, bóle stawów, polineuropatia obwodowa, rzadziej uszkodzenie nerek, z proteinurią i zespołem nerczycowym. Wśród osób zakażonych HCV częściej również obserwuje się występowanie w surowicy czynnika reumatoidalnego oraz



niektórych autoprzeciwciał: przeciwciał przeciwjądrowych, przeciwko mięśniówce gładkiej oraz przeciwmikrosomalnych wątroby i nerek typu 1 [32,33]. Częściej także występują towarzyszące choroby z autoagresji. Nie stwierdzono związku pomiędzy genotypem HCV, a występowaniem zaburzeń autoimmunologicznych. Do pozostałych chorób, w przebiegu których wykazano związek z HCV należą: reumatoidalne zapalenie stawów, toczeń układowy, zespół Sjögrena, guzkowe zapalenie tętnic, sarkoidoza, autoimmunologiczne zapalenie tarczycy i autoimmunologiczne zapalenie wątroby [34]. Rola koinfekcji HIV/HCV na przebieg i częstość występowania opisywanych zaburzeń autoimmunologicznych nie jest dokładnie poznana [35].

W literaturze opisywane jest również zwiększone ryzyko występowania chorób sercowo-naczyniowych, cukrzycy czy chorób kości wśród pacjentów zakażonych HIV i HCV. Obecnie brak jest jednak jednoznacznych doniesień na temat wpływu koinfekcji HIV/HCV na częstość występowania oraz ryzyko progresji tych chorób. Przyjmuje się, że indukcja przewlekłego stanu zapalnego, wpływ zakażenia HCV i HIV per se, oraz następstwa leczenia antyretrowirusowego mogą wpływać na ryzyko wystąpienia niektórych chorób [29].

Wpływ koinfekcji HIV/HCV na rozwój chorób sercowo-naczyniowych, w tym miażdżycy, przedstawiono w kolejnych podrozdziałach niniejszej publikacji.

### **1.3. Etiopatogeneza i diagnostyka miażdżycy**

Choroby sercowo-naczyniowe (CVD), w tym miażdżycy, stanowią jedną z głównych przyczyn zachorowalności i śmiertelności na świecie. Według danych epidemiologicznych WHO, tylko w 2008 roku na choroby sercowo-naczyniowe zmarło 17,3 milionów ludzi, co stanowiło 30% ogółu zgonów [2]. W Polsce odsetek ten jest wyższy i wynosił w 2010 roku 46% [4]. Wśród populacji osób zakażonych HIV częstość występowania chorób sercowo-naczyniowych dodatkowo wzrasta, a ryzyko ostrych zespołów wieńcowych jest ponad 2-krotnie wyższe niż w populacji ogólnej [3].

Ostatnio przeprowadzone badania wykazały, że miażdżycy jest chorobą, która dotykała ludzi już w Starożytności. Thompson i wsp. przeprowadzili badania na 137 mumiach pochodzących z różnych regionów świata, stwierdzając występowanie blaszek miażdżycowych u ponad 1/3 z nich [36]. Natomiast pierwsze doniesienia na temat tej choroby pojawiły się w starożytnej Grecji. Jako pierwszy, zmiany w naczyniach obwodowych przypominające miażdżycę opisał grecki lekarz Eristratos. Hipokrates określił objawy choroby niedokrwiennej

serca i zwrócił uwagę na nagły zgon sercowy. Seneka w liście do Luciltusa opisał *meditatio morris* – tworząc pierwszy opis dusznicy bolesnej [37,38]. Jednak dopiero lata późniejsze przyniosły szereg odkryć na temat patogenezы tej choroby. Początki rozwoju kardiologii datuje się na rok 1628, kiedy to Wiliam Harvey odkrywa układ krwionośny. W 1773 roku Stephen Hales skonstruował pierwszy manometr do mierzenia ciśnienia tętniczego krwi [37]. W 1809 roku Aleksander Burns przedstawił koncepcję choroby niedokrwiennej serca, jako konsekwencję miażdżycы tętnic wieńcowych [39]. Valeria Lobstein w 1835 roku po raz pierwszy określiła zmiany w naczyniach jako miażdżycę, natomiast w 1852 roku Karl von Rokitansky stworzył pierwszą teorię powstawania procesu miażdżycowego. Jego teoria inkrustacyjna zakładała, że powstawanie przyściennych zakrzepów, jako wyraz pierwotnych zaburzeń krzepnięcia, prowadzi wtórnie do miażdżycы. W 1856 roku Rudolf Virchow zdefiniował zespół trzech czynników odpowiedzialnych za rozwój zakrzepicy żyłnej, zwany triadą Virchowa. W skład triady wchodziły: zwolnienie przepływu i nadmierna krzepliwość krwi oraz uraz ściany naczynia krwionośnego. Z kolei jego teoria filtracyjna zakładała, że za tworzenie się zmian zakrzepowych odpowiadają substancje krążące we krwi, a odkładające się w ścianie tętnic. Virchow jako pierwszy przedstawił koncepcję zmian zapalnych w błonie naczyniowej jako przyczynę powstawania miażdżycы. Feliks Marchand w 1904 roku wprowadził termin atherosclerosis - miażdżycа, a w 1908 Aleksander I. Ignatowski po raz pierwszy opisał zależność pomiędzy dietą bogatą w cholesterol, a obecnością blaszek miażdżycowych w aorcie u królików [40]. W roku 1913 Mikołaj Anitschkow odkrył komórki piankowate i stworzył tzw. lipidową teorię powstawania zmian miażdżycowych. Zakładała ona, że w wyniku nadmiernego gromadzenia się cholesterolu w makrofagach obecnych podśródbłonkowo, dochodzi do powstania blaszki miażdżycowej. W tym samym roku Anitschkow i jego współpracownik Chalатов przeprowadzili badania na zwierzętach doświadczalnych, potwierdzając hipotezę Ignatowskiego o roli cholesterolu w rozwoju miażdżycы [41,42]. Kolejne lata przyniosły szereg odkryć dotyczących budowy i metabolizmu cholesterolu, lipoprotein, wyodrębniono również 5 typów hiperlipidemii. Teoria lipidowa w patogenezie rozwoju miażdżycы dominowała do lat 70 XX wieku. Wówczas to Rusell Ross i John Glomset stworzyli nową hipotezę, tzw. „odpowiedzi na uszkodzenie”. Zakładała ona, że uszkodzenie śródbłonka naczyniowego powoduje aktywację płytek i powstanie zakrzepu. Aktywacja śródbłonka przez czynniki zewnętrzne prowadzi do jego dysfunkcji, nadmiernej proliferacji i powstawania blaszki miażdżycowej. Wśród potencjalnych czynników powodujących uraz śródbłonka wymieniano: przewlekłą hiperlipidemię, substancje chemiczne tj. homocysteinę, mocznik czy inne metabolity, a także infekcje, uraz immunologiczny czy

mechaniczny [43]. Koncepcja ta obowiązywała do roku 1999, kiedy to Ross opublikował podsumowanie swoich wieloletnich badań nad patogenezą miażdżycy, uznając ją za chorobę zapalną. W swojej pracy „*Atherosclerosis – an inflammatory disease*”, udowodnił współzależność występowania zaburzeń gospodarki lipidowej i procesu zapalnego w rozwoju miażdżycy [44].

Miażdżyca, według obecnie obowiązującej teorii, jest chorobą zapalną tętnic, charakteryzującą się tworzeniem swoistych zmian w ścianie naczynia, z naciekami zapalnymi, gromadzeniem lipidów i włóknieniem [45]. Pierwszym etapem prowadzącym do rozwoju blaszki miażdżycowej jest dysfunkcja śródbłonna. Regionami naczyń tętniczych szczególnie narażonymi na uszkodzenie, są miejsca ich podziału, rozwidlenia czy łuku tętnicy, gdzie przepływ traci swój laminarny charakter. Obszary te, charakteryzują się małymi naprężeniami ścinającymi i burzliwym przepływem [46]. W miejscach tych dochodzi również do akumulacji lipoprotein o małej gęstości (ang. *low density lipoproteins* – LDL), szczególnie przy ich zwiększonym stężeniu we krwi. Turbulentny przepływ krwi w naczyniu, poprzez aktywację jądrowego czynnika kappa B (ang. *nuclear factor-kappa-B* - NF-κB), powoduje zwiększenie w śródbłonku ekspresji molekuł adhezyjnych m.in. cząsteczek przylegania komórkowego typu 1 (ang. *vascular cell adhesion molecule -1* - VCAM-1) oraz cząsteczek adhezji międzykomórkowej typu 1 (ang. *intercellular cell adhesion molecule -1* - ICAM-1). Równocześnie, hamując czynnik transkrypcyjny KLF2, zmniejsza ekspresję genu śródbłonkowej syntazy tlenku azotu - NO (eNOS) i trombomoduliny. Zwiększa jednocześnie ekspresję cząsteczek adhezyjnych i czynnika tkankowego [45,47]. Zmniejszenie ekspresji genu eNOS, skutkuje obniżeniem biodostępności NO w śródbłonku, głównej substancji o właściwościach naczyniorozszerzających. Tlenek azotu odpowiedzialny jest również za hamowanie proliferacji mięśni gładkich i syntezy macierzy pozakomórkowej, a dodatkowo działa przeciwzapalnie, hamując ekspresję molekuł adhezyjnych. Przy małej biodostępności NO dochodzi do nadmiernej syntezy substancji kurczących naczynia oraz konwersji angiotensyny I do angiotensyny II na śródbłonku, co skutkuje skurczem naczynia, aktywacją płytek i przyleganiem leukocytów [45]. Zarówno trombomodulina, jak i czynnik tkankowy zostały przedstawione szerzej w dalszej części Wstępu. Zwiększona ekspresja adhezyn, szczególnie VCAM-1 powoduje przyleganie do śródbłonna monocytów i limfocytów T, poprzez występującą na ich powierzchni integrynę VLA-4 (ang. *very late antigen 4*). Innymi czynnikami zwiększającymi ekspresję VCAM-1 na powierzchni komórek śródbłonna są utlenione cząsteczki LDL (ang. *oxidized LDL* - oxLDL) oraz cytokiny prozapalne, takie jak interleukina-1β i TNF-α. Pod wpływem chemokin wydzielanych przez komórki śródbłonna

i komórki mięśni gładkich naczyń, dochodzi do transmigracji monocytów przez błonę podstawną. Szczególną rolę w tym procesie odgrywa białko chemotaktyczne monocytów typu 1 (ang. *monocyte chemoattractant protein-1* - MCP-1) i jego receptor typu 2 (CCR2). MCP-1 stymuluje również rekrutację limfocytów T, komórek natural killers (NK) oraz makrofagów. W błonie wewnętrznej, monocyty pod wpływem czynnika stymulującego kolonie makrofagów (ang. *macrophage colony-stimulating factor* - M-CSF) oraz IL-1 i TNF- $\alpha$ , przekształcają się w aktywne makrofagi. Pojawienie się na ich powierzchni receptorów zmiatających klasy A (ang. *scavenger receptors A* - SRA) oraz CD36, umożliwia internalizację zmodyfikowanych lipoprotein. Ekspresja tych receptorów nie jest zwrotnie hamowana przez zwiększone stężenie oxLDL, a nieograniczona absorpcja cholesterolu, prowadzi do powstania komórek piankowatych. W wyniku nagromadzenia się lipidów w komórkach piankowatych dochodzi do ich apoptozy i powstawania rdzenia nekrotycznego oraz pozakomórkowych złogów cholesterolu [46,47].

Kluczową rolę w procesie powstawania blaszki miażdżycowej odgrywają procesy modyfikacji cholesterolu LDL. W pierwszym etapie następuje oksydacja fosfolipidowych składników LDL, co skutkuje powstaniem minimalnie zmodyfikowanej LDL (ang. *mildly oxidized LDL* - mmLDL). Powstała w wyniku oksydacji fosfatydylocholina, aktywuje lektynopodobny receptor dla utlenianych LDL - LOX-1 (ang. *lectin like oxidized low-density lipoprotein receptor*), znajdujący się na powierzchni komórek śródbłonna. Aktywacja LOX-1 powoduje pobudzenie NF- $\kappa$ B. Skutkuje to zwiększeniem aktywności enzymu konwertującego angiotensynę oraz zwiększeniem ekspresji receptora AT1 angiotensyny II. Finalnie, dochodzi do aktywacji oksydazy NADPH i zwiększenia stężenia anionorodnika ponadtlenkowego, a w konsekwencji nadtlenu azotynu i dalszego uszkodzenia ściany naczynia. Dodatkowo mmLDL indukują wydzielanie MCP-1 i M-CSF przez komórki śródbłonna [48].

Kolejny etap modyfikacji LDL to proteoliza apolipoproteiny B (apo B) i powstanie zmodyfikowanego LDL (wysoko utlenionej LDL – ang. *oxidized* - oxLDL). Częsteczka ta, przestaje być rozpoznawana przez receptor apo B/E i tworzą się agregaty lipoprotein. Zmodyfikowane LDL wiązane są przez SRA i pochłaniane na zasadzie endocytozy przez zaktywowane makrofagi. Dodatkowo, hamują one aktywność enzymu syntezującego tlenek azotu (NOS-3) i zwiększają dostępność wolnych rodników. Ponadto zwiększają syntezę endoteliny 1, przyczyniając się do wzrostu kurczliwości ściany naczynia. Lizofosfatydylocholina, produkt oksydacji LDL, stanowi chemoatraktant dla monocytów i limfocytów T, indukuje ekspresję adhezyn VCAM-1 i ICAM-1 oraz zwiększa stężenie płytkowego czynnika wzrostu (ang. *platelet-derived growth factor* – PDGF) na komórkach

śródbłonka [48]. Cząsteczki LDL indukują również ekspresję receptora CD40 na powierzchni makrofagów, który odpowiada za wydzielanie chemokin i metaloproteinaz (ang. *matrix metalloproteinase* – MMP), indukcję angiogenezy, a poprzez zwiększenie wydzielania TF, nasila właściwości prozakrzepowe krwi [46,48,49]. Zwiększona sekrecja MMP skutkuje rozkładem składników macierzy pozakomórkowej oraz włókien kolagenowych, prowadząc do przebudowy naczyń krwionośnych.

Ekspresja fragmentów oxLDL oraz białek szoku cieplnego (ang. *heat-shock proteins* – HSP), szczególnie HSP60/65, na powierzchni makrofagów, komórek śródbłonka i mięśni gładkich naczyń, indukuje odpowiedź immunologiczną. Antygeny wiązane są przez receptory Toll-podobne (ang. *Toll-like receptors* – TLR), występujące na powierzchni tych komórek, a ekspresja TLR1, TLR2 i TLR4 koreluje z zaawansowaniem zmian miażdżycowych [46]. Odpowiedź immunologiczna indukowana jest poprzez sygnał kostymulujący CD40/CD40L i prowadzi do aktywacji limfocytów T CD4+. Limfocyty T CD4+ mogą różnicować się w limfocyty pomocnicze typu 1 (*T helper 1* - Th1) lub typu 2 (*T helper 2* -Th2), stwierdzono jednak, że w blaszce miażdżycowej przeważają limfocyty Th1. Obecnie uważa się, że odpowiedź immunologiczna typu komórkowego (Th1) oraz jej mediatory: TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-12, IL-18 oraz IFN- $\gamma$  przyspieszają progresję miażdżycy, natomiast odpowiedź typu humoralnego (Th2) oraz IL-4, IL-5, IL-10 i IL-13 hamują jej rozwój [51,52,53]. IL-12 odgrywa istotną rolę w różnicowaniu limfocytów T CD4+ w komórki Th1 i jest najczęściej stwierdzaną cytokiną w blaszce miażdżycowej [52,54]. IFN- $\gamma$  jest silnym aktywatorem makrofagów, stymuluje syntezę TNF- $\alpha$  i IL-1 oraz indukuje ekspresję CD40/CD40L, a ponadto hamuje proliferację i różnicowanie komórek mięśni gładkich, hamuje syntezę kolagenu i aktywuje makrofagi do wydzielania metaloproteinaz. Dodatkowo, razem z TNF- $\alpha$  indukuje produkcję NO, głównego czynnika wazorelaksującego [54,55,56,57]. W ostatnich latach, szczególną rolę w rozwoju miażdżycy przypisuje się limfocytom T regulatorowym (Treg), które są odpowiedzialne za utrzymanie tolerancji organizmu wobec własnych antygenów. W blaszce miażdżycowej stwierdzono obniżoną liczbę Treg oraz zmniejszenie ich funkcji supresorowej, co sugeruje, że upośledzenie tolerancji w zmianach miażdżycowych skutkuje nasileniem procesu zapalnego [54,55].

Rekrutacja makrofagów w uszkodzonym śródbłonku następuje w wyniku ekspresji cząsteczek adhezyjnych dla leukocytów. Zaktywowane makrofagi wydzielają szereg cytokin prozapalnych (IL-1, IL-6, IL-12, TNF- $\alpha$ ) oraz czynników chemotaktycznych (MCP-1, IL-8), modulując tym samym rozwój blaszki miażdżycowej. Plejotropowe cytokiny, takie jak IL-1 czy TNF- $\alpha$  stanowią główne mediatory stanu zapalnego w miażdżycy, i poprzez zwiększenie

przepuszczalności komórek ściany naczynia oraz zwiększenie ekspresji powierzchniowych adhezyn przyczyniają się do dysfunkcji śródbłonna. Dodatkowo, IL-1 oraz TNF- $\alpha$  stymulują syntezę i powierzchniową ekspresję czynnika tkankowego (TF), obligatoryjnego kofaktora czynnika VII. Jednocześnie zmniejszają stężenie trombomoduliny i zwiększają wydzielanie antyfibrynolizycznego białka PAI-1 (ang. *plasminogen activator inhibitor – 1*). Nasilenie miejscowego stanu zapalnego, poprzez IL-6 prowadzi do odpowiedzi systemowej i zwiększenia produkcji białek ostrej fazy, w tym CRP, przez wątrobę. Dodatkowo, makrofagi są źródłem wolnych rodników, a wzrost stresu oksydacyjnego prowadzi do zwiększonego powstawania oxLDL [50,55,59]. Zmodyfikowane LDL nasilają z kolei ekspresję CD40 na powierzchni makrofagów, zwiększając tym samym sekrecję MMP, szczególnie MMP-1, MMP-8 i MMP-13. MMP odpowiedzialne są za destrukcję włókien kolagenowych i rozpad składowych macierzy pozakomórkowej. Syntezę MMP nasilają dodatkowo IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  i IL-1. Makrofagi są także źródłem czynników wzrostu, takich jak płytkowy czynnik wzrostu (ang. *platelet-derived growth factor - PDGF*) oraz insulinopodobny czynnik wzrostu (ang. *insulin-like growth factor 1 - IGF-1*), które pobudzają komórki mięśni gładkich i ich migrację z błony środkowej do błony wewnętrznej. Zwiększona proliferacja komórek mięśniowych oraz produkcja zrębu pozakomórkowego prowadzi do zwiększenia objętości blaszki miażdżycowej [55,57,59]. Pobudzone komórki mięśniowe zmieniają swój fenotyp z kurczliwego na syntetyzujący i dochodzi do powstania włóknistej czapeczki, pokrywającej blaszkę miażdżycową, a następnie do przebudowy ściany naczynia. Dodatkowo, komórki te, podobnie jak makrofagi, posiadają zdolność gromadzenia w swoim wnętrzu lipoprotein i przekształcania się w komórki piankowate. Wykazują również zdolność do produkcji niektórych cytokin prozapalnych oraz składowych macierzy pozakomórkowej [45,55,60].

Rola układu krzepnięcia w patogenezie miażdżycy polega głównie na aktywacji płytek krwi. Dzięki wzajemnemu oddziaływaniu pomiędzy ligandem P-selektyn (ang. *P-selectin glycoprotein ligand – PSGL-1*) a selektyną P (CD62P), obecną na aktywnych komórkach śródbłonna i płytkach krwi, możliwe jest tzw. toczenie się (ang. *rolling*) krążących we krwi leukocytów po ich powierzchni. Pobudzenie PSGL-1 indukuje aktywację monocytów oraz ekspresję powierzchniowych integrzyn. Ekspresja czynników tkankowych, sekrecja PAF (ang. *platelet-activating factor*) oraz obecność wolnych rodników i oxLDL, indukuje wzrost ekspresji P-selektyny oraz aktywację płytek krwi. W wyniku oddziaływania P-selektyny/PSGL-1 oraz CD40L/CD40 dochodzi do tworzenia się agregatów płytki krwi - monocyty (ang. *platelet-monocyte complexes – PMC*). Zaktywowane płytki uwalniają liczne chemokiny m.in. RANTES (ang. *regulated upon activation normal T cell expressed presumed*

*secreted*), płytkowy czynnik 4 (ang. *platelet factor 4* – PF4), czynniki wzrostu (PDGF, TGF- $\beta$ ), serotoniny, a także białka układu krzepnięcia (czynnik V, IX, XII, białko S) i fibrylizy (plazminogenu i inhibitora aktywatora plazminogenu typu 1 – PAI-1). PMC dodatkowo aktywują adhezję monocytów do komórek śródbłonka oraz pobudzają je do sekrecji IL-1 $\beta$ , IL-8 i MCP-1 [61].

Ponadto, aktywacja płytek oraz interakcja P-selektyny z PSGL-1 aktywuje ekspresję TF na monocytach, który jest najważniejszym czynnikiem inicjującym kaskadę krzepnięcia w torze zewnątrzpoходnym. TF jest komórkowym receptorem osoczonego czynnika VII i znajduje się na powierzchni makrofagów, ciał apoptycznych i mikrocząstek (ang. *microparticles* – MP), także komórek mięśni gładkich i śródbłonka. TF aktywuje allosterycznie czynnik VII i tworząc z nim kompleks TF/VIIa aktywuje czynniki IX i X. Czynnik Xa w obecności czynnika V i jonów wapnia katalizuje konwersję protrombiny do trombiny. Aktywacja płytek jest niezbędna do przyłączenia aktywowanego czynnika V i X do płytki [62]. Przyjmuje się, że trombogenność blaszki miażdżycowej zależy od obecności TF w blaszce. W warunkach fizjologicznych komórki śródbłonka oraz monocyty nie wykazują ekspresji TF [63]. Ekspresję TF indukują IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , CD40L oraz trombina, oxLDL, angiotensyna II i czynnik wzrostu śródbłonka naczyniowego (ang. *vascular endothelial growth factor* – VEGF). Dodatkowo, najważniejsze czynniki ryzyka miażdżycy tętnic, takie jak nadciśnienie tętnicze, cukrzyca i palenie tytoniu zwiększają stężenie czynnika tkankowego we krwi. W późnych zmianach miażdżycowych obecność TF obserwuje się również na powierzchni komórek piankowatych, komórek śródbłonka oraz mięśni gładkich naczyń. TF stwierdzany jest także w rdzeniu nekrotycznym blaszki, pochodzącym z ciał apoptycznych komórek piankowatych, makrofagów i limfocytów [63,64]. Przeprowadzone w ostatnich latach badania wykazały znaczącą rolę krążącego lub „powstałego we krwi” TF (ang. *circulating or blood born TF*) w procesie formowania zakrzepu w naczyniu. Postać ta związana jest mikrocząstkami, czyli pęcherzykami błonowymi, uwalnianymi z płytek krwi, komórek śródbłonka i mięśni gładkich, monocytów oraz limfocytów. Tworzenie MP związane jest utratą asymetrii błon plazmatycznych komórek, w wyniku ich aktywacji lub apoptozy [65]. Stwierdzono, że dzięki obecności PSGL-1 na powierzchni MP, mają one zdolność przyłączania się do zaktywowanych płytek w miejscu uszkodzenia naczynia i formowania zakrzepu [62,65].

Podstawowym czynnikiem hamującym zewnątrzpoходny układ krzepnięcia jest inhibitor zależnej od czynnika tkankowego drogi krzepnięcia (ang. *tissue factor pathway inhibitor* – TFPI). TFPI należy do rodziny białkowych inhibitorów typu Kunitza i zawiera 3 domeny inhibitorowe: pierwszą łączącą się z kompleksem TF/VIIa, drugą - wiążącą czynniki

Xa oraz trzecią, odpowiadającą za połączenie TFPI z heparyną i lipoproteinami osocza. TFPI syntetyzowany jest głównie przez komórki śródbłonna, a także płytki krwi, monocyty i fibroblasty [64,66]. Większość krążącego TFPI jest związane z osocзовymi lipoproteinami, głównie z LDL, w mniejszym stopniu z HDL. Jego działanie hamujące polega na tworzeniu kompleksu TFPI/Xa i odwracalnym hamowaniu czynnika X. Następnie kompleks TFPI/Xa wiąże się z kompleksem TF/VIIa i hamuje jego aktywność enzymatyczną. Możliwe jest również hamowanie bezpośrednio kompleksu TF/VIIa, bez obecności czynnika X. Wymaga to jednak znacznie wyższych stężeń TFPI. Obecność TFPI w zmianach miażdżycowych jest uważane za główny mechanizm ograniczający trombogenność blaszki miażdżycowej oraz zapobiegający reokluzji naczyń. W badaniach wykazano podwyższone stężenie TFPI u chorych na miażdżycę zarostową tętnic kończyn dolnych, chorobę Buergera, hiperlipidemię, chorobę niedokrwienną serca czy cukrzycę [64,66].

Wszystkie opisane powyżej mechanizmy związane są z dysfunkcją śródbłonna, polegającą na upośledzeniu jego zdolności wazorelaksacyjnych, przeciwzakrzepowych, przeciwplatekcyjnych, profibrynolitycznych i przeciwmiażdżycowych. Zaburzenie integralności śródbłonna można sprawdzić poprzez pomiar zdolności odpowiedzi na stymulację odpowiednimi czynnikami lub badanie stężenia produkowanych przez śródbłonek związków, świadczących o zaburzeniu jego funkcji [67]. Za markery uszkodzenia śródbłonna uważa się obecnie oprócz VCAM-1, wspomnianą wyżej trombomodulinę (ang. *soluble thrombomodulin* - sTM) i czynnik von Willebrand'a (ang. *von Willebrand factor* - vWF).

Czynnik von Willebranda jest wielopodjednostkową glikoproteiną zaangażowaną w procesie formowania czopu płytkowego. Przenosi również czynnik krzepnięcia VIII, zapewniając jego stabilizację w osoczu [68]. Synteza czynnika von Willebranda zachodzi w komórkach śródbłonna oraz płytkach krwi [67]. Do osocza uwalniany jest konstytutywnie lub w sposób regulowany. W komórkach śródbłonna 95% syntetyzowanego vWF jest wydzielane konstytutywnie, pozostałe cząsteczki magazynowane są w ciałkach Weibel-Paladiego. Zasoby vWF znajdujące się w ciałkach Weibel-Paladiego oraz ziarnistościach alfa płytek krwi tworzą białka o wysokiej masie, wykazują największą aktywność w procesie adhezji płytek krwi oraz mogą być uwalniane w sposób regulowany w odpowiedzi na uszkodzenia śródbłonna [67]. Uszkodzenie śródbłonna powoduje odsłonięcie kolagenu w warstwie podśródbłonnej naczyń oraz uwolnienie czynnika von Willebranda z ciałek Weibel-Palade'ego. Poprzez wiązanie specyficznych receptorów – glikoprotein (ang. glikoprotein – GP) występujących na powierzchni płytek: receptora dla vWF – GP Ib/IX-V oraz receptora dla kolagenu – GP Ia/IIa, następuje aktywacja i adhezja płytek krwi do



uszkodzonego endothelium. Dochodzi wówczas do zmiany konformacji i przemieszczenia na powierzchnię płytki receptora GPIIb/IIIa, o dużym powinowactwie do kolagenu. Połączenie fibrynogenu i vWF z GPIIb/IIIa umożliwia agregację płytek. Dodatkowo vWF łącząc się z GPIIb wzmacnia agregację przy dużych siłach ścinania [62,68]

Większość cząsteczek vWF znajdujących się w osoczu dostarczanych jest z komórek śródbłonna, a ich uwalnianie może być stymulowane przez adrenalinę, wazopresynę, kwas nikotynowy, jak również cytokiny zapalne np. TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8. Uważa się, że czynnik ten jest osoczym markerem dysfunkcji śródbłonna. Wysokie stężenia antygeny vWF wykazano m.in. u pacjentów z angiopatią cukrzycową, jest on (słabym) wskaźnikiem prognostycznym zawału serca, ponownego zawału serca, wystąpienia zakrzepu lub zgonu. Może również służyć do przewidywania innych incydentów sercowo-naczyniowych, takich jak udar mózgu [68].

Trombomodulina (ang. *thrombomodulin* – TM) jest przezbłonową glikoproteiną, zlokalizowaną głównie na powierzchni komórek śródbłonna naczyń krwionośnych. Ekspresję TM wykazują również komórki mięśni gładkich, płytki krwi, monocyty oraz kardiomiocyty [69]. TM ma działanie przeciwzakrzepowe, wynikające głównie z tworzenia kompleksu z trombiną, hamując tym samym konwersję fibrynogenu do fibryny i aktywację płytek. W wyniku tego dochodzi do aktywacji białka C, które w obecności białka S jako kofaktora inaktywuje aktywny czynnik V i VIII. Wykazuje również hamujący wpływ na fibrylizację poprzez aktywację aktywowanego trombiną inhibitora fibrylizacji (ang. *thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor* – TAFI). TAFI odszczepiając C-końcowe reszty z fibryny, powoduje zahamowanie aktywacji plazminogenu przez tkankowy aktywator plazminogenu (ang. *tissue plasminogen activator* -t-PA) i powstawanie plazminy. Wydzielanie trombomoduliny przez komórki śródbłonna indukowane jest przez analogi cAMP, natomiast hamowane przez IL-1, TNF- $\alpha$ , lipopolisacharydy i hipoksję. Dodatkowo TNF- $\alpha$  powoduje internalizację i lizosomalną degradację trombomoduliny w doświadczeniach *in vitro* [67].

Rola trombomoduliny nie ogranicza się do jej działania w układzie hemostazy. Wykazano także jej pośrednie działanie przeciwzapalne polegające na ograniczeniu reakcji zapalnych przez aktywowane białko C, redukcji prozapalnych efektów trombiny lub inaktywacji bradykininy czy komplementu przez aktywowany TAFI. TM wiążąc się z cząsteczką trombiny, hamuje indukowane przez nią wydzielanie TNF- $\alpha$  przez monocyty oraz ich przyleganie do komórek śródbłonna przez zmniejszenie ekspresji cząsteczek adhezyjnych tj. VCAM-1, ICAM-1 czy MCP-1 na ich powierzchni [69]. Badania nad funkcją zewnętrznej domeny lektyno-podobnej-1 (ang. *lectin-like domain 1* -TMD1) wykazały jej bezpośrednie

działania przeciwzapalne – poprzez hamowanie połączeń białek uwalnianych z komórek zapalnych, tzw. białek wysokiej ruchliwości ( ang. *high mobility group box 1* – HMGB 1) z receptorami końcowych produktów zaawansowanej glikacji (ang. *Receptors for Advanced Glycation Endproducts* - RAGE) oraz poprzez proteolizę HMGB 1. Dodatkowo TMD1 wiążąc antygen Lewisa Y lipopolisacharydów bakterii Gram – ujemnych indukuje aglutynację bakterii i zwiększa ich fagocytozę przez zaktywowane makrofagi [69,70].

Rozpuszczalna trombomodulina (sTM) w postaci jej krążących w plazmie heterogenicznych fragmentów, uważana jest za wskaźnik dysfunkcji śródbłonna. Powstaje w wyniku odłączenia zewnątrzłonowego fragmentu TM od formy endotelialnej pod wpływem działania cytokin prozapalnych. Wysokie stężenia sTM stwierdzano w różnych stanach chorobowych – zespołach wykrzepiania śródnaczyniowego, zakrzepowej płamicy trombocytopenicznej, insulinooporności, mikroangiopatii cukrzycowej, miażdżycy oraz w przebiegu kolagenoz. W przebiegu miażdżycy wydzielane przez komórki śródbłonna prozapalne cytokiny tj. IL-1 oraz TNF- $\alpha$  hamują przeciwzakrzepowe działanie trombomoduliny, hamując transkrypcję genu dla trombomoduliny oraz jej receptora dla białek adhezyjnych [71]. Zmniejszają również jej działanie przeciwzapalne, poprzez aktywację NF- $\kappa$ B i wzrost ekspresji cząsteczek adhezyjnych [72].

Zmiany miażdżycowe mogą doprowadzić do ostrych incydentów naczyniowych, szczególnie w zakresie tętnic wieńcowych (ostre zespoły wieńcowe – OZW) oraz mózgowych (udar lub przejściowy atak niedokrwienia mózgu), rzadziej w zakresie tętnic kończyn dolnych (ostre niedokrwienie kończyny). Przyjmuje się, że podłożem tego procesu jest aterotromboza, którą definiuje się jako zakrzepicę tętniczą powstałą na uszkodzonej blaszce miażdżycowej lub jako powikłanie nadmiernej aktywacji układu krzepnięcia w przebiegu miażdżycy. Zmiany zakrzepowe najczęściej powstają w blaszkach podatnych na uszkodzenie tzw. blaszkach niestabilnych (ang. *vulnerable plaque*). Cechami typowej blaszki niestabilnej są: rdzeń lipidowy stanowiący powyżej 40% objętości blaszki z cienką czapeczką włóknistą – poniżej 65  $\mu$ m, ze zmniejszoną ilością włókien kolagenowych i komórek mięśni gładkich, obecność aktywnego procesu zapalnego, erozja śródbłonna z przyścienną agregacją płytek, krwotok do blaszki oraz nasilona neowaskulogeneza [62,73]. Powolny rozwój zmian miażdżycowych prowadzi do przewlekłego niedokrwienia kończyn dolnych oraz przewlekłej choroby niedokrwiennej serca.

Występowanie i stopień zaawansowania zmian miażdżycowych ściśle koreluje z obecnością czynników ryzyka sercowo-naczyniowego. Obecnie wyodrębniono kilka klasyfikacji uwzględniających występowanie czynników ryzyka u danej osoby, jednak różnorodność tych czynników, jak również siła ich działania, utrudnia dokładne ich sklasyfikowanie. Według klasycznego podziału dzieli się je na czynniki modyfikowalne i niemodyfikowalne. Do pierwszej grupy zaliczono: palenie tytoniu, nieprawidłową dietę, małą aktywność fizyczną, zaburzenia gospodarki lipidowej oraz nadciśnienie tętnicze, cukrzycę i otyłość. Do drugiej grupy należą: wiek, płeć męska oraz dodatni wywiad rodzinny w kierunku CVD i predyspozycje genetyczne. Podział czynników ryzyka według europejskich wytycznych dotyczących prewencji chorób układu krążenia (ang. *European guidelines on cardiovascular diseases prevention in clinical practice*) oraz Polskiego Forum Profilaktyki Układu Krążenia przedstawia Tabela 1 [74,75].

Tabela 1. Podział czynników ryzyka sercowo-naczyniowego wg europejskich wytycznych [74,75]

CZYNNIKI RYZYKA		
STYL ŻYCIA	FIZJOLOGICZNE / BIOCHEMICZNE	OSOBNICZE
<ul style="list-style-type: none"> <li>• ZŁA DIETA</li> <li>• NIKOTYNIZM</li> <li>• ZBYT MAŁA AKTYWNOŚĆ FIZYCZNA</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• NADCIŚNIENIE TĘTNICZE</li> <li>• ZWIĘKSZONE STĘŻENIE LDL</li> <li>• ZMNIJSZONE STĘŻENIE HDL</li> <li>• ZWIĘKSZONE STĘŻENIE TRIGLICERYDÓW</li> <li>• CUKRZYCA</li> <li>• NADWAGA I OTYŁOŚĆ</li> <li>• MARKERY PRZEWLEKŁEGO STANU ZAPALNEGO</li> <li>• CZYNNIKI PROZAKRZEPOWE</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• WIEK</li> <li>• PLEĆ</li> <li>• DODATNI WYWIAD RODZINNY W KIERUNKU CHOROÓB UKŁADU SERCOWO - NACZYNIOWEGO</li> <li>• MARKERY GENETYCZNE</li> </ul>

Natomiast III Raport Zespołu Ekspertów ds. Wykrywania, Oceny i Leczenia Hipercholesterolemii u Dorosłych (ang. Adult Treatment Panel III - ATP III) zawiera zaktualizowane zalecenia amerykańskiego Narodowego Programu Edukacji Cholesterolowej (ang. National Cholesterol Education Program – NCEP) dotyczące prewencji i leczenia hipercholesterolemii, uwzględniające czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. W raporcie tym, stężenie cholesterolu LDL uznaje się za najważniejszy czynnik ryzyka, a jego

obniżenie za główny cel prewencji zarówno pierwotnej, jak i wtórnej. Klasyfikacja ta wyróżnia tzw. czynniki główne oraz nowe (wyłaniające się) i dzieli je na lipidowe i nielipidowe (Tabela 2). Uwzględnia również, wpływ czynników związanych ze stylem życia oraz dzieli je na modyfikowalne i nie poddające się modyfikacji. Do czynników modyfikowalnych zaliczono: nadciśnienie tętnicze, palenie tytoniu, niską aktywność fizyczną, proaterogenną dietę, otyłość oraz cukrzycę, natomiast do niemodyfikowalnych: wiek, płeć męską oraz wywiad rodzinny [76].

Tabela 2. Podział czynników ryzyka sercowo-naczyniowego według wytycznych NCEP ATP III

	LIPIDOWE	NIELIPIDOWE
<b>GLÓWNE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ZWIĘKSZONE STĘŻENIE CHOLESTEROLU LDL</li> <li>• ZWIĘKSZONE STĘŻENIE CHOLESTEROLU CAŁKOWITEGO</li> <li>• ZMNIJSZONE STĘŻENIE CHOLESTEROLU HDL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• NADCIŚNIENIE TĘTNICZE</li> <li>• NIKOTYNIZM</li> <li>• CUKRZYCA</li> <li>• OTYŁOŚĆ</li> <li>• NISKA AKTYWNOŚĆ FIZYCZNA</li> <li>• PROATEROGENNA DIETA</li> <li>• WIEK*</li> <li>• PŁEĆ MĘSKA*</li> <li>• DODATNI WYWIAD RODZINNY*</li> </ul>
<b>WYLANIAJĄCE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ TRIGLICERYDY</li> <li>▪ LIPOPROTEINA (a)</li> <li>▪ APOLIPROTEINY</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ HOMOCYSTEINA</li> <li>▪ CZYNNIKI PROZAKRZEPOWE</li> <li>▪ OBECNOŚĆ MARKERÓW PROZAPALNYCH</li> <li>▪ NIETOLERANCJA GLUKOZY</li> <li>▪ OBECNOŚĆ SUBKLINICZNYCH ZMIAN MIAŻDŻYCOWYCH</li> </ul>

\* - czynniki niemodyfikowalne

Oszacowanie czynników ryzyka umożliwia identyfikację osób obarczonych wysokim ryzykiem wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych, w tym miażdżycy. Rozpoznawanie i modyfikacja tych czynników, jest głównym celem prewencji CVD, prowadzącym do redukcji śmiertelności i zachorowalności, a tym samym do wydłużenia średniej życia i poprawy jego jakości. W przypadkach osób z licznymi czynnikami ryzyka niezmiernie istotna jest wczesna diagnostyka. Wykrywanie subklinicznych zmian miażdżycowych, szczególnie u pacjentów bezobjawowych, umożliwia wdrożenie

profilaktycznych działań, mogących zapobiec wystąpieniu ostrych incydentów sercowo-naczyniowych w przyszłości. Metody diagnostyczne pozwalające ocenić zaawansowanie zmian miażdżycowych, obecność blaszek czy stopień zwężenia naczynia, możemy podzielić na inwazyjne i nieinwazyjne.

Metody nieinwazyjne:

- Ultrasonografia w projekcji B-mode, Duplex Doppler, 3D
- Angiografia tomografii komputerowej
- Angiografia rezonansu magnetycznego
- Tomografia emisyjna pojedynczych fotonów
- Pozytonowa emisyjna tomografia komputerowa

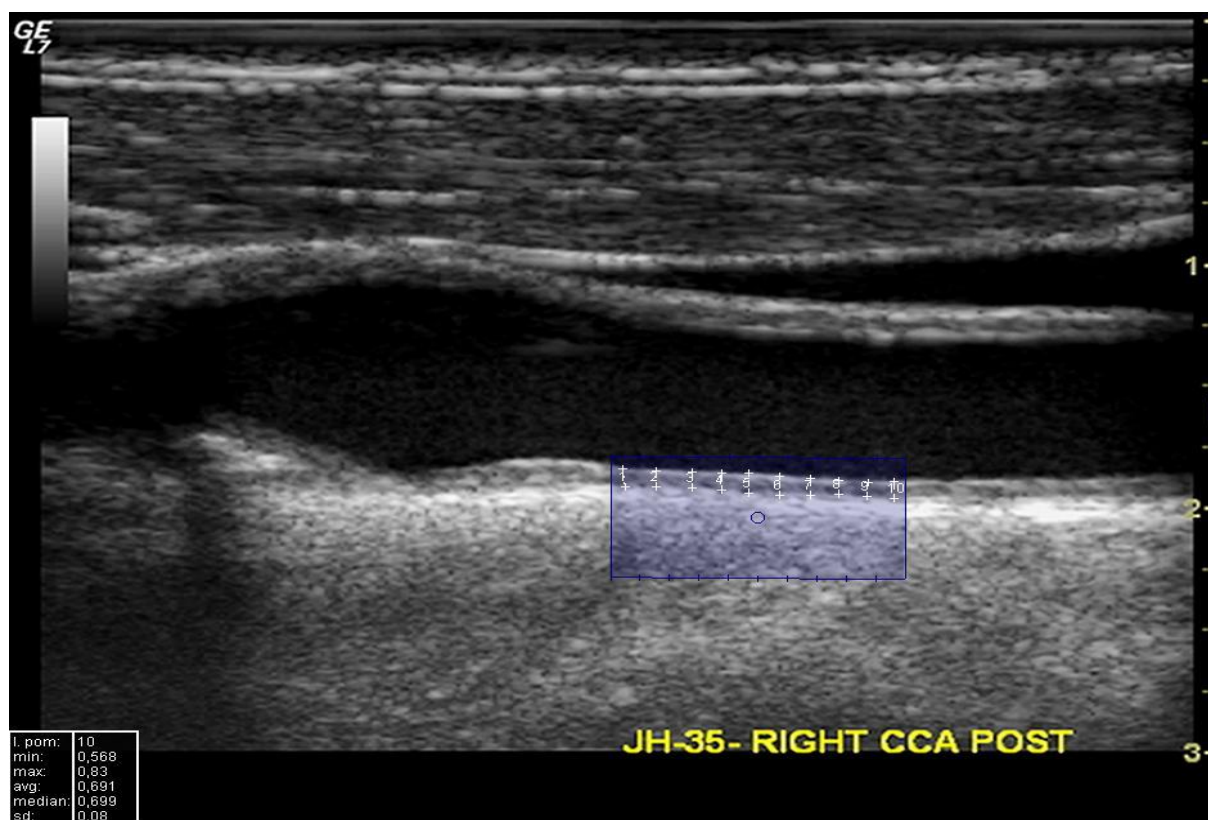
Metody inwazyjne:

- Arteriografia subtrakcyjna
- Wewnątrznaczyniowa ultrasonografia
- Angioskopia
- Termografia wewnątrznaczyniowa [77]

Rozpowszechnioną metodą diagnostyczną służącą ocenie subklinicznych zmian miażdżycowych jest ultrasonografia w prezentacji B z oceną grubości kompleksu błona wewnętrzna – błona środkowa (ang. *intima-media thickness* – IMT) tętnicy szyjnej. Tętnica szyjna jest elastycznym naczyniem o niskooporowym spektrum przepływu, z niewielką średnicą błony mięśniowej. Pogrubienie łącznie błony wewnętrznej i środkowej tętnicy szyjnej uważane jest za wczesne stadium procesu miażdżycowego [78]. W warunkach fizjologicznych zwiększenie grubości IMT może być wyrazem oddziaływania miejscowego ciśnienia w ścianie tętnicy i natężeniem sił ścinania, natomiast wzrost powyżej tego poziomu może być wykładnikiem zmian miażdżycowych [79]. Mechanizmy prowadzące do pogrubienia IMT nadal nie są dokładnie poznane. Według niektórych badań u podłoża tego procesu leży dysfunkcja śródbłónka i pogrubienie warstwy mięśniowej [80], według innych jest to wyraz zmian adaptacyjnych ściany tętnicy do warunków hemodynamicznych w naczyniu [81]. Wykazano natomiast, że istnieje dodatnia korelacja pomiędzy grubością

IMT, a niektórymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego [78]. Do czynników tych należą: płeć męska, wiek, nadwaga, BMI, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca i hipercholesterolemia.

Standardowo ocenę IMT wykonuje się w tętnicy szyjnej wspólnej, w opuszcze, a także w początkowym odcinku tętnicy szyjnej wewnętrznej, w miejscu wolnym od blaszek miażdżycowych, w obrębie ściany dalszej naczynia i przy możliwie najlepszej jakości obrazu. Pomiar wykonuje się głowicą liniową, o częstotliwości minimalnej 7,5 MHz, a optymalnej 10 MHz. Ujednolicone zasady oceny ultrasonograficznej cIMT wprowadzono w 2004 roku w oparciu o konsensus z Mannheim (Mannheim Intima Media Thickness Consensus), w którym przedstawiono również nomogramy wartości cIMT w zależności od wieku i płci [82] (ryc.3). Wg europejskich wytycznych kardiologicznych wartość  $> 0,9\text{mm}$  uważa się za nieprawidłową [74] (ryc.5). Badania z wielu ośrodków wykazały, że grubość IMT już około 1 mm wiązała się z podwyższonym ryzykiem zdarzeń sercowo-naczyniowych, w tym zawału serca i udaru mózgu [78].



Rycina 4. Pomiar cIMT tętnicy szyjnej wspólnej prawej, w projekcji tylnej u pacjenta JH (nr 35 w grupie badanej). W tabeli pomiarów w dolnym lewym rogu - wartość pomiarów średnia, SD, mediana, wartość minimalna i maksymalna. Materiał własny.

### **1.3.1 Wpływ zakażenia HIV na aktywację komórek śródbłonka i rozwój miażdżycy**

Osoby żyjące z HIV wykazują większe zaawansowanie subklinicznej miażdżycy oraz większą zapadalność na choroby sercowo-naczyniowe w porównaniu do populacji ogólnej. Dyskusje wokół przyczyn tego stanu, wskazują na rolę proaterogennego wpływu samego zakażenia HIV, metaboliczne następstwa leczenia antyretrowirusowego oraz nasilenie w tej subpopulacji niektórych tradycyjnych czynników ryzyka. Podkreśla się również wpływ przewlekłego stanu zapalnego, prowadzącego do aktywacji komórek śródbłonka i zaburzeń w układzie krzepnięcia [83].

W patomechanizmie rozwoju miażdżycy u osób żyjących z HIV główną rolę czynnika inicjującego pełnią wirusowe białka Tat, gp 120 oraz Nef. Białko Tat indukuje wydzielanie przez pobudzone limfocyty prozapalnych cytokin tj. TNF- $\alpha$  i IL-6 oraz aktywuje NF- $\kappa$ B, przez co nasila ekspresję molekuł adhezyjnych, szczególnie VCAM-1, ICAM-1 oraz E-selektyny. Tat wpływa również na wzrost sekrecji IL-8 przez komórki śródbłonka, nasilając migrację i rekrutację komórek zapalnych, a poprzez zwiększenie wydzielania MCP-1 promuje transmigrację monocytów przez błonę podstawną. Białko gp120 indukuje monocyty do wydzielania IL-1 i prostaglandyny E oraz podobnie jak białko Tat, nasila ekspresję adhezyn na powierzchni komórek śródbłonka. Zwiększa również stres oksydacyjny, hamując aktywność dysmutazy nadtlenkowej oraz upośledza proliferację komórek mięśni gładkich naczyń. Białko Nef indukuje wydzielanie IL-1, IL-6 oraz TNF- $\alpha$  przez makrofagi. Zaobserwowano, że monocyty zakażone HIV wykazują zwiększoną zdolność adhezji do komórek endothelialnych. Dodatkowo produkują większe ilości enzymu gelatynazy, prowadząc do dalszego uszkodzenia ściany naczynia. Innym mechanizmem odgrywającym istotną rolę w rozwoju miażdżycy u osób żyjących z HIV, jest nasilenie apoptozy komórek śródbłonka, indukowane przez białko gp 120 oraz Tat [83,84,85].

Przewlekły proces zapalny indukowany przez HIV prowadzi do dysfunkcji śródbłonka naczyń. Wykazano ścisłą korelację pomiędzy wzrostem stężenia białka CRP, a zaawansowaniem subklinicznej miażdżycy. Stwierdzono również dodatnią zależność pomiędzy markerami stanu zapalnego, głównie hsCRP, IL-6, IL-1, TNF- $\alpha$ , a poziomem wirerii HIV. Zakażenie HIV prowadzi również do hiperaktywacji makrofagów, komórek NK (natural killers) oraz limfocytów T i B. Wraz z zaawansowaniem zakażenia spada liczba limfocytów T CD4+, a wzrasta limfocytów T CD8+, następuje również przewaga odpowiedzi

immunologicznej typu humoralnego (Th2), nad odpowiedzią typu komórkowego (Th1). W związku z tym dochodzi do spadku wydzielania IL-2 i IFN- $\gamma$  i wzrostu sekrecji IL-4 i IL-10 oraz cytokin prozapalnych tj. IL-1, IL-6, IL-8 i TNF- $\alpha$  [83,84]. Przetrwala aktywację układu odpornościowego w przebiegu zakażenia HIV powoduje również translokacja bakterii jelitowych i ich składników (lipopolisacharydów – LPS) do łożyska naczyniowego [83,86]. Pobudzenie układu odpornościowego prowadzi do wzmożonej ekspresji TF na powierzchni monocytów. Ekspresja TF koreluje z poziomem HIV RNA w surowicy krwi oraz ze stężeniem rozpuszczalnego receptora dla LPS - CD14 (sCD14), które są uważane za markery progresji zakażenia HIV. Ponadto, wykazano również korelację pomiędzy poziomem TF, a stężeniem D-dimerów we krwi [87].

Wzrost ekspresji TF, a także dysfunkcja śródbłonna i sekrecja prozapalnych cytokin, wiążą się ze wzrostem prozakrzepowych właściwości krwi u osób żyjących z HIV. Zaobserwowano, że im większy stopień zaawansowania zakażenia (AIDS, liczba komórek T CD4+ < 200/ $\mu$ l), tym większe ryzyko powikłań zakrzepowo-zatorowych. W przebiegu zakażenia stwierdzono zwiększone stężenie D-dimerów, fibrynogenu, czynnika VII, rozpuszczalnej trombomoduliny oraz czynnika von Willebranda, przy jednoczesnym obniżonym poziomie antytrombiny III, niższym stężeniu białek C i S oraz kofaktora II heparyny. Obserwuje się również zaburzenia układu fibrynolizy oraz wynikającą z hipoalbuminemii nieprawidłową polimeryzację fibryny. Dodatkowo vWF jest uznawany za marker progresji choroby i wykazuje ścisłą korelację z liczbą komórek T CD4+ we krwi. Zaobserwowano także znaczący wzrost aktywności PAI-1 u osób HIV (+) [88,89].

Kolejnym czynnikiem predysponującym do rozwoju miażdżycy u osób zakażonych HIV są zaburzenia gospodarki lipidowej, niezwiązane z cART. W początkowej fazie infekcji HIV dochodzi do obniżenia stężenia cholesterolu całkowitego oraz frakcji HDL. W miarę rozwoju zakażenia oraz spadku liczby limfocytów T CD4+ obserwuje się spadek stężenia cholesterolu LDL oraz apolipoproteiny B. Dodatkowo wrasta stężenie triglicerydów [90,91].

Istotną rolę w progresji zmian miażdżycowych u osób żyjących z HIV przypisuje się działaniu terapii antyretrowirusowej. Wykazano, że jednym z objawów niepożądanych stosowanej terapii ARV są choroby sercowo-naczyniowe, w tym miażdżycy. Udowodniono również większą częstotliwość występowania zespołu metabolicznego wśród chorych otrzymujących leczenie antyretrowirusowe. U podłoża zwiększonego ryzyka sercowo-naczyniowego leżą zaburzenia metaboliczne powodowane przez cART tj. dyslipidemia, insulinooporność przy jednoczesnej hiperglikemii czy lipodystrofia. Zaobserwowano nawet 26% wzrost ryzyka wystąpienia zawału serca wśród osób otrzymujących cART [90,92]. Leki



antyretrowirusowe mogą również bezpośrednio uszkadzać śródbłonek naczyń, między innymi w wyniku zmniejszenia połączeń międzykomórkowych oraz zmian w konformacji cytoszkieletu komórek śródbłonka. Mogą również zwiększać przepuszczalność ściany naczynia oraz nasilać produkcję anionów nadtlenkowych. Dodatkowo wykazano wpływ inhibitorów proteazy HIV na receptor zmiatający CD36, znajdujący się na powierzchni makrofagów. Leki te zwiększając ekspresję CD36, nasilają gromadzenie się w komórkach makrofagów nadmiernej ilości estrów cholesterolu i powstawanie komórek piankowatych, a co za tym idzie przyspieszają tworzenie blaszki miażdżycowej [93].

W patogenezie zwiększonego ryzyka chorób sercowo-naczyniowych u osób żyjących z HIV, należy wymienić również nasilenie w tej subpopulacji niektórych czynników ryzyka. Statystycznie częściej obserwuje się wśród osób zakażonych HIV występowanie tradycyjnych czynników, takich jak palenie tytoniu czy płeć męska, oraz nietradycyjnych, szczególnie tych związanych ze stylem życia, niską aktywnością fizyczną czy nieprawidłową dietą [90].

### **1.3.2 Koinfekcja HIV/HCV a ryzyko chorób sercowo-naczyniowych**

Wpływ zakażenia HCV na rozwój chorób sercowo-naczyniowych nie jest dokładnie poznany. W literaturze istnieje wiele badań wskazujących na zwiększone ryzyko chorób sercowo-naczyniowych u pacjentów zakażonych HCV. Wykazano również dodatnią korelację pomiędzy istnieniem zakażenia HCV a rozwojem blaszki miażdżycowej [94,95]. Istnieją jednak również doniesienia, wykluczające wpływ HCV na ryzyko chorób sercowo-naczyniowych [96,97]. Bilora i wsp. w trakcie swojej 5-letniej obserwacji, wysunęli wnioski, że infekcja HCV może spowalniać rozwój miażdżycy [98]. Huang i wsp. na podstawie przeprowadzonej metaanalizy z 14 kohortowych badań, wykazali dodatnią korelację pomiędzy zakażeniem HCV a ryzykiem udaru mózgu. Stwierdzono również wpływ zakażenia HCV na rozwój miażdżycy tętnic szyjnych [99]. Udowodniono także, że niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju miażdżycy w tętnicach szyjnych jest poziom HCV RNA w surowicy [100], a wyizolowany HCV RNA z wnętrza blaszki miażdżycowej może wskazywać na zdolność replikacji wirusa w blaszce [101]. Dotychczas tylko w jednym badaniu wykazano wpływ genotypu HCV na ryzyko rozwoju zmian miażdżycowych w tętnicach szyjnych, a zwiększone ryzyko wiązało się z występowaniem genotypu 1 [102].

W piśmiennictwie istnieje niewiele publikacji na temat wpływu koinfekcji HIV/HCV na rozwój chorób sercowo-naczyniowych i miażdżycy. Freiberg i wsp. wykazali zwiększone ryzyko chorób sercowo-naczyniowych u pacjentów zakażonych HIV z koinfekcją HCV [103]. Również Bedimo i wsp. wykazali wpływ HCV na wzrost ryzyka sercowo-naczyniowego oraz częstość występowania zawału serca wśród osób żyjących z HIV [104]. Z kolei Sosner i wsp., w swoim badaniu zaobserwowali częstsze występowanie blaszki miażdżycowej wśród pacjentów z koinfekcją HIV/HCV w porównaniu do osób z monoinfekcją HIV. Nie wykazali oni jednak wpływu zakażenia HCV na grubość cIMT. Nie stwierdzili również zależności pomiędzy stopniem włóknienia wątroby a miażdżycą [105]. Masia i wsp. nie zaobserwowali w swoich badaniach wpływu zakażenia HCV na rozwój subklinicznej miażdżycy i związku z cIMT. Stwierdzili jednak znaczący wzrost poziomu rozpuszczalnych cząsteczek adhezyjnych sVCAM i sICAM w surowicy krwi badanej kohorty osób [106]. Również Tien i wsp. nie wykazali wpływu HCV na obecność blaszki miażdżycowej i cIMT, jednak negatywny wynik obserwacji może wynikać z faktu, iż grupę badaną stanowiły jedynie kobiety żyjące z HIV [107].

Wpływ zakażenia HCV na patogenezę miażdżycy nie jest do końca poznany. Za prawdopodobny mechanizm prowadzący do rozwoju zmian miażdżycowych przyjmuje się indukcję przewlekłego stanu zapalnego. Zakażenie HCV stymuluje odpowiedź immunologiczną gospodarza, aktywuje pomocnicze limfocyty T CD4<sup>+</sup> oraz zwiększa wydzielanie prozapalnych cytokin takich jak IFN- $\gamma$ , IL-1, IL-6 i TNF- $\alpha$  [108]. HCV aktywuje wątrobowe komórki zrębu oraz makrofagi do wydzielania IL-1 $\beta$ , która jest znanym markerem zapalenia wątroby i progresji choroby. Również wysokie stężenie TNF- $\alpha$  i IL-10 były stwierdzane u pacjentów z zaawansowaną chorobą wątroby oraz rakiem wątrobowokomórkowym [109]. Aktywacja procesu zapalnego prowadzi do dysfunkcji komórek śródbłonna i wzrostu ekspresji cząsteczek adhezyjnych VCAM-1 i ICAM-1. U osób zakażonych HIV z koinfekcją HCV stwierdzono znacznie podwyższony poziom rozpuszczalnych molekuł adhezyjnych sVCAM-1 i sICAM-1 w surowicy krwi [110]. W przeprowadzonych badaniach wykazano znaczący spadek poziomu powyższych adhezyn oraz TNF- $\alpha$  po leczeniu pegylowanym interferonem i rybawiryną, które hamują replikację HCV [111]. De Castro i wsp. zaobserwowali również wyższy poziom sVCAM i sICAM wśród osób zakażonych genotypem 1 HCV [110]. Dodatkowo Larranaga i wsp. wykazali wyższe stężenie glukozy, cechy insulinooporności, podwyższone stężenia markerów dysfunkcji śródbłonna (vWF, VCAM-1, ICAM-1, sTM) oraz markera aktywacji płytek krwi (P-selektyny), równoległe z niską liczbą komórek T CD4<sup>+</sup> i wysoką wiremią HIV, u pacjentów z koinfekcją

HCV poddanych terapii antyretrowirusowej. Stwierdzili również niezależny związek pomiędzy stężeniem glukozy, P-selektyny oraz czynnika von Willebranda a zakażeniem HCV [112].

Wśród osób z koinfekcją HIV/HCV zaobserwowano także częstsze występowanie zaburzeń metabolicznych, takich jak zespół lipodystrofii, stłuszczenie wątroby, zespół metaboliczny, nietolerancja glukozy oraz cukrzyca, które stanowią czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowego [113]. Wykazano również częstsze w tej populacji osób występowanie nadciśnienia tętniczego i nałogu palenia tytoniu [104].

W piśmiennictwie istnieją też doniesienia wskazujące na rzadsze występowanie dyslipidemii związanych z HIV i leczeniem antyretrowirusowym wśród osób z koinfekcją HIV/HCV. Postuluje się, że współzakażenie HCV może częściowo niwelować aterogenne zaburzenia lipidowe w przebiegu HIV, wpływając na obniżenie stężenia cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL oraz triglicerydów [114,115,116]. Zaobserwowano także u osób z monoinfekcją HCV mniejsze ryzyko wystąpienia zaburzeń lipidowych w porównaniu do populacji osób zdrowych [117]. Wykazano również niższe stężenie CRP w surowicy osób zakażonych HCV, niezależnie od statusu zakażenia HIV [118,119]. Korzystny wpływ zakażenia HCV na gospodarkę lipidową i poziom CRP – dwóch niezależnych czynników ryzyka, może prowadzić do przypuszczenia, że koinfekcja HCV zmniejsza ryzyko chorób sercowo-naczyniowych związanych z zakażeniem HIV i stosowaniem cART [104]. W literaturze brak jest jednak jednoznacznych doniesień na ten temat. Brakuje również odpowiedzi na pytanie, jaki wpływ ma koinfekcja HCV na dysfunkcję śródbłonna oraz zaawansowanie subklinicznej miażdżycy u pacjentów zakażonych HIV.

## 2. Cele pracy

Osoby zakażone HIV wykazują większe zaawansowanie subklinicznej miażdżycy oraz większą zapadalność na choroby sercowo-naczyniowe, co związane jest z samym zakażeniem HIV, indukcją przewlekłego stanu zapalnego oraz następstwami leczenia antyretrowirusowego. Biorąc pod uwagę znaczny odsetek osób zakażonych HIV z koinfekcją HCV i znaczenie współzakażenia w rozwoju zmian narządowych, coraz częściej podejmowany jest temat wpływu koinfekcji HCV na przebieg i zaawansowanie chorób sercowo-naczyniowych. Poznanie choćby w części mechanizmów odpowiedzialnych za zmiany naczyniowe u pacjentów zakażonych HIV/HCV, mogłoby mieć wpływ na ustalenie odpowiedniego leczenia tych zaburzeń.

Celem pracy było:

1. Analiza wpływu współistniejącego zakażenia HCV na funkcję śródbłonna i zaawansowanie subklinicznej miażdżycy u osób żyjących z HIV.
2. Określenie zachowania się zmian miażdżycowych oraz cech dysfunkcji śródbłonna u pacjentów z monoinfekcją HIV.
3. Ocena zachowania się stężenia markerów zapalnych i markerów dysfunkcji śródbłonna (TNF- $\alpha$ , IL-1, VCAM-1, vWF, sTM, TF, TFPI) oraz analiza wpływu tradycyjnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego i czynników związanych z zakażeniem HIV, w tym koinfekcji HCV, na ich stężenie w osoczu.
4. Ocena związków między zaawansowaniem subklinicznych zmian miażdżycowych i stężeniem rozpuszczalnych markerów śródbłonkowych oraz badanych parametrów hemostazy – czynnika tkankowego i jego inhibitora TFPI, u pacjentów zakażonych HIV.
5. Próba przedstawienia praktycznego aspektu przeprowadzonych badań nad dysfunkcją śródbłonna i subkliniczną miażdżycą u pacjentów zakażonych HIV.

## 3. Materiał i metody

### 3.1. Materiał

Badania przeprowadzono w latach 2008 – 2010 w ramach projektu Wrovasc, którego jednym z celów była ocena wpływu czynników ryzyka sercowo-naczyniowego na zaawansowanie i progresję miażdżycy wśród osób zakażonych HIV. Badania rozpoczęto po uzyskaniu zgody lokalnej Komisji Bioetycznej przy Wojewódzkim Szpitalu Specjalistycznym we Wrocławiu, Ośrodku Badawczo-Rozwojowym (zgoda nr KB/nr/14/2014).

Wszyscy pacjenci, którym zaproponowano udział w badaniu (w tym osoby z grupy kontrolnej) uzyskali ustną oraz pisemną informację o badaniu oraz podpisali zgodę na udział w nim. Informacje dotyczące pacjentów (badanie podmiotowe, badanie przedmiotowe, wyniki wykonanych badań) były gromadzone w przygotowanych do tego celu formularzach. Aktualnie znajdują się w archiwum projektu Wrovasc.

Osoby z grupy badanej musiały spełnić następujące kryteria włączenia:

1. Wyrażenie świadomej zgody na udział w badaniu
2. Udokumentowane zakażenie HIV, potwierdzone badaniem reakcji łańcuchowej polimeryzacji (ang. *polymerase chain reaction* – PCR).

Osoby, u których stwierdzono co najmniej jedno spośród poniższych kryteriów wyłączenia nie byli kwalifikowani do udziału w badaniu:

1. Aktualnie rozpoznany AIDS,
2. Ostry stan chorobowy,
3. Stężenie kreatyniny > 2mg%,
4. Ponad 5-krotny wzrost aktywności aminotransferaz,
5. Czynna narkomania.

W trakcie kwalifikacji do badania żaden z pacjentów nie był leczony z powodu zakażenia HCV.

Grupę badaną stanowiło 121 osób zakażonych HIV (41 kobiet i 80 mężczyzn), mieszkańców Dolnego Śląska, leczonych w Poradni Nabytych Niedoborów Odporności we Wrocławiu. Wśród nich było 66 osób z koinfekcją HCV i 55 osób bez koinfekcji HCV. Średnia wieku dla kohorty wynosiła 40 lat (zakres od 34 do 46 lat). Najczęstszą drogą transmisji zakażenia w badanej grupie było stosowanie w przeszłości dożylnie środków odurzających (45,5%). W trakcie badania część pacjentów pozostawała w programie metadonowym. Średni czas trwania zakażenia HIV wynosił 8 lat, a HIV RNA było niewykrywalne u większości pacjentów. Czas udokumentowanego zakażenia HIV był podobny do czasu trwania zakażenia HCV. Z danych z wywiadu chorobowego wynika, że do zakażeń mogło dojść mniej więcej jednocześnie.

Prawie 30% badanych miało w przeszłości rozpoznany epizod AIDS. Stu dziesięciu pacjentów było poddanych terapii antyretrowirusowej, a średni czas leczenia wynosił 5 lat. Czas kumulatywnego leczenia preparatami wszystkich klas leków antyretrowirusowych liczył od 8 do 25 lat, średnio 16,6 lat.

Grupę kontrolną stanowiły 42 zdrowe osoby, żyjące na Dolnym Śląsku, losowo wybrane w dwóch praktykach lekarza rodzinnego (w stolicy regionu i na prowincji), odpowiednio dobrane pod względem wieku i płci, ogólnie sprawne, bez przebytych incydentów sercowo-naczyniowych. U wszystkich osób z grupy kontrolnej wykluczono zakażenie HIV, HBV, HCV. Charakterystykę grupy badanej i kontrolnej przedstawia tabela 3.

Tabela 3. Charakterystyka grupy badanej i grupy kontrolnej

Cecha	Grupa badana n=121	Grupa kontrolna n=42	p-value
Wiek, (lata)*	40 (34 - 46)	44 (31 - 51)	0,44
Płeć (liczba mężczyzn), n (%)	80 (66,1%)	26 (61,9%)	0,62
BMI*	23,07 (21,15 - 25,07)	25,59 (23,89 - 27,44)	0,0001
cIMT, (mm)*	0,66 (0,59 - 0,79)	0,54 (0,46 - 0,62)	0,0001
cIMT meanmax, (mm)*	0,93 (0,84 - 1,13)	0,81 (0,67 - 0,99)	0,0001
Błazka miażdżycowa, n (%)	34 (28,1%)	7 (16,7%)	0,14
Paczko-lata*	14 (4 - 25)	0 (0 - 13)	0,39
Palenie papierosów, n (%)	70 (57,9%)	14 (33,3%)	0,0001
Nadciśnienie tętnicze, n (%)	53 (43,8%)	10 (23,8%)	0,02
Cholesterol całkowity, (mg/dl)*	192 (157 - 222)	208 (186 - 236)	0,01
Cholesterol nie-HDL, (mg/dl)*	133 (104,5 - 166)	149 (119 - 175)	0,07
Cholesterol LDL, (mg/dl)*	104 (81 - 133)	128 (97 - 151)	0,006
Cholesterol HDL, (mg/dl)*	50 (39,75 - 62,5)	58,5 (47 - 71)	0,005
Triglicerydy, (mg/dl)*	131 (90 - 188)	100,5 (68 - 137)	0,01
CRP, (mg/l)*	0,68 (0,19 - 1,51)	0,72 (0,19 - 1,52)	0,96
Glukoza na czczo, mg%*	91 (86 - 96,5)	93,5 (87 - 101)	0,11
Insulina, (uj/ml)*	7,25 (5,2 - 10,4)	7 (4,4 - 10,9)	0,56
HOMA-IR*	1,63 (1,1 - 2,23)	1,48 (0,98 - 2,67)	0,91
Fibrynogen, (g/l)*	2,6 (2,3 - 3,1)	2,9 (2,6 - 3,3)	0,01
D-dimery, (ng/ml)*	216,55 (169 - 319)	245,7 (170 - 349)	0,78
Dodatni wywiad rodzinny, n (%)	39 (32,2%)	5 (11,9%)	0,01
Ryzyko sercowo-naczyniowe NCEP ATP III*	2 (1 - 6)	2 (0,99 - 5)	0,38
TNF- α, [pg/ml]*	21,8 (19,63 - 23,83)	21,85 (18,4 - 28,4)	0,99
VCAM-1, [ng/ml]*	1397,46 (1105,95 - 1968,03)	891,745 (752,38 - 1058,46)	0,0001
IL-1B, [pg/ml]*	5,8 (5,1 - 7,9)	6,8 (5,5 - 9,7)	0,015
sTM, [ng/ml]*	3,6 (3 - 4,275)	3,6 (3,1 - 4)	0,5
vWF, [U/dl]*	151,8 (107,4 - 221,7)	114,8 (87 - 154,8)	0,004
TF, (pg/ml)*	245 (160,5 - 353,15)	218,35 (160 - 292)	0,35
TFPI, (ng/ml)*	58,6 (47 - 70,08)	49 (42,1 - 55,7)	0,0001

\* - mediana (IQR), n (%) – liczba bezwzględna (odsetek), pozostałe dane - średnia arytmetyczna

Osoby zakażone HIV (grupa badana) rozpoczęły udział w badaniu ze znanym statusem klinicznym, immunologicznym i wirusologicznym. Pacjenci byli wstępnie kwalifikowani do badań przez lekarzy Poradni i kierowani do Pracowni Nieinwazyjnych Badań Naczyniowych Oddziału Angiologicznego Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego, Ośrodka Badawczo-Rozwojowego. Charakterystykę wirusologiczną i immunologiczną grupy badanej przedstawia tabela 4.

Tabela 4. Charakterystyka wirusologiczna i immunologiczna pacjentów grupy badanej. Dane dotyczące leczenia antyretrowirusowego.

<b>Zakażenie</b>	<b>Wynik</b>
<b>Droga zakażenia HTX/IDU/MSM</b>	32 (26,4%)/55 (45,5%)/34 (28,1%)
<b>Czas trwania zakażenia HIV, (lata)*</b>	8 (4 - 13,5)
<b>AIDS, n (%)</b>	33 (27,3%)
<b>Zakażenie HCV, n (%)</b>	66 (54,5%)
<b>Przebyte zakażenie HBV, n (%)</b>	28 (23,1%)
<b>Limfocyty T CD4+, (liczba kom/μl)*</b>	503 (397,75 - 688,5)
<b>Limfocyty TCD4+ nadir, (liczba kom/μm)*</b>	213 (74 - 314)
<b>HIV RNA w chwili badania, (liczba kopii/ml)*</b>	40 (40 - 50)
<b>HIV RNA poniżej progu czułości metody, n (%)</b>	96 (81,4%)
<b>HIV RNA zenit, (liczba kopii/ml)*</b>	10344 (0 - 100750)
<b>Leczenie ARV</b>	
<b>Leczenie ARV, n (%)</b>	110
<b>Czas leczenia ARV, (lata)*</b>	5 (2 - 9)
<b>Kumulatywne leczenie NRTI w latach*</b>	8,785 (4,03 - 13,98)
<b>Kumulatywne leczenie NNRTI w latach*</b>	0 (0 - 2)
<b>Kumulatywne leczenie PI w latach*</b>	3,79 (0,71 - 7,37)
<b>Kumulatywne leczenie ARV w latach*</b>	16,61 (8,13 - 24,97)

\* - mediana (IQR), n (%) – liczba bezwzględna (odsetek), pozostałe dane - średnia arytmetyczna

Na potrzeby niniejszej pracy wśród osób zakwalifikowanych do badania wyodrębniono dwie podgrupy:

1. Pacjenci zakażeni HIV z koinfekcją HCV – HIV(+)/ HCV(+)
2. Pacjenci zakażeni HIV bez koinfekcji HCV – HIV(+)/ HCV(-)

Podziału kohorty na 2 podgrupy dokonano celem oceny wpływu koinfekcji HCV na dysfunkcję śródbłonka i zaawansowanie subklinicznej miażdżycy.



## 3.2. Metody badania:

Protokół badania obejmował:

### 1. Uzyskanie świadomej zgody badanego

### 2. Wywiad z pacjentem (z uwzględnieniem danych pochodzących z dokumentacji medycznej), obejmujące następujące dane:

- tradycyjne i wybrane nietradycyjne czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych – ocena ryzyka oparta była o kryteria NCEP ATP III z zastosowaniem kalkulatora (wytyczne NCEP ATP III) [76]. Do analizy wzięto pod uwagę wiek, płeć, wywiad rodzinny dotyczący występowania CVD, nadciśnienie tętnicze, cukrzycę, palenie tytoniu i paczko-lata (pack-years).

Wskaźnik paczko-lata odzwierciedla intensywność dotychczasowego palenia tzw. *lifetime smoking* (liczba papierosów wypalanych dziennie x czas trwania palenia w latach/ 20) [120].

W badaniach statystycznych przyjęto zmienne katgoryczne: pali TAK/NIE oraz zmienne ilościowe wyrażone wartością pack-years.

- wywiad w kierunku chorób sercowo-naczyniowych: incydentów mózgowych, sercowych, chromania przestankowego.
- leczenie antyretrowirusowe: oceniano kumulatywne leczenie ARV dla poszczególnych klas leków: nukleotydowego lub nukleozydowych inhibitorów odwrotnej transkryptazy (NRT(d)I), nienukleozydowych inhibitorów odwrotnej transkryptazy (NNRTI), inhibitorów proteazy (PI);

**Metoda obliczenia kumulatywnego leczenia antyretrowirusowego:** dla danej klasy leków wg wzoru (na przykładzie leków z grupy NRTI): liczba lat stosowania NRTI1 + liczba lat stosowania NRTI2 + liczba lat stosowania NRTI3 + liczba lat stosowania kolejnych NRTI ...itd. Zarówno w odniesieniu do terapii sekwencyjnej, jak i jednoczesnego stosowania leków, dodawano czas trwania leczenia w latach dla poszczególnych leków. Natomiast skumulowane leczenie antyretrowirusowe obliczano dodając lata leczenia kumulatywnego wszystkich klas leków.

Przy ocenie wpływu leczenia antyretrowirusowego na stężenie badanych markerów dysfunkcji śródbłonna i hemostazy, brano pod uwagę tylko pacjentów leczonych ARV – 110 osób.

- dane dotyczące zakażenia HIV:
  - droga zakażenia HIV – IDU, HET, MSM
  - czas od udokumentowanego rozpoznania zakażenia
  - aktualna liczby limfocytów T CD4+, limfocytów T CD4+ nadir, poziom HIV RNA i HIV RNA zenit.

### **3. Badanie przedmiotowe:**

W badaniu przedmiotowym zwracano uwagę na następujące parametry:

- masa ciała, wzrost, ocena wskaźnika masy ciała BMI (ang. *body mass index*)
- standardowy pomiar ciśnienia tętniczego krwi – dwukrotnie na siedząco, po 5 minutowym odpoczynku
- 12-odprowadzeniowe badanie EKG wykonywane w spoczynku przeprowadzone przy użyciu elektrokardiografu M-TRACE firmy Merlin Medical
- fizykalne badanie angiologiczne w celu oceny ukrwienia kończyn

### **4. Badanie ultrasonograficzne tętnic szyjnych z oceną zaawansowania subklinicznej miażdżycy**

- badanie ultrasonograficzne tętnic szyjnych wykonano w prezentacji B za pomocą aparatu USG wysokiej rozdzielczości – LOGIQ 7 firmy GE, z użyciem szerokopasmowej sondy liniowej o częstotliwości 6-12 MHz, w 5-krotnym powiększeniu. Uzyskiwano 4 serie obrazów dla każdego pacjenta: dla tętnic szyjnych wspólnych oraz dla opuszki po obu stronach, w 3 projekcjach dla każdej serii – przedniej, bocznej i tylnej. Obrazy ściany dalszej dystalnego odcinka tętnic szyjnych wspólnych oraz opuszek, rejestrowane były równoległe do powierzchni sondy, przy najmniejszej średnicy tętnicy i zapisywane w pamięci HD aparatu, a następnie na dysku DVD.
- u wszystkich pacjentów przeprowadzono badanie metodą Duplex Doppler tętnic dogłównych w celu wykrycia ewentualnych zwężeń, przyjmując diagnostyczne kryteria NASCET (ang. *North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial*) [121] i hemodynamiczne kryteria wg Blutha [122].
- parametrami subklinicznej miażdżycy ocenianymi w pracy były:
  - grubość kompleksu błona wewnętrzna – błona środkowa tętnic szyjnych cIMT
  - obecność blaszek miażdżycowych

Pomiar cIMT wykonywano w zakresie ściany dalszej dystalnego odcinka tętnic szyjnych wspólnych i opuszek, na długości 1 cm – wyznaczano 10 punktów pomiarowych dla każdej projekcji (ryc.3), sumarycznie - 120 punktów dla jednego pacjenta. Wyliczano średnią wartość ze wszystkich 120 pomiarów, czyli średnią cIMT i średnią z maksymalnych pomiarów ze wszystkich projekcji, tzw. cIMTmeanmax.

Za blaszkę miażdżycową uznano miejscowe pogrubienie cIMT powyżej 1,5 mm [82].

## **5. Badania laboratoryjne:**

Od wszystkich pacjentów pobierano krew jałowo, najczęściej po nakłuciu żyły w dole łokciowym. Pacjenci byli proszeni o zgłoszenie się rano na czczo, po 14 godzinnej przerwie spożywania posiłków i picia płynów. Oznaczenia wykonywano z krwi pełnej, surowicy lub osocza krwi.

Krew do badań stężenia markerów śródbłonkowych i hemostazy pobierano do probówek typu Monovette, zawierających cytrynian sodu. Monowety z krwią wirowano przez 15 minut w temperaturze +4°C, przy 2000 x g. Do probówek typu Eppendorf odmierzano po 200 µl osocza. Tak przygotowane próbki bankowano w temperaturze -70°C.

Badania przeprowadzono w następujących laboratoriach:

1. Dolnośląskie Centrum Diagnostyki Laboratoryjnej, Wrocław, ul. Kamińskiego 73a, kierownik: mgr Beata Gorzowska, dane teleadresowe: laboratorium@dcdl.pl
2. Laboratorium Naukowe Ośrodka Badawczo-Rozwojowego Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego we Wrocławiu, kierownik: dr n. biol. Joanna Dubis
3. Pracownia Badań Molekularnych, Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych, Chorób Wątroby i Nabytych Niedoborów Odpornościowych Uniwersytet Medyczny, Wrocław, ul. Pasteura 1, kierownik: dr n. biol. Małgorzata Zalewska, tel. 71 784 17 84

## **Badane parametry laboratoryjne:**

### **1. Parametry związane z czynnikami ryzyka chorób sercowo-naczyniowych**

(podano wg kolejności: nazwa, skrót, metoda, analizator, jednostka pomiaru):

- a. Cholesterol całkowity – TC – met.enzymatyczna, ADVIA 1200, mg/dl
- b. Cholesterol LDL – LDL C – obliczano wg reguły Friedewalda, mg/dl
- c. Cholesterol HDL – HDL C – met. eliminacji z katalazą, ADVIA 1200, mg/dl
- d. Triglicerydy – TG – GPO, reakcja Trindera, ADVIA 1200, mg/dl
- e. Cholesterol nie-HDL – nie-HDL C – obliczano na podstawie wzoru:  
TC – HDL, mg/dl
- f. Glukoza – metoda heksokinazowa, odczynnik heksokinaza/G-6-PDH, Architekt firmy Abbott, mg/dl
- g. Insulina – met. immunochemiczna z użyciem metody chemoluminescencji, Architekt firmy Abbott, IU/ml
- h. Wskaźnik oceny modelu homeostazy oporności na insulinę HOMA-IR – obliczano wg wzoru, opisanego przez Wallace i wsp.
- i. Kreatynina – met. Jaffe’go, z kwasem pikrynowym w środowisku zasadowym, ADVIA 1200, mg%
- j. Białko wrCRP (ang. *wide range C reactive protein*) – met. lateksowa wzmocniona immunoturbidymetrycznie, ADVIA 1200, mg/l
- k. Aktywność aminotransferaz w surowicy krwi oznaczano metodą kinetyczną NADH, Abbott, IU/l
- l. Fibrynogen – metoda koagulometryczna, zmodyfikowana Claussa, BCS XP firmy Siemens, g/l
- m. D-dimery – metoda immunoturbidymetryczna BCS XP Siemens, ng/ml

### **2. Parametry związane z zakażeniem HIV, HCV, HBV**

- a. Limfocyty T CD4+ – metoda cytometrii przepływowej FACScan (Becton-Dickinson), jednostka kom/ $\mu$ l
- b. Przeciwciała anti-HIV – metoda immunochemiczna z użyciem mikrocząstek i znacznika chemiluminescencyjnego, przy użyciu analizatora AXSYM
- c. Przeciwciała anti-HCV – metoda immunochemiczna z użyciem mikrocząstek i znacznika chemiluminescencyjnego, przy użyciu analizatora CENTAUR

- d. Przeciwciała anty-HBc, anty-HBs, antygen HBs – metoda immunochemiczna z użyciem mikrocząstek i znacznika chemiluminescencyjnego, przy użyciu analizatora AXSYM
- e. HIV RNA – oznaczano ilościowo metodą reakcji łańcuchowej polimeryzacji (PCR) z użyciem testu Cobas Amplicor 1.0 standard assay firmy Roche - próg detekcji 40 kopii/ml, analizator Cobas Amplicor
- f. HCV RNA – oznaczano ilościowo metodą reakcji łańcuchowej polimeryzacji (PCR) z użyciem testu Cobas TaqMan HCV Test v.2.0, do wykorzystania z systemem High Pure System, firmy Roche, analizator Cobas TaqMan

### 3. Markery dysfunkcji śródbłonka i hemostazy:

- a. TNF- $\alpha$  – metoda immunoenzymatyczna (ELISA) w osoczu krwi przy użyciu zestawu odczynników Human TNFalfa ELISA kit firmy Diaclone, jednostka pg/ml
- b. IL-1 $\beta$  – metoda immunoenzymatyczna (ELISA), w osoczu krwi przy użyciu zestawu odczynników Human IL-1 $\beta$  ELISA kit firmy Diaclone, jednostka pg/ml
- c. VCAM-1 - metoda immunoenzymatyczna (ELISA), w osoczu krwi przy użyciu zestawu odczynników Human IL-1 $\beta$  ELISA kit firmy Diaclone, jednostka ng/ml
- d. vWF - metoda immunoenzymatyczna (ELISA) w osoczu krwi cytrynianowej przy użyciu zestawu odczynników o nazwie handlowej The IMUBIND<sup>®</sup> vWF ELISA kit firmy American Diagnostica, jednostka U/ml; w teście wykrywany był obecny w osoczu antygen vWF
- e. TM - metodą immunoenzymatyczna (ELISA) w osoczu krwi cytrynianowej przy użyciu zestawu odczynników o nazwie handlowej The IMUBIND<sup>®</sup> Thrombomodulin ELISA kit firmy American Diagnostica, jednostka pg/ml; w teście wykrywana była pełnołańcuchowa TM oraz formy „truncated” TM, pozostające w kompleksie trombomodulina/trombina
- f. TF - metoda immunoenzymatyczna (ELISA) w osoczu krwi cytrynianowej przy użyciu zestawu odczynników o nazwie handlowej The IMUBIND<sup>®</sup> Tissue Factor ELISA kit firmy American Diagnostica, jednostka pg/ml; w teście wykrywany był TF, TF-apo oraz kompleks TF/VII
- g. TFPI - metoda immunoenzymatyczna (ELISA) w osoczu krwi cytrynianowej przy użyciu zestawu odczynników o nazwie handlowej The IMUBIND<sup>®</sup> Total

TFPI ELISA kit firmy American Diagnostica, jednostka ng/ml; w teście wykrywany był pełnołańcuchowy TFPI oraz formy „truncated” TFPI, pozostające w połączeniu z TF lub czynnikiem VII

## **6. Analizy statystyczne**

1. Test D'agostino-Pearsona - badanie normalności danych
2. Testy nieparametryczne celem oceny z powodu braku normalności danych
3. Mediana, przedział kwartyłowy, liczebności (cechy jakościowe) i procenty
4. Test Manna-Whitney'a celem analizy różnic pomiędzy dwiema cechami ilościowymi
5. Test Kruskalla-Wallisa z analizą post-hoc w postaci wielokrotnych powtórzeń z poprawką Holma celem analizy różnic pomiędzy wieloma cechami ilościowymi
6. Test  $\chi^2$  (chi kwadrat) lub dokładny test Fishera (w przypadku małej liczebności podgrup) celem analizy związku pomiędzy dwiema cechami jakościowymi
7. Współczynnik korelacji Spearmana celem analizy korelacji pomiędzy cechami jakościowymi
8. Analiza regresji liniowej celem zbadania wpływu zmiennych na cechy miażdżycy, poziom cytokin, molekuł adhezyjnych, markerów śródbłonkowych
9. Wieloczynnikowa analiza regresji celem oceny niezależnego wpływu zmiennych na cIMT oraz IMT meanmax
10. Wieloczynnikowa analiza regresji logistycznej celem analizy niezależnego wpływu zmiennych na ryzyko wystąpienia blaszki

Za poziom istotności przyjęto  $p < 0,05$ . Analiza została wykonana w programie R for windows (wersja 3.1.2)

## 4. Wyniki badań i ich omówienie

W rozkładzie płci i wieku nie wykazano istotnych statystycznie różnic w grupie badanej i grupie kontrolnej. U osób zakażonych HIV częściej występowały tradycyjne czynniki ryzyka, takie jak palenie tytoniu, nadciśnienie tętnicze oraz dodatni wywiad rodzinny w kierunku CVD. W grupie badanej stwierdzono niższe wartości BMI oraz znaczące różnice w wartości stężeń lipidów we krwi – niższe stężenia cholesterolu całkowitego, frakcji LDL i HDL, oraz wyższe stężenia triglicerydów. Również w tej grupie obserwowano niższe stężenia fibrynogenu.

W badanej kohorcie wykazano także większe zaawansowanie subklinicznej miażdżycy i wyższe wartości cIMT i cIMTmeanmax.

U osób zakażonych HIV prawie dwukrotnie częściej występowała blaszka miażdżycowa niż u osób z grupy kontrolnej (31,8% vs. 16,7%). Nie jest to jednak wynik statystycznie istotny ( $p=0,062$ ).

Wśród markerów dysfunkcji śródbłonna i hemostazy istotną statystycznie różnicę pomiędzy grupą badaną i kontrolną wykazano dla VCAM-1, IL-1 $\beta$ , vWF oraz TFPI. Stężenie VCAM-1, vWF oraz TFPI było istotnie wyższe u osób zakażonych HIV, natomiast stężenie IL-1 $\beta$  było wyższe w grupie kontrolnej. Poziomy TNF- $\alpha$ , sTM oraz TF nie różniły się znacząco w obu grupach.

Badaną kohortę osób zakażonych HIV podzielono na dwie podgrupy względem występowania koinfekcji HCV, celem wykazania wpływu zakażenia HCV na dysfunkcję śródbłonna i rozwój subklinicznej miażdżycy. Grupa z koinfekcją HCV liczyła 66 osób, natomiast grupa bez koinfekcji HCV 55 osób. Charakterystykę kliniczną i laboratoryjną obu podgrup przedstawia tabela 5.

Pomiędzy badanymi podgrupami nie wykazano statystycznie istotnych różnic pod względem wieku i rozkładu płci. Porównując tradycyjne czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych zaobserwowano częstsze występowanie nałogu palenia tytoniu w podgrupie osób zakażonych HCV, natomiast nadciśnienie tętnicze oraz dodatni wywiad rodzinny w kierunku chorób sercowo-naczyniowych częściej występował wśród osób z monoinfekcją HIV. Jednocześnie zwraca uwagę brak różnicy w wartości natężenia palenia, ocenianym jako paczko-lata, w obu podgrupach. W podgrupie pacjentów z koinfekcją HCV zaobserwowano znamienne niższe wartości stężeń lipidów we krwi: cholesterolu całkowitego, cholesterolu

nie-HDL oraz frakcji cholesterolu LDL. Podgrupa ta wykazywała również niższe ryzyko CVD oceniane wg kryteriów NCEP-ATP III ( $p=0,037$ ). Nie stwierdzono istotnych różnic w nasileniu subklinicznych zmian miażdżycowych, wyrażonych za pomocą cIMT, cIMTmeanmax oraz obecności blaszki miażdżycowej w obu podgrupach.

Wśród osób zakażonych HIV z koinfekcją HCV stwierdzono istotnie wyższe stężenie VCAM-1, sTM i vWF w porównaniu do osób z monoinfekcją HIV. Nie wykazano natomiast różnic pomiędzy stężeniami TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TF oraz TFPI w obu podgrupach.

Tabela 5. Charakterystyka kliniczna i laboratoryjna pacjentów z podgrup z koinfekcją i bez koinfekcji HCV

Cecha	HIV(+)/HCV(-) n=55	HIV(+)/HCV(+) n=66	p-value
Wiek, (lata)*	41 (35,25 - 48,5)	39 (34 - 45)	0,15
Płeć (liczba mężczyzn), n (%)	38 (69,1%)	42 (63,6%)	0,53
BMI*	23,389 (21,56 - 25,02)	22,64 (20,96 - 25,18)	0,61
cIMT, (mm)*	0,693 (0,6 - 0,83)	0,65 (0,57 - 0,77)	0,17
IMT meanmax, (mm)*	0,921 (0,84 - 1,14)	0,93 (0,86 - 1,13)	0,88
Paczko-lata*	6,75 (0 - 24)	17 (8,5 - 25,5)	0,35
Blaszka miażdżycowa, n (%)	19 (34,5%)	15 (22,7%)	0,15
Nadciśnienie tętnicze, n (%)	30 (54,5%)	23 (34,8%)	0,03
Cholesterol całkowity, (mg/dl)*	210 (167 - 233,75)	179 (152 - 209)	0,003
Cholesterol nie-HDL, (mg/dl)*	160 (117,25 - 182,5)	121 (99 - 147)	0,0001
Cholesterol LDL, (mg/dl)*	118,5 (89 - 148)	96 (73,5 - 113)	0,001
Cholesterol HDL, (mg/dl)*	49 (39,25 - 57,25)	51,5 (40 - 67)	0,38
Triglicerydy, (mg/dl)*	148 (97,5 - 194,5)	118 (80 - 170)	0,05
CRP, (mg/l)*	0,68 (0,15 - 1,41)	0,65 (0,2 - 1,62)	0,74
Glukoza na czczo, mg%*	91 (85,25 - 98)	91 (86,750 - 95)	0,74
Insulina, (uj/ml)*	6,9 (5,2 - 10,15)	7,3 (5,225 - 10,375)	0,59
HOMA-IR*	1,6 (1,1 - 2,22)	1,69 (1,115 - 2,367)	0,65
Fibrynogen, (g/l)*	2,6 (2,36 - 3,1)	2,6 (2,268 - 3,125)	0,79
D-dimery, (ng/ml)*	239,75 (169 - 319)	213,75 (169 - 322)	0,98
Dodatni wywiad rodzinny, n (%)	21 (38,2%)	18 (27,3%)	0,2
Ryzyko sercowo-naczyniowe NCEP ATP III*	2 (1 - 9,5)	2 (1 - 4,25)	0,037
ALAT, (j.m./l)*	24 (19 - 31)	44 (30 - 73)	0,0001
ASPAT, (j.m./l)*	22 (19 - 27,25)	36 (29 - 56)	0,0001
TNF- $\alpha$ , (pg/ml)*	20,8 (19,25 - 22,73)	22,15 (20,35 - 26,1)	0,06
VCAM-1, (pg/ml)*	1272,63 (1053,93 - 1606,29)	1666,52 (1185,22 - 2326,51)	0,002
IL-1 $\beta$ , (pg/ml)*	5,8 (5,1 - 7,2)	5,8 (4,88 - 7,9)	0,86
sTM, (ng/ml)*	3,3 (2,93 - 3,975)	3,8 (3,15 - 4,9)	0,004
vWF, (U/dl)*	129,6 (95,93 - 166,95)	171,3 (118,3 - 243)	0,01
TF, (pg/ml)*	228 (168,43 - 400)	248,5 (151,7 - 316)	0,56
TFPI, (ng/ml)*	59,3 (50,88 - 74,53)	56,5 (45,6 - 69,3)	0,15

\* - mediana (IQR), n (%) – liczba bezwzględna (odsetek), pozostałe dane - średnia arytmetyczna



W podgrupie osób z koinfekcją HCV stwierdzono znamienne dłuższy czas trwania udokumentowanego zakażenia HIV niż w grupie bez koinfekcji (11 lat vs. 5 lat,  $p=0,0001$ ). W tej podgrupie wykazano również dłuższy ogólny czas stosowania terapii antyretrowirusowej, jednak nie wykazano istotnej statystycznie różnicy w kumulatywnym czasie leczenia antyretrowirusowego dla obu podgrup. Dominującą drogą transmisji zakażenia HIV wśród pacjentów z koinfekcją HIV/HCV było dożylnie stosowanie środków odurzających (81,8%), natomiast u osób z monoinfekcją HIV częściej dochodziło do zakażenia wśród MSM (56,4%). Uwagę zwraca obserwacja, że wśród osób bez koinfekcji HCV tylko jedna osoba zakażyła się z powodu stosowania dożylnie środków odurzających (tab. 6).

Tabela 6. Charakterystyka wirusologiczna i immunologiczna w podgrupach HIV(+)/HCV(-) i HIV(+)/HCV(+). Dane dotyczące leczenia antyretrowirusowego.

Zakażenie	HIV(+)/HCV(-)	HIV(+)/HCV+	p-value
Droga zakażenia HTX/IDU/MSM	23 (41,8%)/1 (1,8%)/31 (56,4%)	9 (13,6%)/54 (81,8%)/3 (4,5%)	0,0001
Czas trwania zakażenia HIV, (lata)*	5 (2,03 - 9,75)	11 (7 - 17)	0,0001
AIDS, n (%)	14 (25,5%)	19 (28,8%)	0,68
Przebyte zakażenie HBV, n(%)	4 (7,3%)	24 (36,4%)	0,0001
Limfocyty T CD4+, (liczba kom/ $\mu$ m)*	503 (403 - 680,25)	527 (358 - 715)	0,95
Limfocyty T CD4+ nadir, (liczba kom/ $\mu$ m)*	202 (48,25 - 292,75)	228 (110 - 351,25)	0,24
HIV RNA w chwili badania, (liczba kopii/ml)*	40 (39 - 50)	40 (40 - 50)	0,54
HIV RNA poniżej progu czułości metody, n (%)	43 (78,1%)	53 (80,3%)	0,85
HIV RNA zenit, (liczba kopii/ml)*	34900 (0 - 151080)	2140 (0 - 57300)	0,086
<b>Leczenie ARV</b>			
Leczenie ARV, n(%)	48 (87,3%)	62 (93,9%)	0,34
Czas leczenia ARV, (lata)*	4 (1,7 - 6,75)	6,5 (3 - 10)	0,026
Kumulatywne leczenie NRTI w latach*	8,05 (3,71 - 12,68)	10,26 (4,26 - 14,35)	0,35
Kumulatywne leczenie NNRTI w latach*	0 (0 - 1,46)	0 (0 - 2,46)	0,97
Kumulatywne leczenie PI w latach*	2,97 (0 - 5,89)	4,765 (1,085 - 8,46)	0,07
Kumulatywne leczenie ARV w latach*	13,135 (6,93 - 22)	17,545 (8,89 - 25,97)	0,24

\* - mediana (IQR), n (%) – liczba bezwzględna (odsetek), pozostałe dane - średnia arytmetyczna

#### **4.1. Ocena wpływu koinfekcji HCV na dysfunkcję śródbłonka i zaawansowanie subklinicznej miażdżycy u osób żyjących z HIV**

Stosując model regresji jednoczynnikowej wykazano, że zakażenie HCV jest czynnikiem zwiększającym stężenie VCAM-1, sTM oraz czynnika von Willebranda w surowicy krwi. Nie wykazano zależności pomiędzy HCV a pozostałymi markerami dysfunkcji śródbłonka.

Analizując wpływ zakażenia HCV na zaawansowanie subklinicznej miażdżycy nie stwierdzono związku pomiędzy HCV a cIMT, cIMTmeanmax i występowaniem blaszki miażdżycowej. Nie wykazano również istotnych statystycznie różnic w zakresie wymienionych zmiennych pomiędzy podgrupami - z koinfekcją HCV i bez koinfekcji HCV, co więcej, zaawansowanie subklinicznej miażdżycy tętnic szyjnych jest podobne u pacjentów z monoinfekcją HIV i z koinfekcją HIV/HCV, obie podgrupy wykazują większe zmiany miażdżycowe w porównaniu z grupą kontrolną osób zdrowych. Grupa kontrolna wykazuje istotnie niższe wartości cIMT i cIMT meanmax w porównaniu do osób z monoinfekcją HIV (odp.  $p=0,0003$  i  $p=0,0021$ ) i koinfekcją HIV/HCV (odp.  $p=0,0003$  i  $p=0,0006$ ). Nie wykazano różnic w występowaniu blaszki miażdżycowej pomiędzy grupą kontrolną, podgrupą z monoinfekcją HIV i podgrupą z koinfekcją HIV/HCV ( $p=0,11$ , test chi-kwadrat).

W regresji wieloczynnikowej przeprowadzonej dla całej kohorty nie stwierdzono wpływu zakażenia HCV na żaden z badanych parametrów miażdżycy, a czynnikami ryzyka o niezależnym wpływie na wartości cIMT były wiek, stężenie cholesterolu nie-HDL, nasilenie palenia papierosów (paczko-lata) oraz kumulatywne leczenie ARV (tab.7).

Po wyeliminowaniu kumulatywnego leczenia wszystkimi lekami antyretrowirusowymi i uwzględnieniu w kolejnym modelu kumulatywnego leczenia NRTI i kumulatywnego leczenia PI wykazano wpływ wieku, cholesterolu nie-HDL i nasilenia palenia na cIMT (tab.8).

Tabela 7. Wpływ czynników ryzyka na wartość cIMT z uwzględnieniem wpływu zakażenia HCV i kumulatywnego leczenia antyretrowirusowego. Regresja wieloczynnikowa.

Zmienne	b	SE	P
<b>Pełny model</b>			
Zakażenie HCV	-0,02	0,03	0,46
Wiek	0,01	0,001	<0,0001
Płeć męska	0,01	0,03	0,72
Dodatni wywiad rodzinny	-0,008	0,03	0,77
BMI	-0,001	0,004	0,78
Nadciśnienie tętnicze	-0,01	0,03	0,68
Cholesterol nie-HDL	0,0007	0,0003	0,03
Paczko-lata	0,002	0,0009	0,04
HOMA-IR	-0,001	0,007	0,86
Kumulatywne leczenie ARV	0,003	0,001	0,03
<b>Stepwise</b>			
Wiek	0,01	0,001	<0,0001
Cholesterol nie-HDL	0,0007	0,0003	0,01
Paczko-lata	0,002	0,0008	0,03
Kumulatywne leczenie ARV	0,003	0,001	0,03

Tabela 8. Wpływ czynników ryzyka na wartość cIMT z uwzględnieniem wpływu zakażenia HCV i kumulatywnego leczenia antyretrowirusowego poszczególnymi klasami leków w badanej grupie. Regresja wieloczynnikowa.

Zmienne	b	SE	P
<b>Pełny model</b>			
Zakażenie HCV	-0,02	0,03	0,45
Wiek	0,01	0,002	<0,0001
Płeć męska	0,01	0,03	0,69
Dodatni wywiad rodzinny	-0,008	0,03	0,76
BMI	-0,0009	0,004	0,81
Nadciśnienie tętnicze	-0,009	0,03	0,74
Cholesterol nie-HDL	0,0006	0,0003	0,04
Paczko-lata	0,002	0,0009	0,04
HOMA-IR	-0,0007	0,007	0,92
Kumulatywne leczenie NRTI	0,002	0,002	0,40
Kumulatywne leczenie PI	0,0048	0,003	0,14
<b>Stepwise</b>			
Wiek	0,01	0,001	<0,0001
Cholesterol nie-HDL	0,0006	0,0003	0,03
Paczko-lata	0,002	0,0008	0,04

W dalszych analizach regresji wieloczynnikowej, po usunięciu stężenia cholesterolu nie-HDL i uwzględnieniu cholesterolu HDL, wykazano niezależny wpływ wieku i nasilenia palenia papierosów na wartości cIMT (tab.9).

Tabela 9. Wpływ czynników ryzyka na wartość cIMT z uwzględnieniem wpływu zakażenia HCV, stężenia cholesterolu HDL i kumulatywnego leczenia antyretrowirusowego. Regresja wieloczynnikowa.

Zmienne	b	SE	P
<b>Pełny model</b>			
Zakażenie HCV	-0,03	0,03	0,21
Wiek	0,01	0,002	<0,0001
Płeć męska	-0,0004	0,03	0,99
Dodatni wywiad rodzinny	-0,006	0,03	0,82
BMI	0,0001	0,004	0,97
Nadciśnienie tętnicze	-0,006	0,03	0,85
Cholesterol HDL	-0,0004	0,0006	0,47
Paczko-lata	0,002	0,0009	0,02
HOMA- IR	-0,003	0,007	0,65
Kumulatywne leczenie ARV	0,003	0,001	0,033
<b>Stepwise</b>			
Wiek	0,01	0,001	<0,0001
Paczko-lata	0,002	0,0008	0,029

Analiza regresji wieloczynnikowej nie wykazała wpływu zakażenia HCV ani pozostałych badanych czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych na cIMTmeanmax. W takim samym modelu regresji wieloczynnikowej dla blaszki miażdżycowej wykazano, że jedynie wiek wpływa na obecność blaszki (tab.10 i 11).

Tabela 10. Wpływ czynników ryzyka na wystąpienie blaszki miażdżycowej z uwzględnieniem wpływu zakażenia HCV, cholesterolu nie-HDL i kumulatywnego leczenia antyretrowirusowego w badanej kohorcie. Regresja wieloczynnikowa.

Zmienne	OR	95% CI	P
Zakażenie HCV	0,88	0,28 - 2,76	0,83
Wiek	1,14	1,06 - 1,23	0,0005
Płeć męska	0,45	0,14 - 1,52	0,20
Dodatni wywiad rodzinny	1,07	0,34 - 3,38	0,91
BMI	0,94	0,79 - 1,12	0,47
Nadciśnienie tętnicze	2,69	0,82 - 8,87	0,10
Cholesterol nie-HDL	1,00	0,99 - 1,01	0,75
Paczko-lata	1,02	0,97 - 1,06	0,23
HOMA-IR	0,81	0,52 - 1,25	0,33
Kumulatywne leczenie ARV	1,01	0,95 - 1,06	0,80
<b>Stepwise</b>			
Wiek	1.15	1,08 - 1,23	<0,0001

Tabela 11. Wpływ czynników ryzyka na wartość cIMT z uwzględnieniem wpływu zakażenia HCV, cholesterolu HDL i kumulatywnego leczenia antyretrowirusowego w kohorcie. Regresja wieloczynnikowa

Zmienne	OR	95% CI	P
Zakażenie HCV	1,00	0,32 - 3,15	0,99
Wiek	1,16	1,07 - 1,26	0,0002
Płeć męska	0,27	0,06 - 1,08	0,06
Dodatni wywiad rodzinny	1,19	0,36 - 3,99	0,78
BMI	0,91	0,76 - 1,09	0,31
Nadciśnienie tętnicze	3,86	1,07 - 13,93	0,04
Cholesterol HDL	0,97	0,94 - 1,00	0,06
Paczkolata	1,02	0,99 - 1,06	0,22
HOMA IR	0,69	0,39 - 1,20	0,19
Kumulatywne leczenie ARV	1,02	0,96 - 1,07	0,56
<b>Stepwise</b>			
Wiek	1,15	1,07 - 1,23	<0,0001

W końcowym modelu regresji wieloczynnikowej jako zmienne przyjęto czynniki istotnie wpływające na parametry subklinicznej miażdżycy: wiek, nasilenie palenia papierosów (paczkolata), stężenie cholesterolu nie-HDL, kumulatywne leczenie ARV oraz TF, jako jedyne istotnego markera uszkodzenia śródbłona (co wynika z modelu regresji wieloczynnikowej, przedstawionego w rozdziale 4.3). W tak skonstruowanym modelu czynnik tkankowy stracił wpływ na cIMT na rzecz tradycyjnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego i leczenia ARV. Stwierdzono łączny niezależny wpływ wieku, nasilenia palenia papierosów i kumulatywnego leczenia ARV na wartość cIMT (tab.12). Wpływ na obecność blaszki miażdżycowej miał tylko wiek pacjentów (tab.13).

Tabela 12. Wpływ wybranych czynników ryzyka na wartości cIMT w grupie badanej. Regresja wieloczynnikowa.

Zmienne	b	SE	P
<b>Pełny model</b>			
Wiek	0,01	0,001	<0,0001
TF	0,00005	0,00006	0,38
Paczkolata	0,001	0,0007	0,10
Cholesterol nie-HDL	0,0007	0,0003	0,01
Kumulatywne leczenie ARV	0,002	0,001	0,04
<b>Stepwise</b>			
Wiek	0,01	0,001	<0,0001
Cholesterol nie-HDL	0,0007	0,0003	0,01
Kumulatywne leczenie ARV	0,002	0,001	0,02

Tabela 13. Wpływ wybranych czynników ryzyka na występowanie blaszki miażdżycowej w grupie badanej. Regresja logistyczna.

Zmienne	OR	95% CI	P
Wiek	1,15	1,06 - 1,21	0,0002
TF	1,00	0,99 - 1,00	0,55
Paczko-lata	1,01	0,98 - 1,04	0,48
Cholesterol nie-HDL	1,01	0,99 - 1,02	0,36
Kumulatywne leczenie ARV	1,02	0,98 - 1,07	0,32
<b>Stepwise</b>			
Wiek	1,15	1,08 - 1,22	<0,0001

Po wyeliminowaniu kumulatywnego leczenia ARV i uwzględnieniu w kolejnych modelach poszczególnych grup leków antyretrowirusowych, wykazano niezależny wpływ wieku, stężenia cholesterolu nie-HDL oraz kumulatywnego leczenia NRTI na cIMT (tab.14).

Tabela 14. Wpływ wybranych czynników ryzyka, z uwzględnieniem kumulatywnego leczenia NRTI i kumulatywnego leczenia PI, na wartości cIMT w grupie badanej. Regresja wieloczynnikowa.

Zmienne	b	SE	P
<b>Pełny model</b>			
Wiek	0,01	0,001	<0,0001
TF	0,00006	0,00006	0,33
Paczko-lata	0,001	0,0007	0,1
Cholesterol nie-HDL	0,0007	0,0003	0,01
Kumulatywne leczenie NRTI	0,003	0,002	0,08
Kumulatywne leczenie PI	0,0004	0,003	0,90
<b>Stepwise</b>			
Wiek	0,01	0,001	<0,0001
Cholesterol nie-HDL	0,0007	0,0003	0,01
Kumulatywne leczenie NRTI	0,003	0,001	0,03

Również w tym modelu na wystąpienie blaszki miażdżycowej wpływał jedynie wiek badanych osób.

W kolejnym modelu uwzględniającym wpływ wieku, nasilenia palenia papierosów, cholesterolu HDL, leczenia kumulatywnego ARV oraz TF, stwierdzono, że tylko wiek pacjentów niezależnie wpływał zarówno na cIMT, jak i obecność blaszki miażdżycowej (tab. 15 i 16). Obserwacja ta nie zmieniła się po usunięciu antyretrowirusowego leczenia kumulatywnego i uwzględnieniu leczenia kumulatywnego poszczególnych klas leków. Nadal jedynym czynnikiem wykazującym wpływ na cIMT i obecność blaszki był wiek badanych.

Tabela 15. Wpływ wybranych czynników ryzyka, z uwzględnieniem frakcji cholesterolu HDL na wartości cIMT w grupie badanej. Regresja wieloczynnikowa.

Zmienne	b	SE	P
<b>Pełny model</b>			
Wiek	0,01	0,001	<0,0001
TF	0,00004	0,00006	0,52
Paczko-lata	0,001	0,0007	0,09
Cholesterol HDL	-0,0003	0,0005	0,51
Kumulatywne leczenie ARV	0,002	0,001	0,06
<b>Stepwise</b>			
Wiek	0,01	0,001	<0,0001

Tabela 16. Wpływ wybranych czynników ryzyka, z uwzględnieniem frakcji cholesterolu HDL na występowanie blaszki miażdżycowej w grupie badanej. Regresja logistyczna

Zmienne	OR	95% CI	P
Wiek	1,14	1,07 to 1,22	0,0001
TF	1,00	0,99 - 1,00	0,63
Paczko-lata	1,01	0,98 - 1,04	0,42
Cholesterol HDL	0,99	0,97 - 1,01	0,54
Kumulatywne leczenie ARV	1,02	0,98 - 1,07	0,30
<b>Stepwise</b>			
Wiek	1,15	1,08 to 1,22	<0,0001

Nie wykazano wpływu żadnego z badanych tradycyjnych i przyjętych w pracy nietradycyjnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego na wartość cIMT meanmax.

Celem wykazania różnic w znaczeniu tradycyjnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego oraz leczenia antyretrowirusowego w rozwoju subklinicznej miażdżycy pomiędzy podgrupą z koinfekcją HIV/HCV a monoinfekcją HIV, przeprowadzono analizę jednoczynnikową, badając wpływ w/w parametrów na wartości cIMT, cIMT meanmax i ryzyko wystąpienia blaszki miażdżycowej w poszczególnych podgrupach.

Wśród osób z koinfekcją HIV/HCV istotny wpływ na rozwój subklinicznej miażdżycy, wyrażonej parametrem cIMT miał wiek, stężenie cholesterolu nie-HDL, kumulatywne leczenie antyretrowirusowe, w tym kumulatywne leczenie inhibitorami PI i kumulatywne leczenie NRTI. Obserwuje się także tendencję dotyczącą wpływu palenia papierosów.

W podgrupie z monoinfekcją HIV wykazano korelację pomiędzy wiekiem, nasileniem palenia papierosów, kumulatywnym leczeniem antyretrowirusowym, w tym kumulatywnym leczeniem

NRTI a wartością cIMT. W tej grupie wpływ na cIMT wykazywało także nadciśnienie tętnicze, jednak wynik ten był na granicy istotności statystycznej ( $p=0,06$ ) (tab.17).

Tabela 17. Wpływ tradycyjnych czynników ryzyka CVD i leczenia antyretrowirusowego na wartość cIMT w podgrupie HIV(+)/HCV(-) i HIV(+)/HCV(+). Regresja jednoczynnikowa.

Zmienna	HIV(+)/HCV(-)			HIV(+)/HCV(+)		
	b	SE	P-value	b	SE	P-value
Wiek	0,013	0,002	<0,0001	0,01	0,0011	<0,0001
Płeć męska	-0,009	0,06	0,88	0,05	0,03	0,16
Dodatni wywiad rodzinny	0,06	0,05	0,24	-0,03	0,04	0,39
BMI	0,007	0,008	0,33	0,005	0,004	0,23
Nadciśnienie tętnicze	0,098	0,05	0,06	-0,008	0,03	0,81
Cholesterol nie-HDL	0,001	0,0007	0,15	0,001	0,0004	0,004
Cholesterol HDL	0,001	0,001	0,38	-0,0009	0,0007	0,23
Paczko-lata	0,005	0,001	0,0002	0,002	0,001	0,096
HOMA-IR	0,005	0,03	0,87	0,003	0,008	0,76
Kumulatywne leczenie NRTI	0,006	0,003	0,05	0,006	0,002	0,01
Kumulatywne leczenie PI	0,009	0,007	0,25	0,01	0,003	0,005
Kumulatywne leczenie NNRTI	0,01	0,008	0,15	0,0009	0,006	0,88
Kumulatywne leczenie ARV	0,005	0,002	0,02	0,004	0,001	0,0046

W obu podgrupach nie wykazano związku pomiędzy tradycyjnymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego i leczeniem antyretrowirusowym a wartościami cIMT.

Tylko wiek wykazywał istotny wpływ na występowanie blaszki miażdżycowej u osób z koinfekcją HIV/HCV, natomiast w podgrupie z monoinfekcją HIV – wiek, dodatni wywiad rodzinny, nasilenie palenia papierosów oraz kumulatywne leczenie antyretrowirusowe (tab.18).



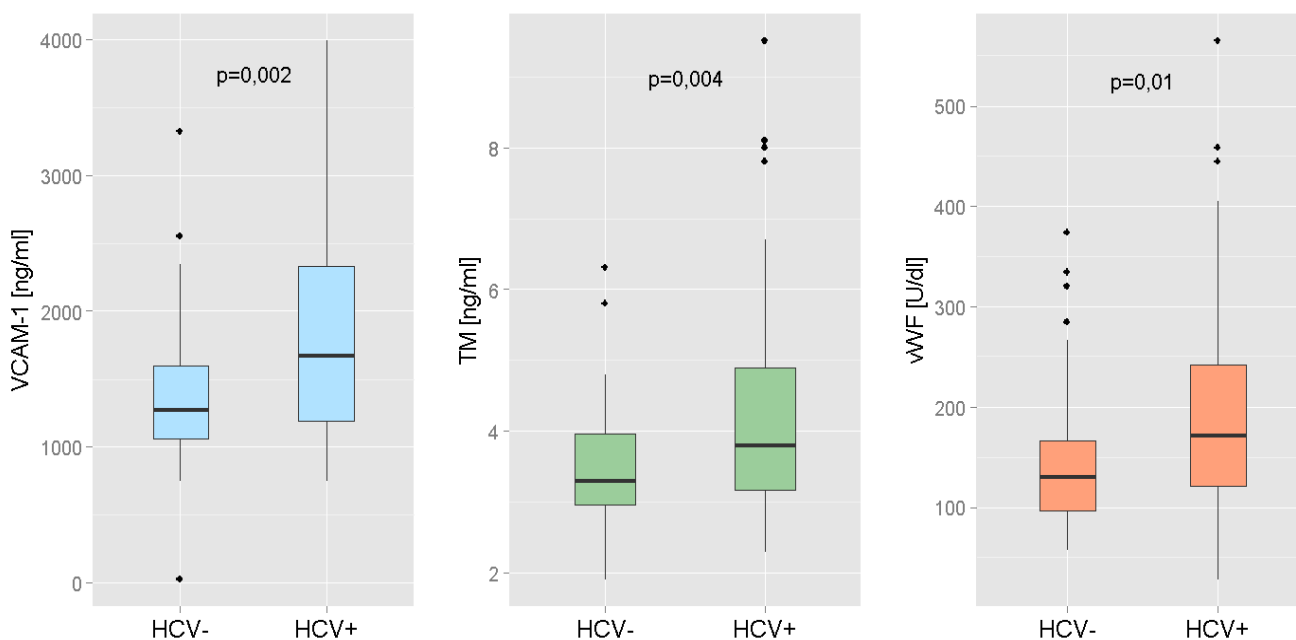
Tabela 18. Wpływ tradycyjnych czynników ryzyka CVD i leczenia antyretrowirusowego na występowanie blaszki miażdżycowej w podgrupie HIV(+)/HCV(+) i HIV(+)/HCV(-). Regresja jednoczynnikowa.

Zmienna	HIV(+)/HCV(-)			HIV(+)/HCV(+)		
	OR	95% CI	P-value	OR	95% CI	P-value
Wiek	1,18	1,07 - 1,29	0,0008	1,12	1,03 - 1,22	0,009
Płeć męska	0,46	0,14 - 1,49	0,19	0,82	0,25 - 2,67	0,74
Dodatni wywiad rodzinny	3,58	1,11 - 11,48	0,03	0,6	0,15 - 2,44	0,47
BMI	1,10	0,93 - 1,30	0,27	0,98	0,84 - 1,14	0,78
Nadciśnienie tętnicze	2,42	0,75 - 7,79	0,14	1,91	0,59 - 6,19	0,28
Cholesterol nie-HDL	1,01	0,99 - 1,02	0,48	1,01	0,99 - 1,02	0,21
Cholesterol HDL	1,01	0,99 - 1,03	0,46	0,99	0,96 - 1,02	0,40
Paczko-lata	1,05	1,01 - 1,09	0,006	1,00	0,96 - 1,05	0,83
HOMA-IR	1,15	0,59 - 2,20	0,68	0,70	0,36 - 1,37	0,30
Kumulatywne leczenie NRTI	1,09	0,99 - 1,19	0,07	1,01	0,93 - 1,09	0,85
Kumulatywne leczenie PI	1,05	0,89 - 1,23	0,53	1,03	0,90 - 1,17	0,67
Kumulatywne leczenie NNRTI	1,17	0,97 - 1,39	0,1	0,98	0,79 - 1,21	0,84
Kumulatywne leczenie ARV	1,06	1,01 - 1,13	0,03	1,01	0,96 - 1,07	0,75

#### 4.2. Ocena zachowania się stężenia markerów uszkodzenia śródbłonna i hemostazy w osoczu krwi oraz wpływu tradycyjnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowych na ich stężenie u osób żyjących HIV z koinfekcją HCV

U osób zakażonych HIV stwierdzono znamienne wyższe stężenia VCAM-1 ( $p < 0,0001$ ), vWF ( $p = 0,004$ ) oraz TFPI ( $p = 0,0001$ ), oraz niższe stężenie IL-1 $\beta$  ( $p = 0,015$ ), w osoczu krwi w porównaniu do grupy kontrolnej. Wykazano istotnie wyższe stężenia VCAM-1 ( $p = 0,002$ ), sTM ( $p = 0,004$ ) oraz vWF ( $p = 0,01$ ) w podgrupie pacjentów z koinfekcją HCV w porównaniu z podgrupą bez współistnienia HCV.

W celu oceny wpływu zakażenia HCV na stężenia poszczególnych markerów w osoczu krwi przeprowadzono analizę w modelu regresji liniowej. Wykazano, że HCV istotnie zwiększa stężenia VCAM-1 ( $p = 0,005$ ), sTM ( $p = 0,001$ ) oraz vWF ( $p = 0,007$ ). Zakażenie HCV wykazywało również dodatni wpływ na poziom TNF- $\alpha$  ( $p = 0,07$ ), jednak korelacja ta była statystycznie nieistotna (Ryc.5).



Rycina 5. Wpływ zakażenia HCV na stężenia VCAM-1, sTM i vWF. Test Manna-Whitney’a.

Przy porównaniu trzech grup – pacjentów z monoinfekcją HIV, z koinfekcją HIV i HCV oraz z grupą kontrolną osób niezakażonych wykazano, że pacjenci z monoinfekcją HIV wykazują podwyższone stężenie VCAM-1 w porównaniu z osobami zdrowymi, nie zakażonymi, natomiast pozostałe markery dysfunkcji śródbłonna - czynnik von Willebranda czy trombomodulina nie różnicują osób z monoinfekcją HIV i osób zdrowych (tab. 19).

Tabela 19. Porównanie stężeń markerów śródbłonkowych między podgrupami z koinfekcją HCV i bez koinfekcji a grupą kontrolną – test Kruskalla-Wallisa i analiza post-hoc

Marker	(1) HIV(+)/HCV(-) n=55	(2) HIV(+)/HCV (+) n=66	(K) Grupa kontrolna n= 42	p-value	Post hoc
VCAM -1 [pg/ml]*	1273 (1054 - 1606)	1667 (1185 - 2327)	891,8 (752,4 - 1058,5)	<0,0001	K vs 1 p=0,0001 K vs 2 p=0,0001 1 vs 2 p=0,026
sTM [ng/ml]*	3,3 (2,93 - 3,98)	3,8 (3,15 - 4,9)	3,6 (3,1 - 4)	0,01	K vs 1 p=1,0 K vs 2 p=0,18 1 vs 2 p=0,009
vWF [U/dl]*	129,6 (95,92 - 166,95)	171,3 (118,3 - 243)	114,8 (87 -154,8)	0,001	K vs 1 p=0,59 K vs 2 p=0,001 1 vs 2 p=0,033

Celem zbadania wpływu tradycyjnych czynników ryzyka na stężenia badanych markerów w osoczu krwi całej kohorty, analizowano korelację czynników ryzyka takich jak: wiek, płeć, BMI, nasilenie palenia papierosów (paczko-lata), stężenie cholesterolu całkowitego, cholesterolu nie-HDL oraz frakcji LDL i HDL, triglicerydów, poziomu insuliny, wskaźnika HOMA-IR, CRP, fibrynogenu, D-dimerów oraz oszacowanego ryzyka CVD wg NCEP-ATPIII na stężenie poszczególnych markerów.

Stwierdzono, że stężenie triglicerydów ujemnie koreluje z poziomem TNF- $\alpha$  ( $p=0,045$ ). Ujemną korelację wykazano również pomiędzy wartością BMI a stężeniem IL-1 $\beta$  ( $p=0,018$ ). Wśród mężczyzn zaobserwowano istotnie wyższe stężenie VCAM-1 oraz sTM (odp.  $p=0,027$  i  $p=0,017$ ).

Natomiast wysokie stężenie cholesterolu HDL wiązało się z istotnie niższym stężeniem sTM ( $p=0,047$ ) w badanej kohorcie.

Stężenie vWF było dodatnio skorelowane z wysokim stężeniem fibrynogenu ( $p=0,006$ ). Nie wykazano wpływu żadnego z powyższych czynników na stężenie TF.

Z kolei wysokie stężenia cholesterolu całkowitego, cholesterolu nie-HDL i LDL zwiększały istotnie stężenie TFPI (odp.  $p=0,002$ ,  $p=0,018$ ,  $p=0,008$ ).

Wysokie stężenie TFPI korelowało również ze zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym wg NCEP-ATP III ( $p=0,048$ ) (tab. 20).

Tabela 20. Wpływ czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych na stężenia badanych markerów dysfunkcji śródbłonna i hemostazy. Regresja jednoczynnikowa liniowa.

Zmienne	TNF- $\alpha$	VCAM-1	IL-1 $\beta$	sTM	vWF	TF	TFPI
	P-value						
Wiek	*0,19	0,69	0,94	*0,87	0,53	0,07	0,11
Płeć męska	*0,13	0,027	0,31	0,017	0,70	*0,75	0,62
BMI	0,19	0,22	*0,018	*0,06	*0,73	*0,97	*0,31
Paczko - lata	*0,59	*0,89	*0,22	*0,84	0,50	0,93	0,45
Cholesterol całkowity	*0,47	*0,09	*0,24	*0,16	0,81	*0,76	0,002
Cholesterol nie-HDL	*0,27	*0,27	*0,18	*0,65	*0,85	0,39	0,018
Cholesterol LDL	*0,58	*0,45	*0,28	*0,53	0,79	*0,77	0,008
Cholesterol HDL	0,56	*0,20	*0,92	*0,047	0,89	0,36	0,098
Triglicerydy	*0,045	*0,19	*0,16	0,98	0,32	*0,43	0,74
CRP	*0,83	0,35	0,096	0,18	0,79	*0,72	0,21
Insulina	*0,74	0,34	*0,93	0,42	0,21	*0,99	*0,45
HOMA-IR	*0,66	0,28	*0,89	0,52	0,18	*0,86	*0,61
Fibrynogen	*0,30	0,82	0,92	0,49	0,006	*0,80	0,44
D-dimery	*0,58	0,19	0,55	*0,98	0,32	0,13	0,34
Ryzyko sercowo-naczyniowe NCEP ATP III	*0,25	*0,95	*0,45	0,41	*0,82	0,86	0,048

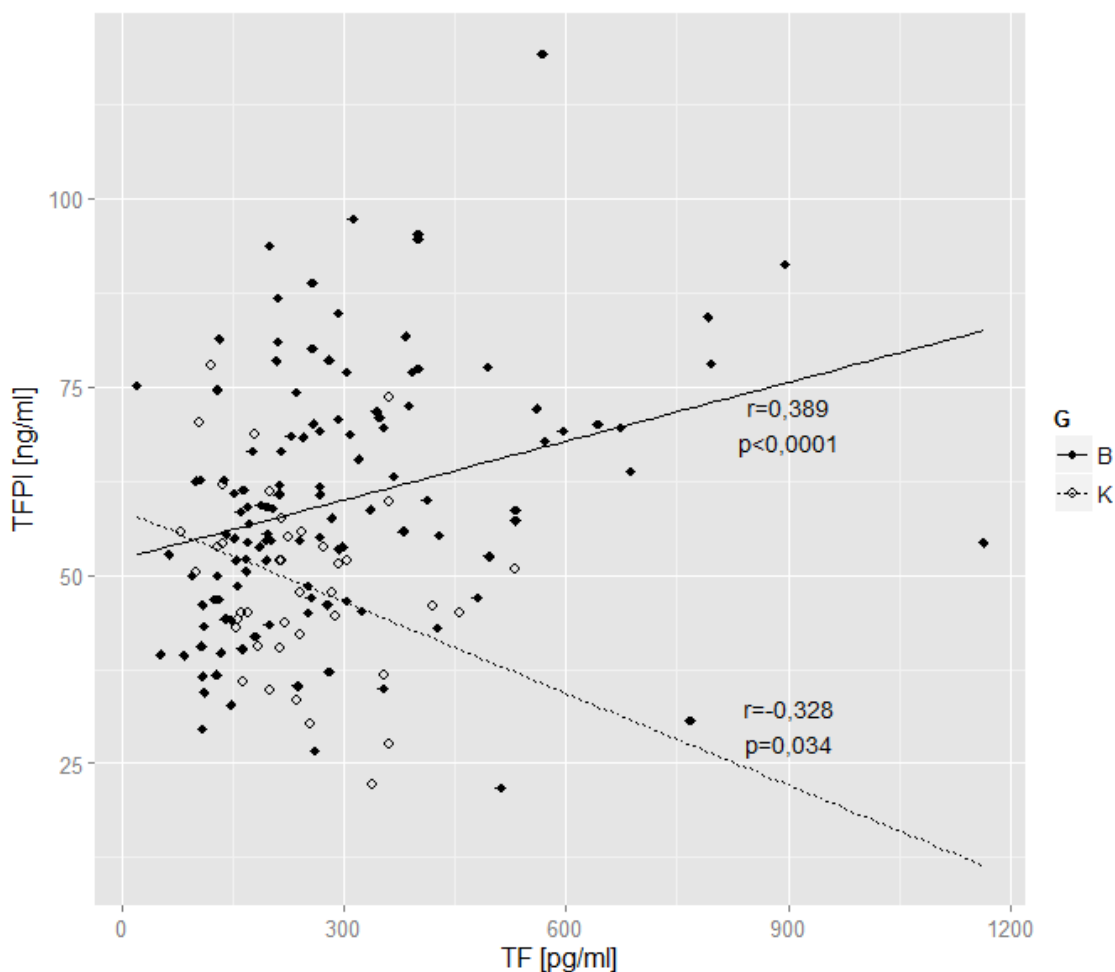
\* - ujemna zależność

W regresji jednoczynnikowej nie stwierdzono istotnych statystycznie korelacji pomiędzy stężeniem prozapalnych cytokin, takich jak: TNF- $\alpha$  i IL-1 $\beta$  a stężeniem VCAM-1 (odp.  $p=0,53$ ,  $p=0,21$ ), sTM (odp.  $p=0,24$ ,  $p=0,57$ ), vWF (odp.  $p=0,99$ ,  $p=0,57$ ), TF (odp.  $p=0,76$ ,  $p=0,75$ ) oraz TFPI (odp.  $p=0,21$ ,  $p=0,53$ ). Nie wykazano również istotnych zależności pomiędzy markerami stanu zapalnego, takimi jak: CRP i fibrynogen, a stężeniem VCAM-1 (odp.  $p=0,35$ ,  $p=0,82$ ), sTM (odp.  $p=0,18$ ,  $p=0,49$ ), TF (odp.  $p=0,72$ ,  $p=0,8$ ) oraz TFPI (odp.  $p=0,21$ ,  $p=0,44$ ). Zaobserwowano natomiast istotną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem fibrynogenu a stężeniem vWF ( $p=0,0063$ ).

W regresji wieloczynnikowej wykazano silny wpływ TNF- $\alpha$  na stężenie VCAM-1 ( $p=0,036$ ) oraz sTM ( $p=0,02$ ). Dodatkowo na stężenie sTM wpływ wykazywała IL-1 $\beta$  ( $p=0,012$ ).

Przeprowadzono również analizę korelacji Spearmana, która miała na celu zbadanie wzajemnej korelacji pomiędzy markerami dysfunkcji śródbłonna i hemostazy: VCAM-1, sTM, vWF, TF i TFPI. Zaobserwowano istotną dodatnią, słabą korelację pomiędzy stężeniami TF i TFPI w całej kohorcie ( $p<0,0001$ ,  $r=0,389$ ), natomiast odwrotną słabą korelację w grupie kontrolnej ( $p=0,034$ ,  $r=0,328$ ) (rycina 6). Wykazano również słabą dodatnią korelację pomiędzy stężeniami VCAM-1 i vWF, zarówno w grupie badanej, jak i kontrolnej (odp.  $p=0,0012$ ,  $r=0,289$  i  $p=0,002$ ,  $r=0,486$ ).

W zakresie pozostałych markerów nie wykazano wzajemnych zależności.

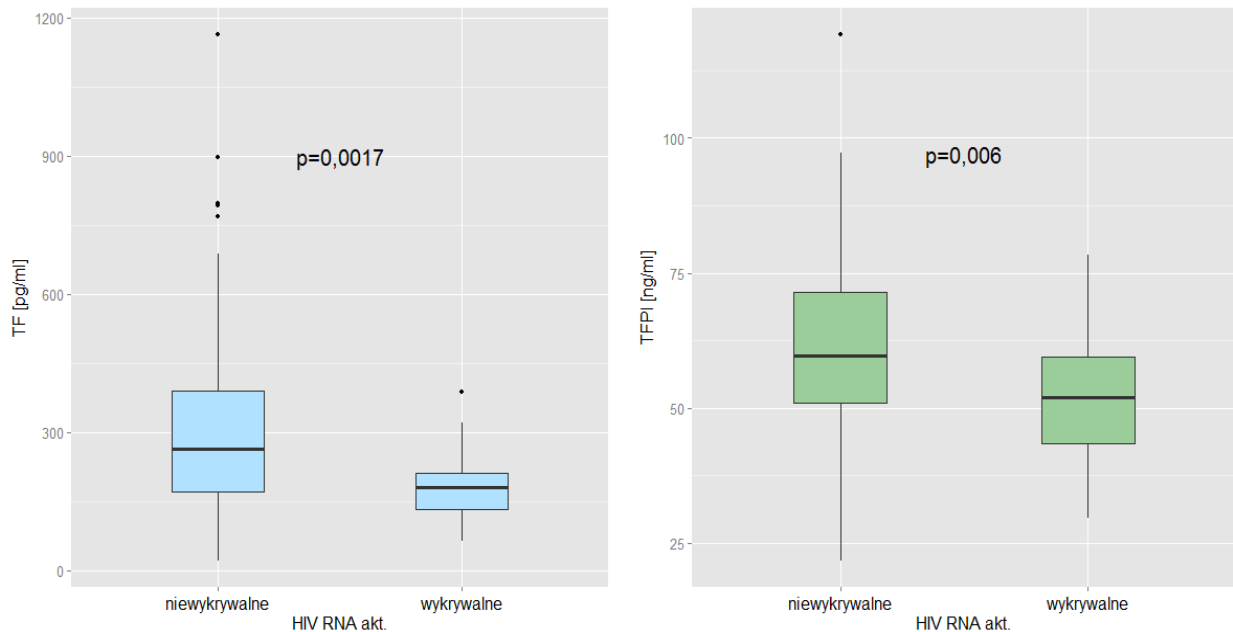


Rycina 6. Liniowa zależność pomiędzy stężeniem TF i TFPI w grupie badanej ( $p < 0,0001$ ,  $r = 0,389$ ) i w grupie kontrolnej ( $p = 0,034$ ,  $r = 0,328$ ). Korelacja Spearmana.

W badanej grupie analizowano także w modelu regresji jednoczynnikowej wpływ parametrów dotyczących stanu wirusologicznego, immunologicznego oraz korelację z leczeniem antyretrowirusowym, na stężenie poszczególnych markerów zapalnych i markerów dysfunkcji śródbłonna. Wykazano ujemną korelację pomiędzy poziomem aktualnej wirerii HIV i liczbą limfocytów T CD4+ nadir, a stężeniami TF i TFPI. Stwierdzono również wpływ kumulatywnego leczenia ARV, w tym kumulatywnego leczenia poszczególnymi klasami leków: NRTI, NNRTI, PI na wyższe stężenie TF. Wykazano też, że czas kumulatywnego leczenia za pomocą PI wykazywał dodatni wpływ na stężenie IL-1.

Celem weryfikacji zaistniałej ujemnej korelacji pomiędzy stężeniem TF i TFPI a poziomem wirerii HIV, przy obserwacji, że 81,5% osób z badanej kohorty ma niewykrywalny poziom HIV RNA (<40 kopii/ml) przeprowadzono dodatkową analizę, porównującą stężenia powyższych markerów pomiędzy osobami z wykrywalnym

i niewykrywalnym poziomem HIV RNA. Wykazano, że osoby z niewykrywalnymi poziomami HIV RNA mają istotnie wyższe stężenia TF ( $p=0,0017$ ) i TFPI ( $p=0,006$ ).



Rycina 7. Porównanie stężenia TF i TFPI pomiędzy pacjentami z wykrywalnym i niewykrywalnym aktualnym poziomem HIV RNA w grupie badanej (odp.  $p=0,0017$  i  $p=0,006$ ). Test Manna – Whitney’a.

W dalszych analizach przeprowadzono regresję wieloczynnikową, uwzględniając jako zmienne czynniki ryzyka: wiek, płeć, nadciśnienie tętnicze, nasilenie palenia papierosów (paczko-lata), dodatni wywiad rodzinny, HOMA-IR, BMI, stężenie cholesterolu non-HDL, cholesterolu HDL oraz markery stanu zapalnego: fibrynogen, IL-1 i TNF-alfa. Badano również wpływ parametrów dotyczących stanu wirusologicznego, immunologicznego oraz leczenia antyretrowirusowego na stężenie poszczególnych markerów dysfunkcji śródbłonna i hemostazy.

Wykazano wpływ wieku, płci męskiej, nadciśnienia tętniczego i TNF- $\alpha$  na stężenie VCAM-1. Po usunięciu zmiennych metodą stepwise stwierdzono, że na stężenia VCAM-1 niezależnie wpływają płeć męska i TNF- $\alpha$  (tab.21).

Tabela 21. Wpływ czynników ryzyka CVD, z uwzględnieniem wpływu markerów zapalnych na stężenie VCAM-1 w badanej grupie. Regresja wieloczynnikowa

Zmienna	b	SE	P
<b>Pełny model</b>			
Wiek	16,85	8,10	0,04
Płeć męska	430,35	153,90	0,006
Nadciśnienie tętnicze	-396,79	151,04	0,01
Paczko-lata	-6,79	4,68	0,15
Dodatni wywiad rodzinny	108,89	144,20	0,45
HOMA- IR	36,57	39,05	0,35
BMI	23,4	21,67	0,28
Cholesterol nie-HDL	-0,88	1,65	0,59
TNF- $\alpha$	31,25	10,95	0,0054
IL-1 $\beta$	-4,08	21,24	0,85
Fibrynogen	36,62	82,04	0,65
<b>Stepwise</b>			
Płeć męska	318,32	136,5	0,02
TNF- $\alpha$	20,94	9,84	0,04

Po wyeliminowaniu stężenia cholesterolu nie-HDL i uwzględnieniu w kolejnym modelu cholesterolu HDL, również wykazano niezależny silny wpływ płci i TNF- $\alpha$ .

Badając związek parametrów immunologicznych, wirusologicznych i kumulatywnego leczenia ARV z VCAM-1, stwierdzono niezależny wpływ zakażenia HCV na stężenia VCAM-1 (tab.22). Po usunięciu zakażenia HCV w kolejnej analizie, a uwzględnieniu aktywności ALT, wykazano, istotny dodatni wpływ aktywności tego enzymu na stężenie badanej adhezyny. Nie wykazano związku VCAM-1 z kumulatywnym leczeniem antyretrowirusowym oraz kumulatywnym leczeniem poszczególnymi klasami leków antyretrowirusowych.

Tabela 22. Wpływ parametrów wirusologicznych, immunologicznych i leczenia antyretrowirusowego na stężenie VCAM-1 w badanej grupie. Regresja wieloczynnikowa

Zmienna	b	SE	P
<b>Pełny model</b>			
Przebyte zakażenie HBV	124,53	160,33	0,44
Zakażenie HCV	449,63	135,52	0,0013
Limfocyty T CD4+	-0,41	0,33	0,23
Limfocyty T CD4- nadir	0,89	0,54	0,10
Aktualne HIV RNA	0,009	0,01	0,43
HIV RNA zenit	0,0004	0,0002	0,09
Kumulatywne leczenie ARV	-1,63	6,98	0,82
<b>Stepwise</b>			
Zakażenie HCV	454,36	124,56	0,0004

W modelu uwzględniającym tradycyjne czynniki ryzyka, wykazano dodatnią korelację pomiędzy stężeniem TM a IL-1, oraz ujemną - stężenie TM w odniesieniu do wywiadu rodzinnego. Po usunięciu z powyższego modelu IL-1 wykazano niezależny wpływ płci i TNF- $\alpha$  na stężenie sTM (tab.23). Podobne obserwacje odnotowano po wyeliminowaniu z modelu cholesterolu nie-HDL i uwzględnieniu cholesterolu HDL.

Tabela 23. Wpływ czynników ryzyka CVD, uwzględnieniem wpływu markerów zapalnych na stężenie sTM w badanej grupie. Regresja wieloczynnikowa

Zmienna	b	SE	P
<b>Pełny model</b>			
Wiek	0,007	0,02	0,68
Płeć męska	0,62	0,3	0,04
Nadciśnienie tętnicze	-0,24	0,3	0,42
Paczkolata	-0,006	0,009	0,50
Dodatni wywiad rodzinny	-0,36	0,28	0,21
HOMA IR	0,06	0,08	0,39
BMI	-0,046	0,04	0,28
Cholesterol nie- HDL	0,003	0,003	0,42
TNF- $\alpha$	0,04	0,02	0,048
IL-1 $\beta$	0,06	0,04	0,16
Fibrynogen	0,13	0,16	0,41
<b>Stepwise</b>			
Dodatni wywiad rodzinny	-0,53	0,27	0,048
IL-1	0,09	0,04	0,01
<b>Stepwise</b>			
Płeć męska	0,59	0,26	0,03
TNF- $\alpha$	0,04	0,02	0,02

W modelu uwzględniającym parametry immunologiczne, wirusologiczne i leczenie antyretrowirusowe wykazano silny niezależny wpływ zakażenia HCV na stężenie sTM (tab.24). Nie stwierdzono wpływu kumulatywnego leczenia antyretrowirusowego, kumulatywnego leczenia PI i kumulatywnego leczenia NRTI na wartości sTM.



Tabela 24. Wpływ parametrów wirusologicznych, immunologicznych i leczenia antyretrowirusowego na stężenie sTM w badanej grupie. Regresja wieloczynnikowa.

Zmienna	b	SE	P
<b>Pełny model</b>			
Przebyte zakażenie HBV	0,21	0,31	0,49
Zakażenie HCV	0,79	0,26	0,0026
Limfocyty T CD4+	0,001	0,0006	0,09
Limfocyty T CD4+ nadir	-0,002	0,001	0,10
Aktualne HIV RNA	0,00004	0,00002	0,047
HIV RNA zenit	-0,0000003	0,0000004	0,52
Kumulatorywne leczenia ARV	-0,02	0,01	0,09
<b>Stepwise</b>			
Zakażenie HCV	0,78	0,24	0,001

Wykazano niezależny dodatni wpływ stężenia fibrynogeny na stężenia vWF, zarówno w modelu uwzględniającym stężenia cholesterolu nie-HDL, jak i w modelu z HDL (tab.25).

Tabela 25. Wpływ czynników ryzyka CVD z uwzględnieniem markerów zapalnych na stężenie vWF w badanej grupie. Regresja wieloczynnikowa.

Zmienna	b	SE	P
<b>Pełny model</b>			
Wiek	0,045	1,23	0,97
Płeć męska	11,89	23,58	0,62
Nadciśnienie tętnicze	-7,66	23,11	0,74
Paczko-lata	0,15	0,72	0,83
Dodatni wywiad rodzinny	-22,66	22,17	0,31
HOMA-IR	8,99	6,03	0,14
BMI	-2,69	3,32	0,42
Cholesterol nie-HDL	0,003	0,25	0,99
TNF- $\alpha$	0,35	1,66	0,83
IL-1 $\beta$	0,45	3,28	0,89
Fibrynogen	28,20	12,67	0,03
<b>Stepwise</b>			
Fibrynogen	26.81	11.12	0.02

W kolejnych analizowanych modelach regresji wieloczynnikowej stwierdzono niezależny wpływ zakażenia HCV i aktywności ALT na stężenie vWF.

Nie wykazano wpływu kumulatorywne leczenia antyretrowirusowego, w tym kumulatorywne leczenia PI i kumulatorywne leczenia NRTI na wartości vWF (tab.26).

Tabela 26. Wpływ parametrów wirusologicznych, immunologicznych i leczenia antyretrowirusowego na stężenie vWF. Regresja wieloczynnikowa

Zmienna	b	SE	P
<b>Pełny model</b>			
Przebyte zakażenie HBV	26,76	21,99	0,23
Zakażenie HCV	50,16	18,53	0,0079
Limfocyty CD4+	0,01	0,046	0,77
Limfocyty CD4+ nadir	-0,08	0,08	0,30
Aktualne HIV RNA	0,002	0,001	0,15
HIV RNA zenit	0,00006	0,00003	0,049
Kumulatywne leczenie ARV	-1,41	0,98	0,16
<b>Stepwise</b>			
Zakażenie HCV	46,87	17,29	0,008

Nie stwierdzono wpływu tradycyjnych czynników ryzyka na stężenia TF. Nie wykazano również związku pomiędzy TF a markerami stanu zapalnego. Odnotowano natomiast silny, niezależny wpływ kumulatywnego leczenia antyretrowirusowego, a w kolejnym modelu kumulatywnego leczenia NRTI na stężenia TF w osoczu krwi (tab.27, 28).

Tabela 27. Wpływ parametrów wirusologicznych, immunologicznych, z uwzględnieniem kumulatywnego leczenia antyretrowirusowego na stężenie TF. Regresja wieloczynnikowa

Zmienna	b	SE	P
<b>Pełny model</b>			
Przebyte zakażenie HBV	-75,49	46,59	0,11
Zakażenie HCV	5,78	38,21	0,88
Limfocyty T CD4+	0,006	0,09	0,95
Limfocyty T CD4+ nadir	-0,13	0,16	0,41
Aktualne HIV RNA	-0,03	0,003	0,36
HIV RNA zenit	-0,00003	0,00006	0,61
Kumulatywne leczenie ARV	5,1	2,06	0,02
<b>Stepwise</b>			
Kumulatywne leczenie ARV	5,98	1,59	0,0003

Tabela 28. Wpływ parametrów wirusologicznych, immunologicznych, z uwzględnieniem kumulatywnego leczenia poszczególnymi klasami leków antyretrowirusowych na stężenie TF. Regresja wieloczynnikowa

Zmienna	b	SE	P
<b>Pełny model</b>			
Przebyte zakażenie HBV	-72,71	47,27	0,13
Zakażenie HCV	5,82	38,74	0,88
Limfocyty CD4+	0,03	0,095	0,74
Limfocyty T CD4+ nadir	-0,15	0,16	0,33
Aktualne HIV RNA	-0,003	0,003	0,36
HIV RNA zenit	-0,00003	0,00006	0,65
Kumulatywne leczenie NRTI	4,06	2,96	0,17
Kumulatywne leczenie PI	6,86	5,26	0,19
<b>Stepwise</b>			
Kumulatywne leczenie NRTI	7,22	2,31	0,002

W modelu regresji wieloczynnikowej nie wykazano wpływu tradycyjnych czynników ryzyka CVD na stężenie TFPI. Wykazano natomiast ujemny, niezależny wpływ liczby limfocytów T CD4+ nadir na stężenie TFPI (tab.29). Nie obserwowano wpływu kumulatywnego leczenia antyretrowirusowego, w tym kumulatywnego leczenia PI i kumulatywnego leczenia NRTI na wartości TFPI.

Tabela 29. Wpływ parametrów wirusologicznych, immunologicznych, z uwzględnieniem kumulatywnego leczenia antyretrowirusowego na stężenie TFPI. Regresja wieloczynnikowa

Zmienna	b	SE	P
<b>Pełny model</b>			
Przebyte zakażenie HBV	-0,86	4,04	0,83
Zakażenie HCV	-3,58	3,31	0,28
Limfocyty T CD4+	0,007	0,008	0,39
Limfocyty T CD4+ nadir	-0,04	0,01	<b>0,007</b>
Aktualne HIV RNA	-0,0003	0,0003	0,25
HIV RNA zenit	0,000002	0,000005	0,68
Kumulatywne leczenie ARV	-0,18	0,18	0,32
<b>Stepwise</b>			
Limfocyty T CD4+ nadir	-0,04	0,01	<b>0,0003</b>

Analizując wpływ czynników ryzyka CVD, parametrów stanu immunologicznego, wirusologicznego i leczenia antyretrowirusowego na stężenie TNF- $\alpha$ , nie stwierdzono istotnych korelacji. Zaobserwowano jedynie słabą odwrotną korelację pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  a wiekiem i płcią męską. Tendencję wpływu wykazywało również nadciśnienie tętnicze, liczba limfocytów T CD4+ nadir oraz HIV RNA zenit.

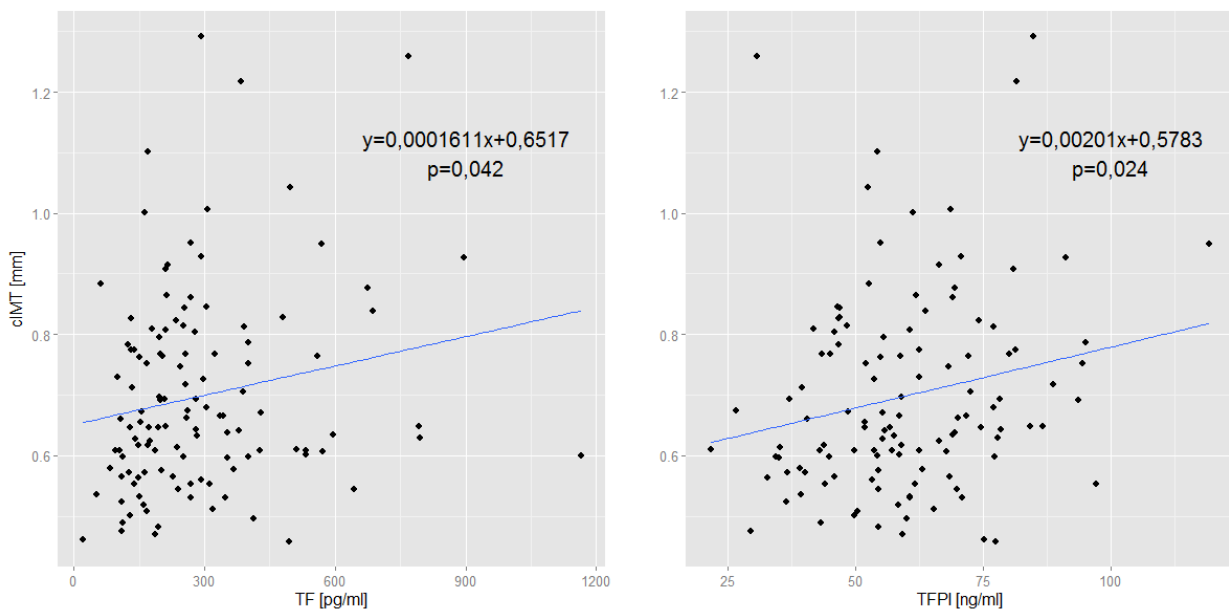
Na stężenie IL-1 $\beta$  niezależnie wpływało kumulatywne leczenie inhibitorami proteazy. Słabą tendencję wpływu wykazywało również BMI oraz nasilenie palenia papierosów.

W celu zbadania wpływu leczenia ARV na stężenia badanych markerów zapalnych i dysfunkcji śródbłonna przeprowadzono analizę testem Manna-Whitney'a, gdzie porównywanymi grupami były osoby zakażone HIV poddane terapii antyretrowirusowej i osoby nieleczone. Stwierdzono istotnie wyższe stężenia TF i TFPI w grupie osób leczonych. Stężenie VCAM-1 było natomiast w tej grupie istotnie niższe. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic dla pozostałych markerów. Nie pogłębiano analiz statystycznych badanych zmiennych w odniesieniu do jakościowej cechy, jaką jest leczenie antyretrowirusowe, bądź jego brak, ze względu na małą liczebność grupy osób nie leczonych ARV.

### 4.3. Analiza wpływu poszczególnych markerów zapalnych i markerów dysfunkcji śródbłonna na zaawansowanie subklinicznej miażdżycy

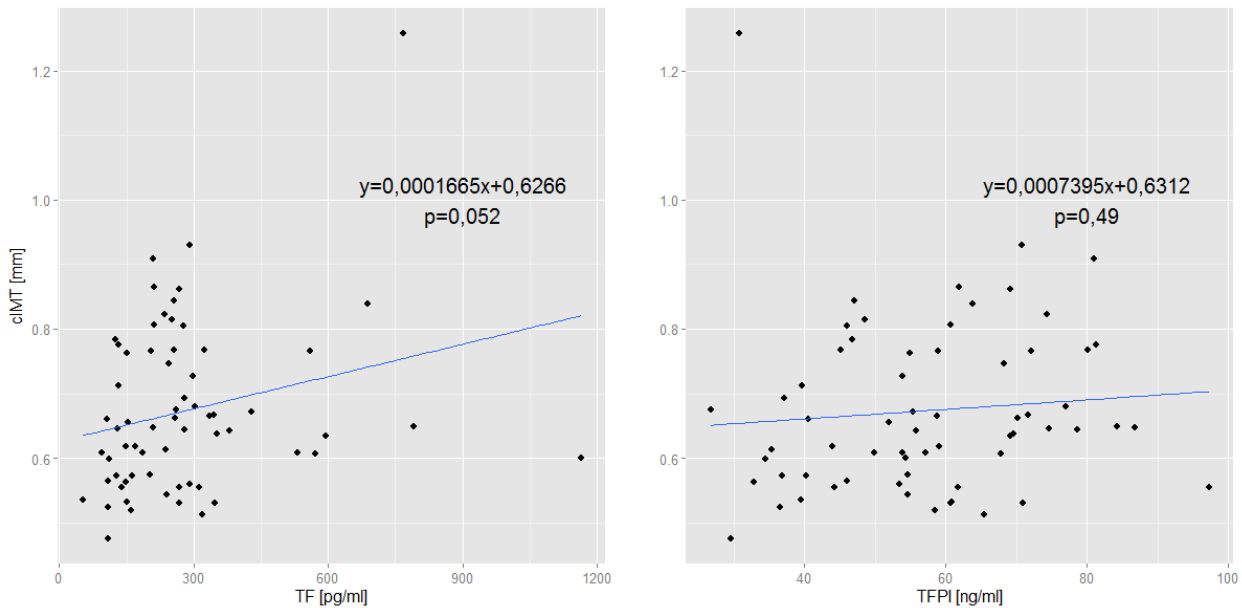
W badanej grupie stwierdzono istotne statystycznie większe zaawansowanie subklinicznej miażdżycy w porównaniu do grupy kontrolnej, wyrażone parametrami cIMT i cIMTmeanmax ( $p < 0,0001$ ). Nie wykazano istotnych różnic względem cIMT i cIMTmeanmax pomiędzy podgrupami z koinfekcją i bez koinfekcji HCV.

Celem ustalenia wpływu badanych markerów zapalnych i markerów dysfunkcji śródbłonna na zaawansowanie subklinicznej miażdżycy zbadano związek pomiędzy poszczególnymi markerami (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , VCAM-1, sTM, vWF, TF, TFPI), a cIMT, cIMTmeanmax i występowaniem blaszki miażdżycowej. W całej kohorcie stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy TF i TFPI a cIMT (odp.  $p = 0,042$  i  $p = 0,024$ ). TF wykazuje również słaby wpływ na cIMTmeanmax, jednak wynik ten jest statystycznie nieistotny ( $p = 0,055$ ). Nie stwierdzono natomiast wpływu pozostałych markerów na zaawansowanie zmian miażdżycowych w grupie badanej. Nie wykazano również istotnego związku markerów z występowaniem blaszki miażdżycowej.



Rycina 8. Liniowa zależność pomiędzy stężeniem TF i TFPI a wartością cIMT w całej badanej grupie. Regresja jednoczynnikowa liniowa.

W podgrupie osób z koinfekcją HCV również tylko TF wykazuje dodatni wpływ na wartość cIMT i cIMTmeanmax (odp.  $p=0,052$  i  $p=0,023$ ), jednak związek między cIMT i TF jest na granicy istotności statystycznej. Uwagę zwraca wpływ TF i TFPI na zwiększone ryzyko wystąpienia blaszki miażdżycowej w podgrupie pacjentów bez koinfekcji HCV, jednak wynik ten nie jest statystycznie istotny (odp.  $p=0,056$  i  $p=0,069$ ).



Rycina 9. Liniowa zależność pomiędzy stężeniem TF i TFPI a wartością cIMT w podgrupie z koinfekcją HIV/HCV. Regresja jednoczynnikowa liniowa.

W modelu regresji wieloczynnikowej z udziałem cytokin prozapalnych, adhezyn i markerów dysfunkcji śródbłonna, po usunięciu zmiennych metodą stepwise, wykazano niezależny dodatni wpływ TF na wartość cIMT w badanej grupie (tab.30). Nie stwierdzono wpływu badanych markerów na wartości cIMTmeanmax i występowanie blaszki miażdżycowej.

Tabela 30. Wpływ markerów śródbłonna i hemostazy na cIMT w badanej grupie. Regresja wieloczynnikowa.

Zmienne	b	SE	P
<b>Pełny model</b>			
TNF- $\alpha$	-0,0002	0,002	0,93
IL-1 $\beta$	0,002	0,005	0,75
VCAM-1	0,000008	0,00003	0,78
sTM	-0,004	0,02	0,79
vWF	0,0001	0,0002	0,53
TF	0,0002	0,0001	0,07
TFPI	0,001	0,001	0,21
<b>Stepwise</b>			
TF	0,0002	0,00009	0,02

Na podstawie powyższych obserwacji wskazujących na fakt, że stężenie TF koreluje z zaawansowaniem subklinicznej miażdżycy, wykonano dodatkową analizę, celem zbadania, czy wysokim stężeniom TF towarzyszą inne czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. Za wysokie stężenia TF uznano wartości  $>450$  pg/ml. Na potrzeby niniejszej analizy, w celu zwiększenia statystycznej siły analizy, połączono grupę badaną z grupą kontrolną (161 osób). Wykazano, że osoby z wysokimi stężeniami TF są starsze, mają istotnie wyższe wartości skurczowego ciśnienia tętniczego oraz częściej występuje u nich nadciśnienie tętnicze, a także wykazują większe ryzyko sercowo-naczyniowe wg kryteriów NCEP ATP III. Dodatkowo mają istotnie wyższe wartości cIMT i cIMT meanmax w porównaniu do osób z niskimi stężeniami TF.

W grupie osób zakażonych HIV u wszystkich pacjentów z TF  $> 450$  pg/ml wiramia HIV była niewykrywalna. Zaobserwowano, że osoby z wysokimi stężeniami TF wykazują dłuższy czas trwania zakażenia HIV, a także mają znamienne wyższą aktualną liczbę limfocytów T CD4+. W zakresie historycznych danych, stwierdzono tendencję do niższej liczby limfocytów T CD4+ nadir oraz wyższego poziomu HIV RNA zenit.

Tabela 31. Charakterystyka podgrup w zależności od stężenia TF (n=161).

Cecha	TF		p
	< 450 pg/ml	> 450 pg/ml	
Wiek, (lata)*	40	44	0,02
Płeć (liczba mężczyzn), n%	91 (64,5%)	13 (65%)	0,97
BMI*	23,79	23,98	0,89
cIMT, (mm)*	0,62	0,7	0,036
IMT meanmax, (mm)*	0,89	1,04	0,019
Błazka miażdżycowa, n(%)	33 (23,4%)	8 (40%)	0,11
Paczko-lata, (lata)*	9	14,2	0,11
RR skurczowe*	120	130	0,006
RR rozkurczowe*	80	80	0,92
Nadciśnienie tętnicze, n%	50 (35,46%)	12 (66,7%)	0,035
Cholesterol całkowity, (mg/dl)*	200	183	0,22
Cholesterol nie-HDL, (mg/dl)*	143	126	0,31
Cholesterol LDL, (mg/dl)*	112	104	0,52
Cholesterol HDL, (mg/dl)*	53	50	0,85
Triglicerydy, (mg/dl)*	121	112,5	0,66
CRP, (mg/l)*	0,69	0,51	0,49
Glukoza na czczo, mg%	91	95	0,24
Insulina, (UJ/ml)*	7,05	8,35	0,19
HOMA-IR*	1,55	1,87	0,15
Fibrynogen, (g/l)	2,7	2,7	0,68
D-dimery, (ng/ml)*	226,5	272,85	0,38
Ryzyko sercowo-naczyniowe NCEP ATP III*	2	4,5	0,059
ALAT, (UJ/ml)*	31	30	0,54
ASPAT, (UJ/ml)*	30	24	0,19
VCAM -1, (pg/ml)*	1184,84	1300,63	0,59
IL -1 $\beta$ , (pg/ml)*	5,9	6	0,93
sTM, (ng/ml)*	3,6	3,45	0,79
vWF, (U/dl)*	1338	1563	0,63

\* - mediana (IQR), n (%) – liczba bezwzględna (odsetek), pozostałe dane - średnia arytmetyczna

Wśród osób z wyższymi stężeniami TF stwierdzono również znamienne dłuższy czas leczenia antyretrowirusowego, a także istotnie wyższe kumulatywne leczenie antyretrowirusowe, kumulatywne leczenie NRTI i kumulatywne leczenie PI. Wykazano, że wśród tej grupy, nie było osób nieleczonych. Zaobserwowano także, że osoby z TF>450 pg/ml częściej przyjmowały rytonawir, atazanawir i abakawir.

Tabela 32. Cechy zakażenia w grupach w zależności od stężenia TF (n=121).

Zakażenie	TF		p-value
	< 450 pg/ml	>450 pg/ml	
Droga zakażenia HTX/IDU/MSM	25(24,7%)/48 (47,5%)/28 (27,7)	7(38,9%)/5 (27,8%)/6 (33,34%)	0,1
Czas trwania zakażenia HIV, (lata)*	8 (3,7 - 23)	11 (8—18)	0,059
AIDS, n (%)	30 (29,7%)	3 (16%)	0,26
Przebyte zakażenie HBV, n(%)	25 (24,75%)	1 (5,6%)	0,069
Zakażenie HCV, n(%)	56 (55,45%)	8 (44,45%)	0,39
Limfocyty T CD4+, (l. kom/ $\mu$ m)*	499 (384 - 648)	673 (477 - 794)	0,03
Limfocyty T CD4+ nadir, (l. kom/ $\mu$ m)*	233 (93 - 349)	137 (46 - 274)	0,086
HIV RNA w chwili badania, (l. kopii/ml)*	40 (40 - 50)	44,5 (40 - 49)	0,29
HIV RNA poniżej progu czułości metody, n (%)	22 (22,5%)	18 (100%)	0,026
HIV RNA zenit, (l. kopii/ml)*	9624 (0,00 - 99400)	53500 (2040 - 220000)	0,07
<b>Leczenie ARV</b>			
Leczenie ARV, n(%)	88 (87,12%)	18 (100%)	0,11
Czas leczenia ARV, (lata)*	4 (1,60 - 8,00)	9 (6,00 - 11,00)	0,002
Kumulatywne leczenie NRTI w latach*	6,44 (2,17 - 11,67)	13,13 (5,73 - 17,18)	0,008
Kumulatywne leczenie NNRTI w latach*	0 (0,00 - 1,35)	0 (0,0 - 2,42)	0,76
Kumulatywne leczenie PI w latach*	2,25 (0,00 - 5,82)	7,115 (3,91 - 10,06)	0,006
Kumulatywne leczenie ARV w latach*	11,71 (3,98 - 20,97)	21,305 (14,68 - 27,14)	0,003

\* - mediana (IQR), n (%) – liczba bezwzględna (odsetek), pozostałe dane - średnia arytmetyczna



## **5. Podsumowanie wyników i dyskusja**

W analizie grup pacjentów zakażonych HIV oraz z koinfekcją HIV/HCV stwierdzono dłuższy czas udokumentowanego zakażenia HIV u pacjentów z koinfekcją HCV. Taka obserwacja może wynikać z faktu, że osoby z podwójnym zakażeniem nabyły je w wyniku stosowania dożylnie środków odurzających. Ze względu na zmianę ryzyka transmisji HIV w ostatnim czasie i zdecydowany wzrost częstości transmisji HIV w wyniku kontaktów seksualnych, spadła również liczba osób z koinfekcją HIV/HCV. To może również tłumaczyć dłuższy ogólny czas stosowania cART w tej grupie pacjentów.

### **5.1. Wpływ współistniejącego zakażenia HCV na zaawansowanie subklinicznej miażdżycy u osób żyjących z HIV**

Badaną kohortę, w której 54,5% osób stanowili pacjenci z koinfekcją HIV/HCV i 45,5% z monoinfekcją HIV, charakteryzuje odmienny profil czynników ryzyka i wyższa wartość cIMT w porównaniu z grupą kontrolną, a rozwój zmian miażdżycowych zależy od wieku, stężenia cholesterolu nie-HDL, natężenia palenia papierosów i kumulatywnego leczenia ARV. Przedstawione analizy, zarówno jedno- jak i wieloczynnikowe wskazują na brak wpływu koinfekcji HCV na rozwój subklinicznej miażdżycy u pacjentów zakażonych HIV. Zaawansowanie subklinicznej miażdżycy tętnic szyjnych ocenione na podstawie analizy wartości cIMT i cIMT<sub>meanmax</sub> było podobne u pacjentów z monoinfekcją HIV i z koinfekcją HIV/HCV. Również nie wykazano wpływu HCV na obecność blaszki miażdżycowej. Jednocześnie w obu pogrupach wykazano bardziej zaawansowane zmiany miażdżycowe aniżeli w grupie kontrolnej.

Caliskan i wsp. uzyskali podobne wyniki badań i nie stwierdzili wpływu HCV na rozwój subklinicznej miażdżycy [97], natomiast Ishizaka i wsp. mieli odmienne obserwacje [95]. Według ich danych zakażenie HCV jest niezależnym czynnikiem wpływającym na rozwój zmian miażdżycowych w tętnicach szyjnych.

Istotnie należy uznać, że dane na temat wpływu zakażenia HCV na rozwój subklinicznej miażdżycy są niepełne i problem ten wymaga dalszych badań, tym bardziej, że uzyskane dotychczas obserwacje nie dają jednoznacznej odpowiedzi na pytanie o udział HCV w rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. Alyan i wsp. wykazali, że zakażenie HCV stanowi niezależny czynnik zwiększający ryzyko rozwoju zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych [94]. Adinolfi i wsp. stwierdzili większe zaawansowanie subklinicznych zmian miażdżycowych

u pacjentów z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C, a poziom HCV RNA w surowicy był niezależnym czynnikiem zwiększającym ryzyko miażdżycy w tętnicach szyjnych [100]. Podobne obserwacje opisują również Huang i wsp [99]. W literaturze obecne są jednak doniesienia negujące wpływ zakażenia HCV na rozwój chorób sercowo-naczyniowych i miażdżycy. Momiyama i wsp. wykazali, że przewlekłe zakażenie HCV nie odgrywa istotnej roli w rozwoju chorób sercowo-naczyniowych [96]. Arcari i wsp. również nie stwierdzili związku pomiędzy zakażeniem HCV a ryzykiem zawału serca [123]. Także Volzke i wsp. nie wykazali korelacji pomiędzy zakażeniem HCV i HBV a ryzykiem rozwoju miażdżycy [124]. Roed i wsp. wskazują natomiast, że częstsze występowanie chorób sercowo-naczyniowych wśród osób zakażonych HCV, wiąże się bardziej z nasileniem tradycyjnych czynników ryzyka CVD w tej grupie, związanych ze stylem życia i sytuacją socjalno-ekonomiczną pacjentów, niż wpływem samego zakażenia [125].

W piśmiennictwie niewiele jest doniesień na temat wpływu koinfekcji HIV/HCV na rozwój miażdżycy. Podobne wyniki do moich uzyskali Sosner i wsp.[105], Tien i wsp.[107], oraz Masia i wsp. [106], nie stwierdzając wpływu zakażenia HCV na rozwój subklinicznej miażdżycy i związku z wartościami cIMT u osób zakażonych HIV. Z kolei Freiberg i wsp. oraz Bedimo i wsp. wykazali zwiększone ryzyko rozwoju chorób sercowo-naczyniowych u pacjentów z koinfekcją HIV/HCV [103,104].

W niniejszej pracy wykazano, że ryzyko sercowo-naczyniowe było niższe wśród pacjentów z koinfekcją HCV, a zachowanie się i znaczenie tradycyjnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego (zaburzeń gospodarki lipidowej, palenia papierosów i nadciśnienia tętniczego) w rozwoju miażdżycy w grupie osób z koinfekcją HCV było inne w porównaniu z grupą osób z monoinfekcją HIV.

W prezentowanym badaniu wśród osób z koinfekcją HIV/HCV obserwowano znamienne niższe stężenia lipidów we krwi: cholesterolu całkowitego, cholesterolu nie-HDL oraz frakcji cholesterolu LDL, w porównaniu do osób z monoinfekcją HIV, a stężenie lipidów w obu podgrupach było niższe niż w grupie kontrolnej. W całej kohorcie odnotowano wyższe stężenia triglicerydów w porównaniu do osób zdrowych, natomiast stężenie to było nieistotnie niższe w podgrupie osób z koinfekcją HCV niż z monoinfekcją HIV. Osoby z koinfekcją HIV/HCV wykazywały także niższe ryzyko chorób sercowo-naczyniowych oceniane wg kryteriów NCEP – ATP III.

Interesująca wydaje się być obserwacja dotycząca różnic w wartościach gospodarki lipidowej w badanych podgrupach. Wyniki niniejszej pracy są zgodne z uzyskanymi przez Masia i wsp., którzy wykazali, że w grupie osób z koinfekcją HIV/HCV stężenia cholesterolu

całkowitego i cholesterolu frakcji LDL były znamienne niższe w porównaniu do osób z monoinfekcją HIV [106]. Sosner i wsp. również wykazali niższe stężenia cholesterolu LDL wśród osób z koinfekcją HIV/HCV, nie odnotowali natomiast różnicy pomiędzy stężeniami cholesterolu całkowitego i cholesterolu HDL [105]. Na uwagę zasługują badania Bedimo i wsp., którzy analizowali zaburzenia gospodarki lipidowej w trzech różnych grupach pacjentów: z koinfekcją HIV/HCV, z monoinfekcją HIV i monoinfekcją HCV [113]. Ich badania również potwierdzają obserwacje uzyskane w niniejszej pracy. Badacze ci stwierdzili także, że zakażenie HCV nie jest niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju lipodystrofii.

Fakt niższych stężeń cholesterolu całkowitego, cholesterolu nie-HDL i LDL wśród osób z koinfekcją HIV/HCV może wynikać ze współistnienia zaburzeń funkcji wątroby, związanych z przewlekłym zapaleniem tego narządu w przebiegu wieloletniego zakażenia HCV. Podobne obserwacje były opisywane w licznych doniesieniach [105,106,113]. Dodatkowo w podgrupie z koinfekcją HIV/HCV znajdują się w większości osoby, o gorszym statusie socjo-ekonomicznym, stosujące przez wiele lat środki odurzające, co mogło mieć również wpływ na stan ich odżywienia. Przyczyną niższych wartości cholesterolu w tej podgrupie, może być także młody wiek kohorty (badani mieli od 34 – 46 lat), niskie wartości BMI oraz palenie papierosów. W całej kohorcie średnie stężenie cholesterolu całkowitego było istotnie niższe niż w grupie kontrolnej, a także niższe w porównaniu do odpowiedniej grupy wiekowej w populacji polskiej [126]. W badaniach wielu autorów spotykane są zbliżone obserwacje [127,128,129,130].

W literaturze istnieją również doniesienia wskazujące na ochronną rolę HCV w rozwoju miażdżycy u osób zakażonych HIV [113,114,115,116]. Podobne doniesienia dotyczą pacjentów z monoinfekcją HCV [117]. Dane pochodzące od różnych badaczy na temat ochronnego znaczenia HCV są niezwykle interesujące w kontekście problemu zaburzeń lipidowych i ryzyka CVD w różnych grupach pacjentów. Z pewnością wymagają dalszych badań nad patogenezą tego zjawiska.

U pacjentów zakażonych HIV wykazano również istotnie wyższe stężenie triglicerydów. Stężenie triglicerydów było również wyższe wśród osób z monoinfekcją HIV, jednak wynik ten był na granicy istotności statystycznej. Stwierdzone zaburzenia w zakresie stężenia triglicerydów są związane z zakażeniem HIV oraz leczeniem antyretrowirusowym. Wyniki wielu badaczy potwierdzają uzyskane dane [90,91].

Wśród innych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego uwagę zwraca znamienne rzadziej występujące nadciśnienie tętnicze u osób z koinfekcją HCV w porównaniu do osób z monoinfekcją HIV, jednak w całej kohorcie nadciśnienie tętnicze występowało istotnie

częściej niż w grupie kontrolnej. Związek rzadszego występowania nadciśnienia tętniczego u osób z koinfekcją HIV/HCV w porównaniu do grupy z monoinfekcją HIV jest trudny do wytłumaczenia. W dostępnym piśmiennictwie nie znalazłam żadnych informacji na ten temat. Jest to na obecnym etapie wiedzy obserwacja trudna do wytłumaczenia na poziomie patogenetycznym. Z kolei podobnie jak w całej badanej grupie pacjentów również w innych badaniach uzyskano podobne wyniki wyrażające się większą częstością występowania nadciśnienia wśród osób żyjących z HIV, zwłaszcza leczonych antyretrowirusowo [131,132,133,134] oraz związku rozwoju nadciśnienia z tradycyjnymi czynnikami ryzyka [135].

W niniejszej pracy nie badano związku pomiędzy zakażeniem HCV a cukrzycą, ze względu na zbyt małą liczbę osób w kohorcie z rozpoznaną cukrzycą w chwili badania (3 osoby). Nie wykazano natomiast różnic w wartości HOMA-IR, zarówno w podgrupie z koinfekcją HIV/HCV i monoinfekcją HIV, jak również w porównaniu do grupy kontrolnej. Również wartości BMI pomiędzy podgrupami nie różniły się istotnie.

Interesująca może wydać się obserwacja, że osoby zakażone HIV wykazywały zamiennie niższe wartości fibrynogenu niż grupa kontrolna. Fibrynogen jest białkiem ostrej fazy i bierze udział w formowaniu skrzepu, w odpowiedzi na proces zapalny. Wydaje się, że u osób zakażonych HIV stężenie tego białka w osoczu powinno być zwiększone, jednak dane w literaturze są sprzeczne. Część autorów obserwuje podwyższone stężenie fibrynogenu w kohortach osób z HIV [129,136], inni natomiast donoszą o jego obniżonych wartościach wśród pacjentów zakażonych [129,137]. Stężenie fibrynogenu może być zależne od rodzaju leków antyretrowirusowych w stosowanej terapii, obserwowano jego wzrost podczas stosowania leków z grupy PI, a obniżenie u osób leczonych NNRTI [138]. W chwili obecnej trudna jest do ustalenia dokładna przyczyna obniżonego stężenia fibrynogenu w badanej kohorcie. Prawdopodobną przyczyną może być gorszy stan odżywienia badanej grupy (niższe wartości BMI), a także współwystępowanie koinfekcji HCV i HIV - które prowadzą do zaburzonej syntezy fibrynogenu [90]. W przedstawianym badaniu nie wykazano różnic w stężeniu fibrynogenu pomiędzy podgrupą z koinfekcją i bez koinfekcji HCV. W kohorcie stwierdzono także wyższe stężenia D-dimerów, nie jest to jednak istotna statystycznie różnica. Nie wykazano natomiast różnic w stężeniach D-dimerów pomiędzy osobami z koinfekcją HIV/HCV a osobami z monoinfekcją HIV.

W niniejszej pracy wykazano większe zaawansowanie subklinicznych zmian miażdżycowych w obrębie tętnic szyjnych w kohorcie osób zakażonych HIV, zarówno z koinfekcją, jak i bez koinfekcji HCV, w porównaniu do grupy kontrolnej.

W analizie regresji wieloczynnikowej wykazano silny wpływ wieku, cholesterolu nie-HDL, nasilenia palenia papierosów oraz kumulatywnego czasu leczenia antyretrowirusowego na parametry subklinicznej miażdżycy w badanej grupie.

W analizie jednoczynnikowej wpływ czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych na rozwój subklinicznej miażdżycy, wyrażonej parametrem cIMT różnił się pomiędzy podgrupami z koinfekcją HIV/HCV i monoinfekcją HIV. W podgrupie pacjentów z koinfekcją HCV wpływ miał wiek, stężenie cholesterolu nie-HDL, kumulatywne leczenie inhibitorami PI, kumulatywne leczenie NRTI i kumulatywne leczenie antyretrowirusowe ogółem. Obserwowano także tendencję dotyczącą wpływu palenia papierosów.

Wiek, palenie papierosów, podobnie jak nadciśnienie tętnicze silnie oddziaływały na rozwój miażdżycy u osób z monoinfekcją HIV. W tej podgrupie również kumulatywne leczenie antyretrowirusowe i kumulatywne leczenie NRTI, ale nie PI, wykazywały wpływ na cIMT. Różnice dotyczą również wpływu czynników na częstość występowania blaszki miażdżycowej. U osób z koinfekcją HIV/HCV wpływ wykazywał tylko wiek badanych, natomiast u osób z monoinfekcją HIV, zarówno wiek, jak i dodatni wywiad rodzinny, nasilenie palenia papierosów oraz kumulatywne leczenie antyretrowirusowe.

Wiek jest tradycyjnym, niemodyfikowalnym czynnikiem ryzyka chorób sercowo-naczyniowych [74,75,76]. W badanej kohorcie wiek wykazywał silny, niezależny wpływ, zarówno na wartości cIMT i cIMT meanmax, wpływał również na częstość występowania blaszki miażdżycowej.

Palenie tytoniu jest tradycyjnym, dającym się modyfikować, silnym, pojedynczym czynnikiem ryzyka wielu chorób, w tym chorób sercowo-naczyniowych. W badanej kohorcie natężenie palenia papierosów było czynnikiem wpływającym na rozwój miażdżycy tętniczych. Prawie 86% badanych miało dodatni wywiad w kierunku palenia papierosów, z czego 58% to osoby nadal palące. Odsetek osób palących w grupie kontrolnej wynosił 33% i jest to wynik porównywalny do polskich danych epidemiologicznych [139]. Brak jest obecnie dokładnych danych statycznych dotyczących palenia tytoniu u osób zakażonych HIV w Polsce. W literaturze natomiast istnieje wiele prac, wskazujących na zwiększoną częstość występowania nałogu palenia papierosów wśród populacji osób żyjących HIV, a także wykazujących związek palenia z nasileniem subklinicznych zmian miażdżycowych [133,140,141,142].

Prawie wszyscy pacjenci z koinfekcją HIV/HCV (95,5%) mieli dodatni wywiad w kierunku palenia papierosów, z czego 62% to osoby nadal palące. Dodatkowo, biorąc po uwagę, że prawie u 82% osób z HCV doszło do zakażenia HIV na drodze dożylnego

stosowania środków odurzających, można przyjąć, że częstość występowania w tej grupie osób różnego rodzaju uzależnień jest duża, a wiąże się to bezpośrednio z preferowanym przez nich stylem życia. Dodatkowo zaobserwowano, że pomimo, iż w podgrupie osób z monoinfekcją HIV palenie papierosów występowało istotnie rzadziej (52,7% osób), jest to czynnik silniej wpływający na rozwój subklinicznej miażdżycy w porównaniu do osób z koinfekcją HIV/HCV.

Uwagę zwraca obserwacja wpływu cholesterolu nie-HDL na zaawansowanie subklinicznej miażdżycy, co szczególnie jest wyraźne w podgrupie z koinfekcją HIV/HCV. Warto podkreślić, że w podgrupie tej stężenie cholesterolu nie-HDL było istotnie niższe, podobnie jak w całej kohorcie, a mimo to wykazano jego wpływ na rozwój subklinicznej miażdżycy tętnic szyjnych. Obserwacja ta w połączeniu z zachowaniem się przedstawianych poniżej wyników markerów dysfunkcji śródbłonna (vWF, sTM i VCAM-1) może wskazywać na obniżenie progu wrażliwości dysfunkcyjnego śródbłonna tętnic na aterogenne działanie cholesterolu nawet przy jego niskich stężeniach.

W dostępnym piśmiennictwie nie odnalazłam doniesień na temat wpływu stężenia cholesterolu nie-HDL na rozwój subklinicznej miażdżycy u osób z koinfekcją HIV/HCV. Corey i wsp. zaobserwowali, że w przebiegu ostrego wirusowego zapalenia wątroby typu C dochodzi do rozwoju hipolipidemii, z niskimi stężeniami cholesterolu nie-HDL i LDL, które utrzymują w przypadku braku leczenia lub braku odpowiedzi na leczenie HCV. Całkowite wyleczenie powoduje normalizację stężeń cholesterolu w badanej grupie[143].

W literaturze można natomiast spotkać wiele publikacji na temat wpływu cholesterolu nie-HDL na rozwój subklinicznej miażdżycy u osób żyjących z HIV [144,145]. Kwiatkowska i wsp., analizując dane dotyczące 2/3 przedstawianej kohorty wykazali tę samą zależność w wieloczynnikowych analizach [90]. Z kolei Currier i wsp. stwierdzili wpływ cholesterolu nie-HDL na progresję miażdżycy i cIMT [146]. Parinello i wsp. odnotowali natomiast, że wśród zakażonych kobiet poddanych leczeniu ARV, wysokie stężenia cholesterolu LDL i nie-HDL wiążą się z wyższymi wartościami cIMT [147]. Powyższe obserwacje, znajdują odzwierciedlenie w najnowszych zaleceniach NCEP ATP III, wskazujących na potrzebę uwzględnienia cholesterolu nie-HDL w ocenie ryzyka sercowo-naczyniowego, a obniżenie jego stężenia traktuje się jako drugorzędny cel prewencji CVD [76].

W niniejszej pracy wśród całej kohorty wykazano niezależny związek pomiędzy wartością cIMT a kumulatywnym leczeniem antyretrowirusowym oraz kumulatywnym leczeniem NRTI, a w podgrupie z koinfekcją HCV również kumulatywnym leczeniem PI.

Obserwacja dotycząca związku wartości cIMT z zakażeniem HCV stanowi oryginalny wynik i nie znalazłam w dostępnej mi literaturze podobnych doniesień na temat wpływu inhibitorów proteazy na zaawansowanie subklinicznej miażdżycy u osób z koinfekcją HIV/HCV. Powyższa obserwacja może wynikać z zaburzonego metabolizmu PI w wątrobie, nieprawidłowego wchłaniania leków, a także wiązania się z osocзовymi proteinami u osób z uszkodzeniem wątroby w przebiegu zakażenia HCV, co skutkuje nasileniem ich toksycznego działania, w tym również na śródbłonek naczyniowy.

Wskazane byłoby pogłębienie badań na ten temat celem ustalenia, na większej grupie pacjentów, skali problemu, co może mieć implikacje terapeutyczne dotyczące podejmowania decyzji o wyborze leczenia antyretrowirusowego u pacjentów z koinfekcją HIV/HCV.

Jedynie w podgrupie z monoinfekcją HIV wykazano korelację pomiędzy występowaniem blaszki, a ogólnym leczeniem antyretrowirusowym. Liczne badania wskazują, że leczenie antyretrowirusowe, wiąże się ze wzrostem ryzyka chorób tętnic obwodowych i wieńcowych [146,148,149]. Jerico i wsp. wykazali, że niezależnie od czynników ryzyka CVD, cART wpływa na rozwój subklinicznej miażdżycy [131]. Przeprowadzono także badania, w których stwierdzono, że u młodych, 26-letnich pacjentów poddanych terapii PI, obserwowano zaawansowane zmiany miażdżycowe [150]. Proaterogenne działanie PI związane jest z indukowanymi przez nie zaburzeniami przemian metabolicznych tkanki tłuszczowej, skutkującymi hiperlipidemią, lipodystrofią oraz insulinoopornością [151]. Wskazuje się również, na udział leków antyretrowirusowych w mechanizmie uszkodzenia śródbłonna naczyniowego. Inhibitory proteazy poprzez zahamowanie ekspresji eNOS, zmniejszają biodostępność NO i wpływają na zwiększenie stresu oksydacyjnego, co w konsekwencji prowadzi do apoptozy komórek i dysfunkcji śródbłonna [152]. Dodatkowo NRTI hamują mitochondrialną beta-polimerazę DNA i prowadzą do wyczerpania mitochondrialnego DNA. Toksyczność mitochondrialna skutkuje nadprodukcją ROS i dalszym uszkodzeniem komórek endotelialnych [153]. Również wyniki dużych programów badawczych, takich jak ANRS, SMART czy STEAL wykazują wpływ poszczególnych leków z grup PI i NRTI na zwiększone ryzyko chorób sercowo-naczyniowych [154,155,156]. Nie stwierdzono wpływu NNRTI na zwiększone ryzyko sercowo-naczyniowe.

## **5.2. Ocena zachowania się wybranych markerów stanu zapalnego, dysfunkcji śródbłonna w osoczu krwi osób zakażonych HIV z koinfekcją HCV**

W przedstawionym badaniu nie wykazano różnicy dla stężenia TNF- $\alpha$  pomiędzy grupą badaną i kontrolną. Nie wykazano istotnego wpływu tradycyjnych czynników ryzyka CVD, parametrów wirusologicznych i immunologicznych, jak również leczenia antyretrowirusowego na stężenie TNF- $\alpha$  w badanej grupie, zarówno w regresji jedno-, jak i wieloczynnikowej. Zaobserwowano wyraźną tendencję wpływu zakażenia HCV na stężenie TNF- $\alpha$ . Stężenie IL-1 $\beta$  było istotnie wyższe w grupie kontrolnej, jednak różnica stężeń w obu grupach była niewielka. Wśród tradycyjnych czynników ryzyka tylko wartość BMI wykazywała ujemną korelację ze stężeniem badanej cytokiny. Stwierdzono natomiast, silny niezależny wpływ kumulatywnego leczenia inhibitorami proteazy na wartości stężenia IL-1 $\beta$ .

Wśród osób zakażonych HIV stężenia markerów uszkodzenia śródbłonna tj. VCAM-1, vWF, TFPI były istotnie wyższe w porównaniu do grupy kontrolnej. Wykazano silny niezależny wpływ zakażenia HCV na stężenia VCAM-1, sTM i vWF.

Stężenie VCAM-1 było istotnie wyższe wśród mężczyzn, a także wykazywało korelację ze stężeniem TNF- $\alpha$  i aktywnością wątrobowych aminotransferaz.

Ze stężeniem trombomoduliny, wśród czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowego, związek wykazywały płeć męska, stężenie cholesterolu HDL oraz dodatni wywiad rodzinny w kierunku chorób sercowo-naczyniowych. Zaobserwowano również wpływ prozapalnych cytokin: TNF- $\alpha$  i IL-1 $\beta$  na stężenie sTM.

W badanej kohorcie wykazano wyższe stężenia czynnika von Willebranda w porównaniu do grupy kontrolnej. Obserwowano także istotnie wyższe stężenia vWF wśród osób zakażonych HIV/HCV. Wykazano również silną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem vWF a stężeniem fibrynogenu i enzymów wątrobowych.

Stężenia czynnika tkankowego nie różniły się pomiędzy osobami zakażonymi HIV a grupą kontrolną. Nie wykazano również statystycznie istotnej różnicy w podgrupach z koinfekcją i bez koinfekcji HCV. Wykazano natomiast ujemną korelację pomiędzy stężeniem TF a aktualną wiramią HIV i liczbą limfocytów CD4+ nadir. Udowodniono, że kumulatywne leczenie antyretrowirusowe, w tym kumulatywne leczenie PI i NRTI wykazują silny niezależny wpływ na stężenie TF w osoczu.



W badanej grupie wykazano istotnie wyższe stężenie TFPI w porównaniu do grupy osób zdrowych, jednocześnie nie stwierdzając różnic pomiędzy podgrupami z koinfekcją i bez koinfekcji HCV. Stężenie TFPI ujemnie korelowało z poziomem HIV RNA oraz liczbą limfocytów T CD4+ nadir, dodatkowo wzrastało u osób leczonych antyretrowirusowo. Stężenie TFPI nie zależało od tradycyjnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego

### 5.2.1 Cytokiny prozapalne

W badanej kohorcie stężenia markerów stanu zapalnego, takie jak: TNF-  $\alpha$  i CRP nie różniły się istotnie w porównaniu do grupy osób zdrowych. W grupie kontrolnej wykazano natomiast wyższe stężenie IL-1 $\beta$ . Pomimo, iż jest to wynik statystycznie istotny, różnica pomiędzy stężeniami w obu grupach jest niewielka. W warunkach zdrowia aktywność IL-1 jest niska, a jej stężenie w surowicy oscyluje w okolicach granicy wykrywalności (<6,5 pg/ml). Zarówno w grupie badanej i kontrolnej, jak i w podgrupach z koinfekcją i bez koinfekcji HCV wartości stężeń IL-1 $\beta$  znajdowały się na granicy wykrywalności. Nie wykazano istotnej różnicy w stężeniach badanych markerów zapalnych pomiędzy podgrupami z koinfekcją i bez koinfekcji HCV. Nie wykazano wpływu zakażenia HCV na stężenie IL-1 $\beta$ . Kreuzer i wsp. zaobserwowali, że IL-1 $\beta$  u zakażonych HIV jest bardzo rzadko wykrywana w surowicy krwi (tylko u 18.8% badanych). Nie wykazali oni również związku pomiędzy stężeniem IL-1 a zaawansowaniem zakażenia HIV. U wszystkich badanych osób zakażonych HIV odnotowali natomiast podwyższone stężenie antagonisty dla receptora IL-1 (IL-1Ra), które silnie korelowało z markerami postępującego deficytu immunologicznego [157]. W dostępnym mi piśmiennictwie nie znalazłam informacji dotyczących zachowania się stężenia IL-1 u osób z koinfekcją HIV/HCV.

Nie wykazano istotnego wpływu tradycyjnych czynników ryzyka CVD, parametrów wirusologicznych i immunologicznych, jak również leczenia antyretrowirusowego na stężenie TNF-  $\alpha$  w badanej grupie, zarówno w regresji jedno-, jak i wieloczynnikowej.

W przypadku IL-1 $\beta$  wśród tradycyjnych czynników ryzyka tylko wartość BMI wykazywała ujemną korelację ze stężeniem badanej cytokiny. Stwierdzono natomiast, zarówno w analizie regresji jedno-, jak i wieloczynnikowej, niezależny wpływ kumulatywnego leczenia inhibitorami proteazy na wartości stężenia IL-1 $\beta$ .

Zaobserwowano także zarówno w analizie regresji jednoczynnikowej, jak i w modelu regresji wieloczynnikowej wyraźną tendencję wpływu zakażenia HCV na wyższe stężenia

TNF- $\alpha$ . Podobne dane uzyskali inni badacze. Nelson i wsp. wykazali wyższe stężenia TNF- $\alpha$  u osób z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C w porównaniu do grupy kontrolnej. Stężenia TNF- $\alpha$  korelowały z markerami uszkodzenia wątroby, nie zaobserwowano jednak związku pomiędzy TNF- $\alpha$  a poziomem HCV RNA [158]. Park i wsp. stwierdzili natomiast, że zakażenie HCV zwiększa apoptozę komórek indukowaną przez TNF- $\alpha$ , poprzez zahamowanie aktywacji jądrowego czynnika  $\kappa$ B, doprowadzając do uszkodzenia wątroby na podłożu immunologicznym [159]. W piśmiennictwie istnieją także liczne obserwacje wykazujące związek pomiędzy poziomem TNF- $\alpha$  a nasileniem procesu zapalnego i włóknienia wątroby w przebiegu zakażenia HCV [160,161]. Z kolei Sitia i wsp. wykazali istotnie wyższą ekspresję TNF- $\alpha$  mRNA w wątrobie u pacjentów z koinfekcją HIV/HCV nieleczonych antyretrowirusowo w porównaniu do grup z monoinfekcją HCV i koinfekcją HIV/HCV poddanych terapii antyretrowirusowej [162].

W całej badanej grupie stężenia markerów stanu zapalnego nie różniły się istotnie od ich stężeń w grupie kontrolnej. W literaturze wykazano dodatnią zależność pomiędzy markerami stanu zapalnego, głównie hsCRP, IL-6, IL-1, TNF- $\alpha$ , a poziomem wirusii HIV [86,88]. W niniejszym badaniu większość pacjentów leczonych (81,4%), miała wartości HIV RNA poniżej progu detekcji, co wskazuje na znaczne hamowanie replikacji HIV i tym samym zahamowanie w znacznym stopniu przewlekłego pobudzenia układu immunologicznego, a także może tłumaczyć uzyskane przez nas wyniki badań. Nie wykazano natomiast zależności pomiędzy wirusią HIV a stężeniami badanych cytokin prozapalnych. Autorzy różnych badań wskazują, że u osób poddanych terapii antyretrowirusowej, pomimo spadku stężenia markerów zapalnych i dobrej kontroli wirusii, w dalszym ciągu jest obecny nasilony stan zapalny [163]. Aukrust i wsp. wykazali spadek stężenia TNF- $\alpha$  o 25% po 78 tygodniach od rozpoczęcia cART, jednak stężenie to nigdy nie osiągnęło wartości dla zdrowych osób [164]. Badacze SMART z kolei zauważyli znaczący wzrost stężenia D-dimerów i IL-6 w miesiąc po przerwaniu leczenia antyretrowirusowego [165]. Torriani i wsp. zaobserwowali natomiast nagłą poprawę funkcji śródbłonna po rozpoczęciu cART [166]. Ross i wsp. wykazali, że u osób leczonych cART, stężenia cytokin zapalnych i markerów uszkodzenia śródbłonna są porównywalne do stężeń u zdrowych osób. Ponadto u nieleczonych osób zakażonych HIV, nawet przy dobrze kontrolowanej liczbie limfocytów T CD4+, wirusii HIV i BMI, stężenia markerów aktywacji śródbłonna były istotnie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną i grupą otrzymującą cART [163]. Również Arildsen i wsp. zaobserwowali zwiększoną aktywację śródbłonna, wyższe stężenia markerów zapalnych i hemostazy wśród osób zakażonych HIV, nie poddanych terapii antyretrowirusowej [167]. W piśmiennictwie istnieją jednak prace

wskazujące na udział leków antyretrowirusowych w mechanizmie uszkodzenia śródbłonka naczyniowego i zwiększenia ryzyka sercowo-naczyniowego [135,137].

W prezentowanym badaniu stwierdzono wpływ kumulatywnego leczenia inhibitorami proteazy na zwiększone stężenie IL-1 $\beta$ . Sadeghi i wsp. wykazali spadek stężenia IL-1 oraz wzrost stężenia antagonisty dla receptora IL-1 po 8-miesięcznym kursie terapii antyretrowirusowej u osób zakażonych HIV [168]. Powyższą obserwację można tłumaczyć, nie tyle bezpośrednim wpływem stosowanych leków na poziom interleukiny, a zaistniałymi powikłaniami wynikającymi z wieloletniego i kumulującego się działania inhibitorów proteazy, powodującego zwiększenie stężenia IL-1.

Brakuje danych z piśmiennictwa, aby wyjaśnić zaistniałą ujemną korelację pomiędzy stężeniem IL-1 $\beta$ , a wartością BMI. W literaturze istnieją prace traktujące o roli IL-1 w rozwoju zaburzeń odżywiania, takich jak anorexia nervosa czy bulimia, i wykazujące ujemny wpływ IL-1 na wartości BMI [169]. Dotychczas nie przedstawiono doniesień traktujących o zależności IL-1 i BMI wśród osób zakażonych HIV. W badaniach na hodowlach komórkowych adipocytów wykazano stymulujące działanie lipolityczne IL-1 [170]. Nie jest wykluczone zatem, że lipodystrofia (nie badana w pracy), związana ze stosowaniem leczenia antyretrowirusowego, której następstwem u niektórych pacjentów w kohorcie, poza cechami redystrybucji tkanki tłuszczowej, są niedobory masy ciała, ma związek z wyższym stężeniem prozapalnej cytokiny, jaką jest IL-1.

## **5.2.2 Markery dysfunkcji śródbłonka i hemostazy**

W badanej kohorcie pacjentów zakażonych HIV (zróznicowanej pod względem koinfekcji HCV), pomimo dobrze kontrolowanej wirerii HIV i niskiej aktywności stanu zapalnego, stężenia markerów uszkodzenia śródbłonka tj. VCAM-1, vWF, TFPI były istotnie wyższe w porównaniu do grupy kontrolnej. Tylko stężenie VCAM-1 było wyższe u osób z monoinfekcją HIV w porównaniu do osób niezakażonych. W analizie jednoczynnikowej wykazano, że stężenia VCAM-1, vWF i sTM były istotnie wyższe u osób z koinfekcją HCV w porównaniu do osób bez tej koinfekcji, a wieloczynnikowa analiza regresji wskazuje na silny, niezależny wpływ koinfekcji HCV na wzrost wszystkich badanych markerów dysfunkcji śródbłonka u osób zakażonych HIV.

Podobne obserwacje w odniesieniu do zakażenia HIV można odnaleźć w przeważającej większości doniesień. Przetrwały stan zapalny w przebiegu zakażenia HIV, a także działanie

leków antyretrowirusowych wpływają na uszkodzenie i nieprawidłową funkcję śródbłonka, co skutkuje ekspresją ogólnie uznanych markerów dysfunkcji śródbłonka, takich jak: VCAM-1, trombomodulina i czynnik von Willebranda. Seigneur i wsp. stwierdzili istotnie wyższe stężenia vWF oraz VCAM-1 i ICAM-1 wśród osób zakażonych HIV w porównaniu do grupy kontrolnej. Wykazali również, że stężenia vWF i VCAM-1 odwrotnie korelują z liczbą limfocytów T CD4+, a uszkodzenie śródbłonka zależy od etapu zakażenia HIV. Udowodnili również korelację pomiędzy stężeniami VCAM-1, ICAM-1, sTM i vWF a poziomem TNF- $\alpha$  [171]. Również Lafeuillade i wsp. odnotowali istotny wzrost vWF wraz z progresją zakażenia HIV, a także bliską korelację pomiędzy stężeniem vWF i liczbą komórek T CD4+ i beta-2 – mikroglobuliną [89]. Larranaga i wsp. w swoim badaniu porównywali natomiast stężenia markerów dysfunkcji w trzech grupach pacjentów: osób nieleczonych ARV, osób leczonych antyretrowirusowo z lipodystrofią i osób leczonych bez cech lipodystrofii. Wykazali, że stężenia sVCAM-1, vWF i sTM były istotnie wyższe u osób nieleczonych, sVCAM było istotnie niższe, a vWF i sTM nieistotnie niższe u osób otrzymujących HAART, u których nie obserwowano objawów lipodystrofii. Zaobserwowali również, że pacjenci z lipodystrofią mieli istotnie wyższe stężenia wszystkich trzech markerów w porównaniu do osób bez cech lipodystrofii. Odnotowali także, że pacjenci leczeni antyretrowirusowo z lipodystrofią częściej prezentowali aterotrombotyczny profil lipidowy z wysokimi stężeniami triglicerydów, cholesterolu LDL oraz apolipoproteiny-B [88].

Obserwacja dotycząca wpływu koinfekcji HCV u osób żyjących z HIV na zwiększone osoczowe stężenia VCAM-1, vWF i sTM, wpisuje się w nurt dotychczas publikowanych doniesień. De Castro i wsp. stwierdzili znacznie podwyższone stężenia rozpuszczalnych molekuł adhezyjnych sVCAM-1 i sICAM-1 w surowicy krwi w przebiegu koinfekcji HIV/HCV [110]. Podobne obserwacje opisują Masia i wsp. Osoby z koinfekcją HCV wykazywały istotnie wyższe stężenia VCAM-1 i ICAM-1 w porównaniu do osób z monoinfekcją HIV [106]. W innym badaniu Masia i wsp. zaobserwowali znaczący spadek poziomu powyższych adhezyn oraz TNF- $\alpha$  po leczeniu pegylowanym interferonem i rybawiryną [111]. Larranaga i wsp. wykazali wyższe stężenie glukozy, insulinooporności, markerów dysfunkcji śródbłonka (vWF, VCAM-1, ICAM-1, sTM) oraz markera aktywacji płytek krwi (P-selektyny), równoległe z niskim poziomem komórek CD4+ i wysoką wiremią HIV, u pacjentów z koinfekcją HCV poddanych terapii antyretrowirusowej. Stwierdzili również niezależny związek pomiędzy zakażeniem HCV a stężeniem glukozy, P-selektyny oraz czynnika von Willebranda [112].

W prezentowanej pracy zbadano także wpływ tradycyjnych czynników ryzyka CVD, parametrów wirusologicznych i immunologicznych, a także leczenia antyretrowirusowego na stężenia poszczególnych markerów dysfunkcji śródbłonka w analizach jedno- i wieloczynnikowych.

Stężenie VCAM-1 zarówno w regresji jedno-, jak i wieloczynnikowej silnie zależało od zakażenia HCV. Nie wykazano wpływu zakażenia HIV ani leczenia antyretrowirusowego na stężenia VCAM-1. Zaobserwowano natomiast, że stężenia VCAM-1 były istotnie wyższe wśród mężczyzn. W regresji wieloczynnikowej wykazano wpływ płci oraz stężenia TNF- $\alpha$  na wartości VCAM-1. Stwierdzono także niezależną korelację pomiędzy aktywnością ALT a VCAM-1. Nie odnotowano związku pomiędzy tradycyjnymi czynnikami ryzyka chorób sercowo-naczyniowego a stężeniem adhezyny.

Powyżej opisano doniesienia raportujące o zwiększonym stężeniu VCAM-1 w surowicy krwi u chorych z koinfekcją HIV/HCV [108,110,111,112]. Wpływ prozapalnych cytokin, w tym TNF- $\alpha$ , na ekspresję cząsteczek adhezyjnych, zarówno w procesach fizjologicznych, jak i w przebiegu zakażeń HIV i HCV jest w literaturze dobrze udokumentowany. Wielu autorów wskazuje również, że stężenia cząsteczek adhezyjnych korelują z uszkodzeniem wątroby w przebiegu zakażenia HCV [172,173]. Odnotowano zależność pomiędzy stężeniem VCAM-1 a procesem zapalnym toczącym się w przebiegu włóknienia wątroby [174]. Masia i wsp. stwierdzili ścisłą korelację pomiędzy stężeniami VCAM-1 i ICAM-1, a wskaźnikami włóknienia wątroby APRI i FIB-4 u osób z koinfekcją HIV/HCV [106].

W naszym badaniu nie oceniano zaawansowania włóknienia w wątrobie, natomiast u wszystkich pacjentów z koinfekcją HCV aktywności aminotransferaz w momencie badania były niższe od 5-krotnego wzrostu. Jednak zaobserwowany związek pomiędzy aktywnością ALT i stężeniem VCAM-1 w badanej grupie, oraz znamienne wyższe stężenia obu parametrów u osób z koinfekcją HCV, mogą wskazywać na toczący się proces zapalny w wątrobie, z udziałem markerów uszkodzenia śródbłonka.

Uwagę zwraca obserwacja, że mężczyźni wykazują wyższe stężenia VCAM-1, a płeć męska jest niezależnym czynnikiem wpływającym na stężenie VCAM-1 w regresji jedno-, jak i wieloczynnikowej. W dostępnej literaturze brakuje doniesień traktujących o zwiększonym stężeniu VCAM-1 u mężczyzn zakażonych HIV z koinfekcją HCV. Prowadzone natomiast są liczne badania *in vitro* i *in vivo*, próbujące wyjaśnić mniejsze ryzyko zdarzeń sercowo-naczyniowych wśród kobiet w wieku rozrodczym. Nathan i wsp. w badaniach na królikach doświadczalnych *in vivo*, zaobserwowali niższą ekspresję VCAM-1 u zwierząt otrzymujących otrzymujących estradiol w porównaniu do otrzymujących placebo [175]. Mukherjee i wsp.

wykazali, że estrogeny wpływają na zwiększoną produkcję NO w śródbłonku naczyniowym, a działanie estrogenów wykazuje duże podobieństwo do działania NO. Modulacja ekspresji VCAM-1 odbywa się poprzez indukcję różnych czynników transkrypcyjnych. Wydzielanie NO hamuje zależną od cytokin ekspresję VCAM-1 i transkrypcję genów dla VCAM-1. Estrogeny wykazują dużą zdolność do hamowania VCAM-1 mRNA, a co za tym idzie ekspresję powierzchniowych białek [176]. Pomimo, iż przeciwzapalne działanie estrogenów na komórki endothelium zostało dobrze udokumentowane, to jednak rola hormonów płciowych w regulacji odpowiedzi śródbłonka na procesy zapalne nie jest dokładnie poznana.

W omawianym badaniu wykazano także niższe stężenia VCAM-1 u osób leczonych antyretrowirusowo w porównaniu do osób nieleczonych. Nie wykazano jednak wpływu kumulatywnego leczenia antyretrowirusowego, ani leczenia kumulatywnego poszczególnymi klasami leków antyretrowirusowych na stężenie VCAM-1. W literaturze wielu autorów opisywało istotnie niższe stężenia VCAM-1 u pacjentów otrzymujących cART w porównaniu do osób nieleczonych [88,163,166]. Powyższa obserwacja, może sugerować, że na obniżenie VCAM-1, nie wpływa bezpośrednio leczenie antyretrowirusowe *per se*, ale poprzez „wygaszanie” procesu zapalnego, może poprawiać funkcję śródbłonka.

W przedstawionym badaniu wykazano, że na stężenie trombomoduliny silny, niezależny wpływ wywiera obecność zakażenia HCV. Wśród czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych związek wykazuje płeć męska oraz stężenie cholesterolu HDL. W regresji wieloczynnikowej zaobserwowano wpływ płci badanych osób oraz dodatniego wywiadu rodzinnego. Wykazano również wpływ prozapalnych cytokin: TNF- $\alpha$  i IL-1 $\beta$  na stężenie TM.

Podwyższone stężenie rozpuszczalnej trombomoduliny w osoczu krwi uważa się za marker dysfunkcji śródbłonka [88,171]. Zjawisko to można wyjaśnić wpływem cytokin prozapalnych tj. IL-1 oraz TNF- $\alpha$  na sTM, powodującym wzrost jej stężenia w osoczu [71,177]. Wydzielane przez komórki śródbłonka prozapalne cytokiny hamują przeciwzakrzepowe działanie trombomoduliny [71] oraz obniżają jej działanie przeciwzapalne [72].

U osób zakażonych HIV wykazano wyższe stężenia rozpuszczalnej trombomoduliny w porównaniu do osób zdrowych [88,171]. Seigneur i wsp. stwierdzili zwiększone stężenia sTM wśród osób zakażonych HIV. Wykazali również, że jej poziom koreluje ze stężeniem beta-2-mikroglobuliny (wskaźnikiem immunologicznej aktywacji), białkiem p24 (wskaźnikiem replikacji wirusa) oraz stężeniem IFN- $\alpha$  [171]. Larranaga i wsp. zaobserwowali natomiast

istotnie wyższe stężenia sTM wśród osób zakażonych HIV otrzymujących HAART z rozpoznaną lipodystrofią, w porównaniu do grupy bez lipodystrofii i grupy nieleczonych. W piśmiennictwie istnieją także doniesienia wskazujące na zwiększone stężenia trombotomoduliny w przebiegu zakażenia HCV [112].

W przedstawianym badaniu nie wykazano różnic w zakresie stężeń sTM pomiędzy pacjentami zakażonymi HIV a grupą zdrowych osób. Zaobserwowano natomiast znamienne wyższe stężenie rozpuszczalnej trombotomoduliny u osób z koinfekcją HCV. Prawdopodobnie, powyższa obserwacja wynika z faktu, że osoby zakażone HIV w chwili badania były w stabilnym stadium zakażenia, miały wyrównane parametry immunologiczne i wirusologiczne, wykazywały też niskie stężenia markerów zapalnych, co mogłoby świadczyć o ustabilizowanym procesie zapalnym. Dlatego też stężenie trombotomoduliny, uznanego markera uszkodzenia śródbłonna, było porównywalne do stężenia zdrowych osób. Dopiero zaistnienie dodatkowego czynnika, wykazującego uszkodzające działanie na komórki śródbłonna, jakim wydaje się być zakażenie HCV, spowodowało wzrost stężenia sTM.

W badanej grupie wykazano wyższe stężenia trombotomoduliny wśród mężczyzn. W swoim Blann i wsp. badając wpływ wieku, płci i grupy krwi z układu AB0 na stężenia VCAM-1, selektyny P i E, vWF oraz sTM, wykazali istotnie niższe stężenia trombotomoduliny wśród kobiet [178]. Z kolei Richardson i wsp. wykazali obniżenie stężenia sTM w surowicy wśród kobiet stosujących 17beta – estradiol [179]. Podobne obserwacje opisali Quehenberger i wsp. Kobiety stosujące doustną antykoncepcję hormonalną wykazywały istotnie niższe stężenie sTM, osoczonego białka S, natomiast wyższe wartości D-dimerów, antygenu czynnika VII i protrombiny [180].

Interesująca wydaje się być obserwacja odwrotnej korelacji pomiędzy stężeniem sTM a dodatnim wywiadem rodzinnym w kierunku chorób sercowo-naczyniowych. W dostępnej literaturze znaleziono tylko jedną pracę opisującą powyższe zagadnienie. Konstantoulas i wsp. stwierdzili istotnie niższe stężenia sTM u osób z dodatnim wywiadem sercowo-naczyniowym. Autorzy wysunęli wnioski, że powyższa obserwacja może wskazywać na genetyczne tło rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, wyrażone niskimi stężeniami trombotomoduliny [181].

Zaobserwowaliśmy także ujemną korelację pomiędzy stężeniem cholesterolu HDL i sTM. Podobną obserwację opisali Leurs i wsp., badając stężenia poszczególnych markerów dysfunkcji śródbłonna u pacjentów z nietolerancją glukozy i cukrzycą typu 2. Wykazali oni ujemną korelację pomiędzy stężeniami cholesterolu HDL i sTM u starszych pacjentów

z nietolerancją glukozy [182]. Analogiczną zależność zaobserwowali Aso i wsp. wśród pacjentów z cukrzycą typu 2 [183].

W modelu regresji wieloczynnikowej wykazano dodatni wpływ zakażenia HCV, aktualnej wartości HIV RNA oraz leczenia kumulatywnego NRTI na stężenie sTM. Leki z grupy NRTI wykazują uszkadzające działanie na komórki śródbłonna, poprzez indukowanie mitochondrialnej toksyczności i wzrostu stresu oksydacyjnego [153]. Aktywne zakażenie HIV (o czym świadczyłyby podwyższone wartości HIV RNA), towarzysząca koinfekcja HCV i toksycznie działające na komórki endotelialne leki antyretrowirusowe, wydają się być czynnikami silnie uszkadzającymi śródbłonek, prowadząc do jego dysfunkcji i zwiększenia rozpuszczalnej trombonduliny we krwi.

W badanej kohorcie wykazano wyższe stężenia czynnika von Willebranda w porównaniu do grupy kontrolnej. Obserwowano także istotnie wyższe stężenia vWF wśród osób zakażonych HIV/HCV w porównaniu do osób z monoinfekcją HIV. Wykazano silną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem vWF a stężeniem fibrynogenu w badanej grupie. Odnotowano również wpływ nasilenia aktywności aminotransferaz na wartości vWF.

Czynnik von Willebranda jest uznawany za marker uszkodzenia i aktywacji śródbłonna [171]. W piśmiennictwie istnieje wiele prac wskazujących na zwiększone stężenie vWF u osób zakażonych HIV. Dodatkowo vWF jest uznawany za marker progresji choroby i wykazuje ścisłą korelację z liczbą limfocytów T CD4+ [88,89,163,171,184]. Lafeuillade i wsp. wykazali istotny wzrost stężenia vWF wraz z progresją zakażenia HIV, a także ujemną korelację między stężeniem vWF i liczbą limfocytów T CD4+ oraz beta2-mikroglobuliną [89]. Również Seigneur i wsp. stwierdzili ujemną korelację pomiędzy stężeniem vWF a liczbą limfocytów T CD4+, dodatkowo wykazali dodatni związek ze stężeniem IFN- $\alpha$  i TNF- $\alpha$  [171]. Z kolei Larranaga i wsp. obserwowali istotnie wyższe stężenia vWF wśród osób nieleczonych antyretrowirusowo, w porównaniu do grupy kontrolnej i osób poddanych leczeniu [88]. Podobną obserwację oraz dodatkowo dodatnią korelację ze stężeniem VCAM-1 i ICAM-1 u pacjentów otrzymujących HAART odnotowali Ross i wsp. [163]. Natomiast Aukrust i wsp. wskazali na fakt, że silnymi predyktorami wysokiego stężenia vWF są wiremia HIV, TNF- $\alpha$  oraz niska liczba limfocytów T CD4+. Badacze zaobserwowali również istotny spadek poziomu vWF po rozpoczęciu HAART, jednak jego stężenie było nadal wyższe niż w grupie kontrolnej, a redukcja stężenia vWF korelowała z polekowym spadkiem HIV RNA [184]. W niniejszej pracy nie wykazano związku pomiędzy stężeniem vWF a liczbą limfocytów T CD4+, aktualną wiremią HIV czy leczeniem antyretrowirusowym.



W literaturze dostępnych jest niewiele doniesień na temat wpływu koinfekcji HCV na stężenie vWF u osób zakażonych HIV. Larranaga i wsp. wykazali wyższe stężenie vWF równoległe z niską liczbą komórek T CD4+ i wysoką wiremią HIV u pacjentów z koinfekcją HCV, poddanych terapii antyretrowirusowej. Stwierdzili również, że zakażenie HCV jest silnym niezależnym czynnikiem wpływającym na stężenie vWF [112].

Fibrynogen jest osoczkowym czynnikiem krzepnięcia, a także białkiem ostrej fazy i bierze udział w formowaniu skrzepu, w odpowiedzi na proces zapalny. Jego stężenie wzrasta w przebiegu nieswoistych stanów zapalnych, jak również w cukrzycy, chorobach sercowo-naczyniowych, otyłości, zespole metabolicznym, hipercholesterolemii i niewydolności nerek [185]. Fibrynogen wywiera także niekorzystny wpływ na ścianę naczyniową, zwiększając jej przepuszczalność, a także powoduje proliferację i migrację komórek mięśni gładkich [186,187]. Na podstawie bogatego przeglądu literatury Montalescot i wsp. wykazali, że fibrynogen jest silniejszym niż cholesterol czynnikiem ryzyka choroby wieńcowej [188]. Czynniki von Willebranda, jest z kolei uważany za marker aktywacji i uszkodzenia śródbłonna, a pośrednio jest odzwierciedleniem zawansowania subklinicznej miażdżycy. Obserwowana w prezentowanym badaniu dodatnia korelacja pomiędzy stężeniem fibrynowemu i vWF, wskazuje na aktywny proces zapalny i dysfunkcję śródbłonna w badanej grupie osób. Jest to prawdopodobnie pierwsza taka obserwacja w kohorcie osób zakażonych HIV. Wyjaśnienie mechanizmu wzajemnej korelacji, a także określenie znaczenia prognostycznego w rozwoju miażdżycy wymaga przeprowadzenia dalszych badań.

Wzrost stężenia vWF obserwowany jest również w przebiegu chorób wątroby. La Mura i wsp. wykazali podwyższone stężenia vWF u pacjentów z marskością wątroby i nadciśnieniem wrotnym. Wskazują, że czynnik von Willebranda może stanowić niekorzystny marker progresji choroby [189]. Antonova i wsp. zaobserwowali z kolei, że wysokie stężenia VCAM-1 i vWF, korelowały z aktywnością wątrobowych aminotransferaz u osób z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C. Wykazali również istotnie wyższe stężenie vWF u osób ze zwłóknieniem wątroby [190]. W przedstawionym badaniu również wykazaliśmy korelacje pomiędzy aktywnością aminotransferaz w surowicy krwi, a stężeniem czynnika von Willebranda. Biorąc pod uwagę istotnie wyższe stężenia vWF, jak i aktywności aminotransferaz u osób z koinfekcją HIV/HCV, powyższa obserwacja może wskazywać na tłący się proces zapalny i uszkodzenie śródbłonna naczyniowego w wątrobie w tej grupie pacjentów.

Stężenia czynnika tkankowego nie różniły się istotnie pomiędzy osobami zakażonymi HIV a grupą kontrolną. Nie wykazano również statystycznie znamiennej różnicy w podgrupach

z koinfekcją i bez koinfekcji HCV. Wykazano natomiast ujemną korelację pomiędzy stężeniem TF a aktualną wiremią HIV i liczbą limfocytów T CD4+ nadir. Udowodniono, że kumulatywne leczenie antyretrowirusowe, w tym kumulatywne leczenie PI i NRTI wykazują silny niezależny wpływ na stężenie TF w osoczu. Dodatkowo zaobserwowano, że u pacjentów leczonych antyretrowirusowo, z dobrą odpowiedzią na leczenie i wartościami HIV RNA poniżej progu detekcji, występują istotnie wyższe stężenia TF, a wśród osób z wysokimi wartościami TF nie było osób nieleczonych. Co więcej, pacjenci z wysokimi stężeniami TF (>450pg/ml) byli starsi, mieli bardziej zaawansowaną subkliniczną miażdżycę, wyższe wartości skurczowego ciśnienia tętniczego, a także dłużej byli leczeni antyretrowirusowo. Ponadto pacjenci leczeni PI (atazanawir, rytonawir) lub NRTI (abakawir) mieli istotnie częściej wyższe stężenia TF w porównaniu z grupą osób nieleczonych powyższymi preparatami. Obserwacje te ze względu na małe grupy pacjentów dla poszczególnych preparatów, wymagają dalszych poszerzonych badań.

Nie wykazano wpływu tradycyjnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego i zakażenia HCV na stężenia TF.

Zakażenie HIV prowadzi do aktywacji procesów krzepnięcia, które może prowadzić do rozwoju miażdżycy oraz żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej. Zaobserwowano, że im większy stopień zaawansowania zakażenia (AIDS, liczba limfocytów T CD4+ < 200 kom/μl), tym większe ryzyko powikłań zakrzepowo-zatorowych. Czynnikiem inicjującym kaskadę krzepnięcia w torze zewnątrzpochoďnym jest czynnik tkankowy. Wytwarzanie TF w komórkach śródbłónka indukowane jest przez prozapalne cytokiny (TNF-α i IL-1β), a także oxLDL, trombinę, VEGF [88,89]. Stężenie TF w surowicy krwi nie zawsze koreluje z aktywnością TF, a jest to związane z jednoczesną produkcją TFPI przez komórki śródbłónka. W przebiegu zakażenia HIV dochodzi do wzrostu ekspresji TF na powierzchni zaktywowanych monocytów. Funderburg i wsp. wykazali, że ekspresja TF na monocytach koreluje z poziomem HIV RNA, koreceptorem CD14 oraz stężeniem D-dimerów [87,191]. Także Ford i wsp. odnotowali zwiększoną ekspresję TF na monocytach osób zakażonych HIV, co wiązało się ze zwiększonym ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych [148]. W dostępnej literaturze nie odnaleziono publikacji opisujących wpływ leczenia antyretrowirusowego na stężenia TF w osoczu.

W przedstawionym badaniu stężenie TF jest wyższe w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną, ale różnica ta nie jest istotna, pomimo większego zaawansowania subklinicznej miażdżycy u osób zakażonych HIV. W kohorcie stwierdzono również wyższe stężenia TFPI, w porównaniu do osób zdrowych. Powyższa obserwacja może wynikać

z krótkiego czasu działania i szybkiej eliminacji TF z krążenia, przy jednoczesnym wysokim stężeniu TFPI, który odgrywa istotną rolę w usuwaniu wydzielanego TF [66].

Na podstawie własnych obserwacji można wyciągnąć wnioski, że u pacjentów leczonych antyretrowirusowo, z dobrą odpowiedzią na leczenie, wyrażającą się wartościami HIV RNA poniżej progu detekcji, uszkodzenie śródbłonka jest wynikiem toksycznego działania leków antyretrowirusowych, szczególnie z grupy PI i NRTI, czego wyrazem jest zwiększone stężenie TF w osoczu tych osób. Dysfunkcja śródbłonka i wysokie wartości TF wiążą się ze zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym, większym zaawansowaniem subklinicznych zmian miażdżycowych i zwiększonym ciśnieniem tętniczym.

Wykazano także, że przy niskiej liczbie limfocytów T CD4+ nadir istotnie wzrastało stężenie TF. Liczba limfocytów T CD4+ nadir odzwierciedla głęboki deficyt odpornościowy w przeszłości, a także jest związana z przewlekłą aktywacją układu immunologicznego przetrwałą mikrobiologiczną translokacją [192]. Coraz więcej badań wskazuje, że niski nadir limfocytów T CD4+ (<50 kom/ul), jest niekorzystnym markerem prognostycznym przebiegu chorób niezwiązanych z AIDS. Manner i wsp. wykazali, że nadir limfocytów T CD4 jest niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju nadciśnienia tętniczego u osób żyjących z HIV [193]. Z kolei Hsue i wsp. wykazali, że nadir limfocytów CD4+ <200 kom/ul jest niezależnym predykatorem progresji subklinicznej miażdżycy [192]. W dostępnej literaturze nie odnaleziono opisanej korelacji pomiędzy stężeniem TF a liczbą limfocytów T CD4+ nadir, może ona wynikać z utrzymującej się przetrwałej aktywacji śródbłonka naczyniowego.

U osób zakażonych HIV wykazano istotnie wyższe stężenia TFPI w porównaniu do grupy kontrolnej, jednocześnie nie stwierdzając różnic pomiędzy podgrupami z koinfekcją i bez koinfekcji HCV. Stężenie TFPI ujemnie koreluje z aktualnym poziomem HIV RNA oraz liczbą limfocytów T CD4+ nadir, dodatkowo wzrasta u osób leczonych antyretrowirusowo. Nie wykazano jednak wpływu kumulatywnego leczenia antyretrowirusowego i kumulatywnego leczenia klasami poszczególnych leków na stężenie TFPI. Zależy ono od tradycyjnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego, im większe ryzyko sercowo-naczyniowe oceniane wg kryteriów NCEP ATP III, im wyższe stężenia cholesterolu całkowitego, cholesterolu LDL i nie – HDL tym wyższe stężenia TFPI

TFPI jest podstawowym czynnikiem hamującym zewnątrzpochodny układ krzepnięcia krwi oraz bierze udział w regulacji mechanizmów hemostazy. Obserwuje się podwyższone jego stężenia zwłaszcza wśród chorych na zarostową miażdżycę tętnic kończyn dolnych, chorobę Buergera, hiperlipidemię, chorobę niedokrwienną serca czy cukrzycę [64,66]. Natomiast

w dostępnym mi piśmiennictwie nie znalazłam informacji dotyczących zachowania się stężenia TFPI u osób zakażonych HIV.

Prawie 90% krążącego TFPI jest związane z osoczowymi lipoproteinami [194]. Hansen i wsp. zaobserwowali, korelację pomiędzy stężeniem TFPI a stężeniem frakcji cholesterolu LDL u pacjentów z rodzinną hipercholesterolemią [195]. Badania Saito i wsp. wykazały natomiast istotnie wyższe stężenia TF i TFPI wśród osób z hiperlipidemią, nie wykazujących objawów chorób sercowo-naczyniowych [196]. Z kolei Radziwon i wsp. odnotowali podwyższone stężenie TFPI u osób w podeszłym wieku, korelowało ono również z nasileniem zmian zapalnych i rozwojem zmian miażdżycowych [66]. Sakkinen i wsp. opisali natomiast korelację pomiędzy TFPI a stężeniem fibrynogenu i poziomem cholesterolu LDL w kohorcie starszych osób. Wskazywali oni także, na związek TFPI z subklinicznymi zmianami miażdżycowymi i sugerują, że zwiększone stężenie TFPI w surowicy może stanowić odzwierciedlenie stopnia uszkodzenia śródbłonna [197].

W niniejszej pracy stwierdzono korelację pomiędzy stężeniem TFPI a poszczególnymi aterogennymi frakcjami cholesterolu, natomiast nie wykazano związków ze stężeniem fibrynogenu. Zaobserwowano ujemną korelację pomiędzy TFPI a poziomem HIV RNA. Jest to oryginalna obserwacja, która wymaga dalszych badań pozwalających na ustalenie skali i znaczenia tego zjawiska.

Wysokie stężenia TFPI wśród osób z niewykrywalnym HIV RNA, mogą, podobnie jak w przypadku TF, świadczyć o uszkodzeniu śródbłonna wynikającego z leczenia antyretrowirusowego. Co prawda, nie odnotowaliśmy wpływu kumulatywnego leczenia antyretrowirusowego, ani kumulatywnego leczenia poszczególnymi grupami leków na wartości TFPI, natomiast stężenie TFPI było istotnie statystycznie wyższe wśród osób leczonych ( $p=0,0003$ ), w porównaniu do osób nie poddanych terapii antyretrowirusowej.

W prezentowanym badaniu wykazano także słabą dodatnią korelację pomiędzy stężeniami TF a TFPI w grupie badanej i ujemną w grupie kontrolnej. Falciani i wsp. opisują podobną zależność wśród osób z chorobą niedokrwienną serca [198]. Powyższa obserwacja może wynikać z większego zaawansowania subklinicznej miażdżycy u osób zakażonych HIV, a zwiększone stężenie TFPI w surowicy jest odpowiedzią na wzrost ekspresji TF przez uszkodzone komórki śródbłonna i zaktywowane monocyty.

Wśród badanych markerów dysfunkcji śródbłónka jedynie TF i TFPI istotnie wpływały na wartości cIMT w kohorcie. Po zastosowaniu modelu regresji wieloczynnikowej wykazano silny niezależny wpływ TF na wartości cIMT.

TF istotnie wpływał także na wartości cIMT i cIMT meanmax u osób zakażonych HIV/HCV, natomiast TFPI wykazywał związek z cIMT w grupie osób z monoinfekcją HIV.

Wyniki badań z ostatnich lat wskazują na udział zewnątrzpochodnej drogi krzepnięcia w zaburzeniach hemostazy i powikłaniach zakrzepowo-zatorowych w przebiegu chorób sercowo-naczyniowych i miażdżycy. Główną rolę w tym mechanizmie odgrywa czynnik tkankowy, który jest najważniejszym czynnikiem inicjującym kaskadę krzepnięcia w torze zewnątrzpochodnym [199]. Przyjmuje się, że trombogenność blaszki miażdżycowej zależy od obecności w niej czynnika tkankowego.

Wzrost ekspresji TF, a także dysfunkcja śródbłónka i sekrecja prozapalnych cytokin, wiążą się ze wzrostem prozakrzepowych właściwości krwi u osób żyjących z HIV. W retrospektywnym badaniu Forda i wsp. obserwowano wyższe stężenia rozpuszczalnego TF u pacjentów zakażonych HIV, którzy przebyli incydent sercowo-naczyniowy [148]. W dostępnym piśmiennictwie brakuje doniesień na temat wpływu TF na rozwój subklinicznej miażdżycy u osób zakażonych HIV. Prawdopodobnie jest to pierwsza obserwacja wykazująca wpływ TF na zaawansowanie subklinicznej miażdżycy u osób zakażonych HIV z koinfekcją HCV. W badaniach dotyczących populacji ogólnej wykazano związek między aktywnością monocytowego TF i wartością cIMT w zespole metabolicznym lub u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym [200,201].

Obecność TFPI w zmianach miażdżycowych jest uważana za główny mechanizm ograniczający trombogenność blaszki miażdżycowej oraz zapobiega reokluzji naczynia. TFPI uwalniany z komórek śródbłónka oraz krążący we krwi odgrywa istotną rolę w hamowaniu TF, ograniczając jego aktywność prokoagulacyjną. W badaniach wykazano podwyższone stężenie TFPI u chorych na zarostową miażdżycę tętnic kończyn dolnych, chorobę Buergera, hiperlipidemię, chorobę niedokrwienną serca czy cukrzycę [64,66]. Nie jest poznany udział TFPI w rozwoju zmian miażdżycowych w przebiegu zakażenia HIV i HCV.

Podsumowując, w badanej kohorcie osób zakażonych HIV wykazano większe zaawansowanie subklinicznej miażdżycy w porównaniu do osób zdrowych. Na większe zaawansowanie zmian miażdżycowych wpływ miały wysokie stężenia TF i TFPI. Zaobserwowano, że wśród osób leczonych antyretrowirusowo, z dobrą odpowiedzią na leczenie i niewykrywalnymi poziomami HIV RNA, stężenie TF było istotnie wyższe. Osoby

z wysokimi stężeniami TF były starsze, dłużej leczone antyretrowirusowo, częściej występowało u nich nadciśnienie tętnicze oraz miały bardziej zaawansowane zmiany miażdżycowe. Wyższe stężenia TF wiązały się również ze stosowaniem leków z grupy NRTI (abakawir) oraz PI (rytonawir, atazanawir). Na tej podstawie przypuszczać można, że większe zaawansowanie subklinicznej miażdżycy u badanych osób zakażonych HIV wiąże się z uszkodzeniem śródbłonna naczyniowego na skutek stosowanej terapii antyretrowirusowej. Nie wykazano wpływu koinfekcji HCV na zaawansowanie subklinicznej miażdżycy w badanej kohorcie, ale stwierdzono związek zakażenia HCV z zwiększonym stężeniem VCAM-1, TM, vWF oraz TNF- $\alpha$  u osób z koinfekcją HIV/HCV. Ponadto jest to pierwsza praca wykazująca wpływ TF i TFPI na zaawansowanie subklinicznej miażdżycy u osób żyjących z HIV, w tym również z koinfekcją HCV, i wskazująca na związek ich stężenia z leczeniem antyretrowirusowym. Powyższa obserwacja wymaga jednak przeprowadzenia kolejnych badań.

## 6. Wnioski

1. Koinfekcja HCV, chociaż odgrywa istotną rolę w patogenezie dysfunkcji śródbłonna naczyń, nie ma wpływu na zaawansowanie subklinicznej miażdżycy u osób w młodym i średnim wieku, zakażonych HIV. Czynnikiem ryzyka rozwoju miażdżycy u osób ze współistniejącymi zakażeniami HIV i HCV są tradycyjne czynniki takie, jak wiek, cholesterol nie-HDL, a ponadto kumulatywne leczenie PI i NRTI.

2. U osób z monoinfekcją HIV zaawansowanie subklinicznej miażdżycy i stężenie VCAM-1 są większe w porównaniu do osób niezakażonych, a na rozwój miażdżycy silnie oddziałują wiek, palenie papierosów, nadciśnienie tętnicze, kumulatywne leczenie NRTI, natomiast kumulatywne leczenie inhibitorami proteazy nie ma związku z zaawansowaniem miażdżycy.

3. U pacjentów zakażonych HIV obserwuje się występowanie nasilonych cech dysfunkcji śródbłonna, jednak to głównie koinfekcja HCV ma wpływ na wysokie stężenia markerów śródbłonkowych we krwi - rozpuszczalnej trombomoduliny, cząsteczki adhezyjnej VCAM-1 i czynnika von Willebranda. Obserwacje te mogą wskazywać na udział HCV w rozwoju chorób sercowo-naczyniowych w tej grupie pacjentów.

4. Czynniki tkankowe i inhibitor czynnika tkankowego TFPI odgrywają rolę w patogenezie miażdżycy u osób zakażonych HIV, a ich wysokie stężenia we krwi należy uznać za czynnik predykcyjny nasilonego rozwoju subklinicznej miażdżycy. Obydwa markery hemostazy nie mają związku z koinfekcją HCV. Nie wykazano związków między parametrami subklinicznej miażdżycy i rozpuszczalnymi markerami dysfunkcji śródbłonna – trombomoduliną, czynnikiem von Willebranda i naczyniową cząsteczką adhezyjną –1.

5. Szczególnej uwagi w pierwotnej prewencji sercowo-naczyniowej, z rozważeniem leczenia przeciwpłytkowego, wymagają osoby zakażone HIV, z wyższą wartością cIMT, z rozpoznanym nadciśnieniem, z długotrwałym kumulatywnym leczeniem antyretrowirusowym NRTI i PI oraz z niską liczbą limfocytów T CD4+ nadir. Pacjenci z koinfekcją HCV wymagają oceny ryzyka sercowo-naczyniowego, oceny subklinicznej miażdżycy oraz badania markerów zapalnych.

## 7. Streszczenie

Od czasu wprowadzenia w 1996 roku HAART, obserwuje się spadek zachorowalności i śmiertelności z powodu AIDS wśród osób żyjących z HIV. Jednocześnie wraz z wydłużeniem czasu przeżycia zakażonych osób, wzrasta częstość występowania chorób niezwiązanych z AIDS, takich jak zespół metaboliczny, choroby sercowo-naczyniowe, choroby wątroby czy nowotwory nie definiujące AIDS. Wykazano, że osoby zakażone HIV wykazują większe zaawansowanie subklinicznej miażdżycy oraz większą zapadalność na choroby sercowo-naczyniowe, co związane jest z samym zakażeniem HIV, indukcją przewlekłego stanu zapalnego oraz następstwami leczenia antyretrowirusowego. Coraz częściej podejmowany jest temat wpływu koinfekcji HCV na przebieg i zaawansowanie niektórych chorób. Wpływ zakażenia HCV na rozwój chorób sercowo-naczyniowych nie jest dokładnie poznany. Infekcja HCV stymuluje mechanizmy odpornościowe gospodarza, indukuje przewlekły stan zapalny oraz jest przyczyną licznych metabolicznych powikłań, które mogłyby predysponować do rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, w tym miażdżycy tętnic. W literaturze brak jest również jednoznacznych doniesień na temat wpływu koinfekcji HCV na dysfunkcję śródbłonna oraz zaawansowanie subklinicznej miażdżycy u pacjentów zakażonych HIV.

Celem pracy była ocena wpływu współistniejącego zakażenia HCV na dysfunkcję śródbłonna i zaawansowanie subklinicznej miażdżycy u chorych żyjących z HIV oraz określenie zachowania się zmian miażdżycowych oraz cech dysfunkcji śródbłonna u pacjentów z monoinfekcją HIV. Oceniano również zachowanie się stężenia markerów uszkodzenia śródbłonna i hemostazy (TNF- $\alpha$ , IL-1, VCAM-1, vWF, sTM, TF, TFPI) w osoczu krwi oraz wpływu tradycyjnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego na ich stężenie u pacjentów zakażonych HIV z koinfekcją HCV. Ponadto analizowano wpływ poszczególnych markerów uszkodzenia śródbłonna i hemostazy na zaawansowanie subklinicznej miażdżycy ocenianej za pomocą pomiaru intima-media thickness tętnic szyjnych u pacjentów zakażonych HIV z koinfekcją HCV. Spróbowano przedstawić praktyczny aspekt przeprowadzonych badań nad dysfunkcją śródbłonna i subkliniczną miażdżycą u pacjentów zakażonych HIV.

Do badania zakwalifikowano 121 pacjentów zakażonych HIV, o znanym statusie wirusologicznym i immunologicznym. Z grupy badanej wyłoniono dwie podgrupy – pierwszą podgrupę stanowili pacjenci zakażeni HIV z koinfekcją HCV, drugą – z monoinfekcją HIV. Grupę kontrolną stanowiły 42 zdrowe osoby, odpowiednio dobrane pod względem płci i wieku, bez przebytych incydentów sercowo-naczyniowych, ogólnie sprawne.



Protokół badania obejmował: uzyskanie świadomej zgody badanego, wywiad uwzględniający tradycyjne i wybrane czynniki ryzyka CVD (chorób sercowo-naczyniowych), stosowaną farmakoterapię, w tym cART oraz występowanie objawów CVD: incydentów mózgowych, sercowych i chromania przestankowego. U wszystkich badanych przeprowadzono badanie przedmiotowe, badanie angiologiczne oraz wykonano badanie ultrasonograficzne w prezentacji B tętnic szyjnych, z rejestracją obrazów ultrasonograficznych do dalszej oceny subklinicznej miażdżycy za pomocą komputerowego pomiaru cIMT. Po 14 godzinnym okresie bez spożywania posiłków, pobierano krew na badania laboratoryjne, przeprowadzone standardowymi metodami laboratoryjnymi, immunoenzymatycznymi i molekularnymi.

Badaną kohortę, w której 54,5% osób stanowili pacjenci z koinfekcją HIV/HCV i 45,5% z monoinfekcją HIV, charakteryzował odmienny profil czynników ryzyka i większa wartość cIMT w porównaniu z grupą kontrolną, a rozwój zmian miażdżycowych zależał od wieku, stężenia cholesterolu nie-HDL, natężenia palenia papierosów i kumulatywnego leczenia ARV. Przedstawione analizy, zarówno jedno- jak i wieloczynnikowe udowodniły brak wpływu koinfekcji HCV na rozwój subklinicznej miażdżycy u pacjentów zakażonych HIV. Zaawansowanie subklinicznej miażdżycy tętnic szyjnych było podobne u pacjentów z monoinfekcją HIV i z koinfekcją HIV/HCV, obie podgrupy wykazywały większe zmiany miażdżycowe w porównaniu z grupą kontrolną osób zdrowych. Jednocześnie wykazano u pacjentów z koinfekcją HIV/HCV występowanie nasilonych cech dysfunkcji śródbłonna w postaci zwiększonego stężenia osoczowych markerów śródbłonkowych – TM, vWF i VCAM. Ryzyko sercowo-naczyniowe było niższe wśród pacjentów z koinfekcją HCV, a zachowanie się i znaczenie tradycyjnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego w rozwoju miażdżycy w grupie osób z koinfekcją HCV było inne w porównaniu z grupą osób z monoinfekcją HIV – obserwowane były niższe stężenia cholesterolu całkowitego, LDL i nie-HDL, częściej prezentowane było palenie papierosów i rzadziej występujące nadciśnienie tętnicze. W analizie jednoczynnikowej wpływ na rozwój subklinicznej miażdżycy, wyrażonej parametrem cIMT w tej podgrupie pacjentów ma wiek, stężenie cholesterolu nie-HDL, kumulatywne leczenie inhibitorami PI, kumulatywne leczenie NRTI i kumulatywne leczenie antyretrowirusowe. Obserwuje się także tendencję dotyczącą wpływu palenia papierosów. Palenie papierosów, podobnie jak nadciśnienie tętnicze (ale już nie cholesterol nie-HDL) silnie oddziałują na rozwój miażdżycy u osób z monoinfekcją HIV.

W przedstawionym badaniu nie wykazano różnicy dla stężenia TNF- $\alpha$  pomiędzy grupą badaną i kontrolną. Nie wykazano istotnego wpływu tradycyjnych czynników ryzyka CVD, parametrów wirusologicznych i immunologicznych, jak również leczenia antyretrowirusowego

na stężenie TNF- $\alpha$  w badanej grupie, zarówno w regresji jedno-, jak i wieloczynnikowej. Zaobserwowano wyraźną tendencję wpływu zakażenia HCV na stężenie TNF- $\alpha$ . Stężenie IL-1 $\beta$  było istotnie wyższe w grupie kontrolnej, jednak różnica stężeń w obu grupach była niewielka. Wśród tradycyjnych czynników ryzyka tylko wartość BMI wykazywała ujemną korelację ze stężeniem badanej cytokiny. Stwierdzono natomiast, silny niezależny wpływ kumulatywnego leczenia inhibitorami proteazy na wartości stężenia IL-1 $\beta$ . Wśród osób zakażonych HIV stężenia markerów uszkodzenia śródbłonna tj. VCAM-1, vWF, TFPI były istotnie wyższe w porównaniu do grupy kontrolnej. Wykazano silny niezależny wpływ zakażenia HCV na stężenia VCAM-1, TM i vWF. Stężenie VCAM-1 było istotnie wyższe wśród mężczyzn, a także wykazywało korelację ze stężeniem TNF- $\alpha$  i aktywnością wątrobowych aminotransferaz. Ze stężeniem trombomoduliny, wśród czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowego związek wykazywały płeć męska, stężenie cholesterolu HDL oraz dodatni wywiad rodzinny. Zaobserwowano również wpływ prozapalnych cytokin: TNF- $\alpha$  i IL-1 $\beta$  na stężenie TM. W badanej kohorcie wykazano wyższe stężenia czynnika von Willebranda w porównaniu do grupy kontrolnej. Obserwowano także istotnie wyższe stężenia vWF wśród osób zakażonych HIV/HCV. Wykazano silną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem vWF a stężeniem fibrynogenu i enzymów wątrobowych. Stężenia czynnika tkankowego nie różniły się pomiędzy osobami zakażonymi HIV a grupą kontrolną. Nie wykazano również statystycznie istotnej różnicy w podgrupach z koinfekcją i bez koinfekcji HCV. Wykazano natomiast ujemną korelację pomiędzy stężeniem TF a aktualną wiramią HIV i liczbą limfocytów CD4+ nadir. Udowodniono, że kumulatywne leczenie antyretrowirusowe, a także kumulatywne leczenie PI i NRTI wykazują silny niezależny wpływ na stężenie TF w osoczu.

Wśród badanych markerów dysfunkcji śródbłonna jedynie TF i TFPI istotnie wpływały na wartości cIMT w kohorcie. Po zastosowaniu modelu regresji wieloczynnikowej wykazano silny niezależny wpływ TF na wartości cIMT. TF istotnie wpływał także na wartości cIMT i cIMT meanmax u osób zakażonych HIV/HCV, natomiast TFPI wykazywało związek z cIMT w grupie osób z monoinfekcją HIV.

## 8. Abstract

Since the introduction of HAART in 1996, amongst people living with HIV there is an observable decrease in AIDS-related morbidity and mortality. Simultaneously, with the extension of the life expectancy of infected people, there is an increase in the prevalence of non-AIDS-related illnesses, such as the metabolic syndrome, cardiovascular diseases, liver illnesses, or non-AIDS-defining malignancies. It has been proven that HIV-infected individuals show a greater advancement in subclinical atherosclerosis and a higher cardiovascular diseases morbidity rate, which is connected with contracting HIV itself, induction of a prolonged inflammation and the complications of antiretroviral treatment. The subject of the influence of a HCV coinfection on the course and the advancement of various illnesses is now more widely discussed. The influence of a HCV infection on the development of cardiovascular diseases is not exactly known. The HCV infection stimulates the immune mechanisms of the host, induces a prolonged inflammatory state and is the cause of numerous metabolic complications, which could predispose towards the development of cardiovascular diseases, including arteriosclerosis. There is also a lack of unambiguous reports about the influence of a HCV coinfection on endothelium dysfunction and the advancement of subclinical atherosclerosis in HIV- infected individuals.

The aim of the work was the assessment of the influence of HCV coinfection on the endothelium dysfunction and the advancement of subclinical atherosclerosis in patients living with HIV. The behaviour of endothelium and haemostasis damage markers in blood plasma (TNF- $\alpha$ , IL-1, VCAM-1, vWF, TM, TF, TFPI) was also appraised, as well as the influence of traditional cardiovascular risk factors on their levels in HIV/HCV-coinfected patients. Furthermore, the influence of various endothelium dysfunction and haemostasis markers on the advancement of subclinical atherosclerosis was analysed, by measuring the intima-media thickness of carotid arteries of HIV/HCV-coinfected patients.

121 HIV-infected patients with a known viral and immune state were qualified for the examination. From the studied group two subgroups were created – the first subgroup consisted of patients infected with HCV/HIV coinfection, the second – with a HIV mono-infection. The control group consisted of 42 healthy persons, selected suitably based on age and gender, without a history of cardiovascular incidents, generally fit.

The test protocol included: obtaining informed consent from the patient, an anamnesis including traditional and selected CVD risk factors, history of applied pharmacology, including cART and the occurrence of CVD symptoms: brain and heart incidents and intermittent claudication. All subjects underwent a physical and angiological examination, as well as B-mode ultrasound of carotid arteries, while registering the ultrasonographic images for further analysis of subclinical atherosclerosis with the use of the computer cIMT measurement. After a 14 hour period without consuming meals, blood samples were drawn for laboratory tests (carried out using standard laboratory methods), the ELISA kit and molecular tests.

The study group, which consisted of 54.5% of patients with a HIV/HCV coinfection and 45.5% with a HIV mono-infection, was characterised by a different profile of risk factors and a greater value of cIMT as compared to the control group; the development of atherosclerotic changes was dependent on age, levels of non-HDL cholesterol, tobacco smoking and the cumulative ARV treatment. The presented analyses, both uni- and multivariate regression, proved that the HCV coinfection has no influence on the development of subclinical atherosclerosis in patients infected with HIV. The degree of carotid subclinical atherosclerosis was similar in HIV/HCV-coinfected patients and HIV-infected patients; both subgroups exhibited greater atherosclerotic changes as compared with the healthy control group. Simultaneously, it was proven that in HCV/HIV-coinfected patients, there was an increased presence of endothelium dysfunction, as indicated by the increased levels of endothelium markers in plasma – sTM, vWF and VCAM-1. The cardiovascular risk was lower amongst patients with a HCV coinfection, and the behaviour and importance of traditional cardiovascular risk factors on the development of atherosclerosis was different in HIV/HCV-coinfected participants when compared to those with a HIV mono-infection - lower levels of cholesterol, both LDL and non-HDL, tobacco smoking was present more often, and a less frequent presence of hypertension was observed. In a univariate analysis in this subgroup, the development of subclinical atherosclerosis, as represented by the cIMT parameter, is influenced by age, levels of non-HDL cholesterol, PI and NRTI and antiretroviral cumulative treatment. A tendency related to tobacco smoking is also observed. Tobacco smoking, similarly to hypertension (but not non-HDL cholesterol), has a strong influence on the development of atherosclerosis in the HIV-mono-infected patients.

In the presented tests, the difference in the levels of TNF-  $\alpha$  between the study and control groups was not demonstrated. The traditional CVD risk factors, viral and immunological parameters, as well as antiretroviral treatment was not proven to have a

significant influence on the TNF- $\alpha$  levels in the studied group, both in uni- and multivariate regression analysis. A clear tendency of the HCV infection influencing the level of TNF- $\alpha$  was observed. The level of IL-1 $\beta$  was higher in the control group, but the difference between both groups was small. Amongst the traditional risk factors, only the BMI level exhibited a negative correlation to the levels of the tested cytokine. It was proven however, that the cumulative protease inhibitor treatment had a strong, independent impact on the IL-1 $\beta$  level values. Amongst the patients infected with HIV, the levels of endothelium dysfunction markers, VCAM-1, vWF and TFPI, were significantly higher when compared to the control group. A strong impact of HCV infection on the levels of VCAM-1, TM and vWF was proven. The levels of VCAM-1 were higher in men, and also exhibited a correlation with the levels of TNF- $\alpha$  and the activity of liver aminotransferases. A connection with the levels of thrombomodulin as a cardiovascular risk factor was exhibited by the male gender, HDL cholesterol level and a positive cardiovascular family history. An impact of pro-inflammatory cytokines TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  was observed in regards to the levels of TM. In the studied cohort, a higher level of the von Willebrand factor was proven as compared to the control group. A substantially higher level of vWF was exhibited by HIV/HCV-coinfected patients. A strong correlation between the levels of vWF and the levels of fibrinogen and liver enzymes was shown. There was no difference in the levels of tissue factor between the HIV-infected patients and the control group. There was also no statistical difference between the group with a HCV coinfection and the group without HCV. There was, however, a proven negative correlation between the levels of TF and HIV viral load and the nadir CD4<sup>+</sup> cell count. It was confirmed that the cumulative antiretroviral treatment, as well as the cumulative PI and NRTI treatments, have a strong influence on the levels of TF in blood plasma.

Amongst the studied markers of endothelium injury markers, only TF and TFPI significantly influenced the values of cIMT in the entire cohort. After implementing a multivariate regression analysis model, a strong impact of TF on cIMT values was proven. The TF also substantially influenced the cIMT and cIMT meanmax values in HIV/HCV-coinfected patients, and TFPI exhibited a connection with cIMT in HIV-monoinfected patients.

## 9. Piśmiennictwo

1. UNAIDS, [www.unaids.org](http://www.unaids.org)
2. World Health Organization. [www.who.int](http://www.who.int)
3. Gładysz A. Zakażenia HIV/AIDS poradnik dla lekarzy praktyków. Continuo 2014
4. Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego - Państwowy Zakład Higieny (NIZP-PZH), [www.pzh.gov.pl](http://www.pzh.gov.pl)
5. Krajowe Centrum ds. AIDS, [www.aids.gov.pl](http://www.aids.gov.pl)
6. Ministerstwo Zdrowia. [www.mz.gov.pl/zdrowie-i-profilaktyka/hiv-i-aids](http://www.mz.gov.pl/zdrowie-i-profilaktyka/hiv-i-aids)
7. Horban A, Podlasin R, Cholewińska G, Wiercińska-Drapało A et al.: Zasady opieki nad osobami zakażonymi HIV. Zalecenia PTN AIDS. Polskie Towarzystwo Naukowe AIDS, Warszawa 2014
8. Czepiel J, Biesiada G, Perszke K, Breza A et al.: Zakażenie wirusem HIV u osób powyżej 60. roku życia, *Gerontologia Polska*, 2013, 21: 11-17
9. Lindau ST, Schumm LP, Laumann EO, Levinson W et al.: A study of sexuality and health and older adults in the United State. *N Engl J Med* 2007, 357: 762-774
10. Hasse B, Lederberger B, Egger M, Vernazza P et al.: Morbidity and aging among HIV-positive persons: The Swiss HIV Cohort Study. *Clin Infect Dis* 2011, 53: 1130-1139
11. Danta M, Brown D, Bhagani S, Pybus OG et al.: Recent epidemic of acute hepatitis C virus in HIV-positive men who have sex with men linked to high-risk sexual behaviours. *AIDS*, 2007, 21: 983–991
12. van de Laar T, Pybus O, Bruisten S, Brown D et al.: Evidence of a large, international network of HCV transmission in HIV-positive men who have sex with men. *Gastroenterology*, 2009, 136: 1609–1617
13. Thomas DL, Villano SA, Riestler KA, Hershov R et al.: Perinatal transmission of hepatitis C virus from human immunodeficiency virus type 1-infected mothers. *Women and Infants Transmission Study. J Infect Dis*, 1998, 177, 1480
14. Peters L, Mocroft A, Lundgren J, Grint D et al.: HIV and hepatitis C co-infection in Europe, Israel and Argentina: a EuroSIDA perspective. *BMC Infect Dis*. 2014., 14 Suppl 6: S13. doi: 10.1186/1471-2334-14-S6-S13
15. Mocroft A, Phillips AN, Soriano V, Rockstroh J et al.: Reasons for stopping antiretrovirals used in an initial highly active antiretroviral regimen: increased incidence of

- stopping due to toxicity or patient/physician choice in patients with hepatitis C coinfection. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2005,,21:527–536
16. Sanchez-Quijano A, Andreu J, Gavilan F, Luque F et al.: Influence of human immunodeficiency virus type 1 infection on natural course of chronic parenterally acquired hepatitis C. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1995, 14: 949-953
  17. Główny Inspektorat Sanitarny. Stan sanitarny kraju w roku 2012
  18. EuroSIDA, Swiss Cohort Study, <http://www.cphiv.dk/Ongoing-Studies/EuroSIDA>
  19. Stańczak JJ, Tobolewska E, Przybylska-Stengiel K, Stańczak GP et al.: Changes in the pattern of hepatitis C virus genotypes in Poland. ISVHLD, Sydney, 2003
  20. Inglot M, Szymczak A, Gładysz, Małyszczak K et al.: Obraz przewlekłego zapalenia wątroby typu C u pacjentów zakażonych HIV z wysoką liczbą limfocytów CD4+. *Przeegl Epidemiol* 2007,61:535-543
  21. Dobosz S: The risk of vertical HCV transmission in children born to HIV infected mothers. *Przeegl Epidemiol*, 2007, 61: 349-356
  22. Dionne-Odom J, Osborn MK, Radziewicz H, Workowski K. et al.: Acute hepatitis C and HIV coinfection. *Lancet Infect Dis*, 2009, 9: 775–783
  23. Piroth L, Bourgeois C, Dantin S, Waldner A et al.: Hepatitis C virus (HCV) genotype does not appear to be asignificant prognostic factor in HIV-HCV-coinfected patients. *AIDS* 1999, 13: 523-524
  24. Di Martino V., Rufat P., Boyer N, Renard P et al.: The influence of human immunodeficiency virus coinfection in chronic hepatitis C in injection drug users: a long-term retrospective cohort study. *Hepatology*. 2001, 34: 1193-1199
  25. Reiberger T, Ferlitsch A, Sieghart W, Kreil A et al.: HIV-HCV co-infected patients with low CD4+ cell nadirs are at risk for faster fibrosis progression and portal hypertension. *J Viral Hepat*, 2009, 25: Epub ahead of print
  26. Heller T, Seeff LB: Viral load as a predictor of progression of chronic hepatitis C? *Hepatology*, 2005, 42: 1261–1263
  27. Grint D, Peters L, Rockstroh JK, de Wit S, et al.: Increased incidence of antiretroviral drug discontinuation among patients with viremic hepatitis C virus coinfection and high hyaluronic acid, a marker of liver fibrosis. *EuroSIDA in EuroCoord AIDS*. 2014, 28: 577-587
  28. Greub G, Ledergerber B, Battegay M, Grob P et al.: Clinical progression, survival, and immune recovery during antiretroviral therapy in patients with HIV- 1 and hepatitis C virus coinfection: the Swiss HIV Cohort Study. *Lancet*, 2000, 356: 1800–1805

29. Opersalski EA, Kovacs A. HIV/HCV Co-infection: Pathogenesis, Clinical Complications, Treatment and New Therapeutic Technologies. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2011, 8: 12–22
30. Wyatt CM, Malvestutto C, Coca SG, Klotman PE Et al.: The Impact of Hepatitis C Virus Co-infection on HIV-Related Kidney Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *AIDS*, 2008, 22: 1799–1807
31. Bladowska J, Knysz B, Zimny A, Małyszczak K, Kołtowska A et al.: Value of Perfusion-Weighted MR Imaging in the Assessment of Early Cerebral Alterations in Neurologically Asymptomatic HIV-1-Positive and HCV-Positive Patients. *PLoS ONE* 9(7): e102214. doi:10.1371/journal.pone.0102214
32. Jabłońska J, Ząbek J, Kozłowska J, Cianciara J: Zaburzenia immunologiczne u chorych z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby typu C. *Przeegl Epidemiol*, 2001, 55: 459-464
33. Cocaub P, Poynard T, Ghillani P, Charlotte F et al.: Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C. *Arthritis&Rheumatism*, 1999, 10: 2204-2212
34. Sayiner ZA, Haque U, Malik MU, Gurakar A: Hepatitis C Virus Infection and Its Rheumatologic Implications. *Gastroenterol Hepatol*, 2014, 10: 287-293
35. Woitas RP, Stoschus B, Terjung B, Vogel M et al.: Hepatitis C-associated autoimmunity in patient coinfecting with HIV. *Liver Int*, 2005, 25: 1114 – 1121
36. Thompson C, Allam AH, Lombardi GP, Wann LS et al.: Atherosclerosis across 4000 years of human history: the Horus study of four ancient populations. *Lancet* 2013, 391, 1211-1222, DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60598-X
37. Brzeziński T. *Historia medycyny*. PZWL 2014
38. Kasprzak JD. Kamienie milowe kardiologii: ostry zawał serca – patogeneza i leczenie. *Forum Kardiologów*, 2000, 2: 33-37
39. Burns A. Observations on some of the most frequent and important diseases of the heart, an aneurysm of the thoracic aorta, on preternatural pulsation in the epigastric region, and on the unusual origin and distribution of some of the large arteries in the human body . Edinburgh, Bryce, 1809
40. Konstantinov IE, Jankovic GM. Alexander I. Ignatowski: A pioneer in the Study of Atherosclerosis. *Tex Heart Inst J.* 2013, 40: 246-249
41. Konstantinov IE, Mejevoi N, Anichkow NM. Nikolai N. Anichkov and his theory of atherosclerosis. *Tex Heart Inst J.* 2006, 33: 417-423



42. No authors listed. Classics in arteriosclerosis research: On experimental cholesterol steatosis and its significance in the origin of some pathological processes by N. Anitschkow and S. Chaladow, translated by Mary Z. Pelias, 1913. *Arteriosclerosis* 1983, 3: 178–182
43. Ross R, Glomset J, Harker L Response to injury and atherogenesis. *Am J Pathol*, 1977, 86: 675-684
44. Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1998, 340: 115-126
45. Undas A, Szczeklik A. *Interna Szczeklika. Podręcznik chorób wewnętrznych. Medycyna Praktyczna* 2013, s.162
46. Undas A. Patogeneza aterosklerozy. *Forum Med Rodz* 2009, 3: 396-401
47. Libby P.: Inflammation in atherosclerosis. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2006, 83: 456-460
48. Berliner JA, Navab A, Fogelman AM, Fran JS et al.: Atherosclerosis: Basic Mechanism. Oxidation, Inflammation, and Genetic. *Circ.* 1995, 91: 2488-2496
49. Gaut JP, Heinecke JW. Mechanisms for oxidizing low-density lipoprotein. Insights from patterns of oxidation products in the artery wall and from mouse models of atherosclerosis. *Trends Cardiovasc Med.* 2001, 11: 103-112
50. Libby P.: Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2006, 83: 456-460
51. Libby P., DiCarli M., Weissleder R.: The vascular biology of atherosclerosis and imaging targets. *J. Nucl. Med.*, 2010, 51 (Suppl. 1): 33S-37S
52. Tse K, Tse H, Sidney J, Sette A et al. T cells in atherosclerosis. *Int. Immunol.* 2013, 25: 615-622
53. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *New Engl J Med.* 2005, 352: 1685-1695
54. Packard R.R., Lichtman A.H., Libby P.: Innate and adaptive immunity in atherosclerosis. *Semin. Immunopathol.*, 2009, 31: 5-22
55. Bryk D, Olejarz W, Zapolska-Downar D. Kinazy aktywowane mitogenami i ich znaczenie w patogenezie miażdżycy. *Post. Hig. Med. Dosw.*, 2014, 68: 10-22
56. Stemme S, Faber B, Holm J, Wiklund O et al.: T lymphocytes from human atherosclerotic plaques recognize oxidized low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci (USA).* 1995, 92: 3893–3897
57. Schonbeck U, Libby P. CD40 signaling and plaque instability. *Circ Res* 2001, 89: 1092-1103

58. Mor A, Planer D, Luboshits G, Afek A et al.: Role of Naturally Occuring CD4+CD25+ Regulatory T Cells in Experimental Atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007, 27: 893-900
59. Boyle JJ: Macrophage Activation in Atherosclerosis: Patogenesis and Pharmacology of Plaque Rupture. *Curr Vasc Pharm* 2005, 3: 63-68
60. Schwartz SM, Virmani R, Rosenfeld ME: The good smooth muscle cells in atherosclerosis. *Curr. Atheroscler. Rep.*, 2000, 2: 422-429
61. Tuttolomondo A, Di Raimondo D, Pecoraro R, Arnao V et al.: Atherosclerosis an Inflammatory Disease. *Curr Pharm Dis* 2012, 18: 4266-4288
62. Undas A.: Mechanizmy zakrzepicy tętniczej. *Acta Haemat. Pol*, 2009, 40, Suppl: 19-23
63. Steffel J, Lüscher TF, Tanner FC: Tissue Factor in Cardiovascular Disease: Molecular Mechanisms and Clinical Implifications. *Circulation* 2006, 113: 722-731
64. Kotschy M, Kotschy D, Witkiewicz W: Rola czynnika tkankowego i jego inhibitora w procesie krzepnięcia krwi oraz w powikłaniach pozakrzepowych. *Kardiolog. Pol.* 2010, 68: 1158-1162
65. Mackman N, Tilley RE, Nigel NS: Role of Extrinsic Pathway of Blood Coagulation in Hemostasis and Thrombosis. *Atheroscler Thromb Vasc Biol.* 2007, 27: 1687-1693
66. Radziwon P, Bielawiec M, Kłoczko J, Giedrojc J et al.: Inhibitor zależnej od czynnika tkankowego drogi krzepnięcia (TFPI) u chorych na zarostowe choroby naczyń tętniczych z uwzględnieniem czynników ryzyka i leczenia zachowawczego. *Acta Angiol.* 2001, 7: 43-54
67. Hong AY, Blann AD, Lip GYH: Assessment of endothelial damage and dysfunction: observations in relation to heart failure. *QJM*, 2003, 96: 253–267
68. Vischer UM: Von Willebrand factor, endothelial dysfunction, and cardiovascular disease. *J Thromb Haemost*, 2006, 4: 1186–1193
69. Li YH, Kuo CH, Shi GY, Wu HL: The role of thrombomodulin lectin-like domain in inflammation. *J Biomed Sci*, 2012, 19: 34
70. Li YH, Shi GY, Wu HL: The role of thrombomodulin in atherosclerosis: from bench to bedside. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*, 2006, 4: 183-187
71. Esmont CD: The impact of the inflammatory response on coagulation. *Thromb Res*, 2004, 114: 321-327
72. Conway EM, de Wouwer M, Pollefeyt S, Jurk K et al.: The Lectin-like Domain of Thrombomodulin Confers Protection from Neutrophil-mediated Tissue Damage by Suppressing Adhesion Molecule Expression via Nuclear Factor  $\kappa$ B and Mitogen-activated Protein Kinase Pathways. *J Exp Med*, 2002, 196: 565-577

73. Naghavi M, Libby P, Falk E, Casscells SW et al.: From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies. Part I. *Circulation* 2003, 108: 1664–1672
74. De Backer G, Ambrosioni E, Borch-Johnsen K, Brotons C et al.: Third Joint Task Force of European and other Societies on Cardiovascular Diseases Prevention in Clinical Practice. European guidelines on cardiovascular diseases prevention in clinical practice. *Eur. Heart J.* 2003, 24: 1601-1610
75. Podolec P, Kopeć G, Pająk A et al.: et al.: Konsensus Rady Redakcyjnej Polskiego Forum Profilaktyki Chorób Układu Krążenia dotyczący oceny ryzyka sercowo-naczyniowego. *Forum Profilaktyki* Nr 2(3) 2006, s.2
76. Third Report of the Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). The guidelines 2004. National Heart Lung and Blood Institute. Available: <http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/cholesterol/index.html>
77. Davies JR, Rudd JH, Weissberg PL: Molecular and metabolic imaging of atherosclerosis. *J Nucl Med*, 2004, 45, n11: 1898-1907
78. Pręgoska-Chwała B, Pręgoski J, Januszewicz A.: Związek między grubością błony wewnętrznej i środkowej (IMT) tętnicy szyjnej a powikłaniami w układzie sercowo-naczyniowym. *Nadciśnienie tętnicze*, 2008, 12, 6: 454-463
79. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE: Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation* 1997, 96:1432–1437
80. Vaudo G, Schillaci G, Evangelista F, Paqualini L et al.: Arterial wall thickening at different sites and its association with left ventricular hypertrophy in newly diagnosed essential hypertension. *Am. J. Hypertens.* 2000, 13: 324–331
81. Bots ML, Hofman A, Grobbee DE: Increased common carotid intima-media thickness. Adaptive response or a reflection of atherosclerosis? Findings from the Rotterdam Study. *Stroke* 1997, 28: 2442–2447
82. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H et al.: Mannheim intima-media thickness consensus (2004-2006). *Cerebrovasc Dis* 2007, 23: 75-80
83. Gładysz A, Knysz B.: Diagnostyka, profilaktyka, klinika i terapia zakażeń HIV/AIDS – współczesne możliwości i problemy. *Continuo*, 2009
84. Kedzierska K, Crowe SM.: Cytokines and HIV-1: interactions and clinical implications. *Antivir Chem Chemother* 2001, 12: 133-150

85. Monsuez JJ, Charniot JC, Escaut L, Teicher E et al.: HIV-associated vascular diseases: Structural and functional changes, clinical implications. *International J Cardiol* 2009, 133: 293-306
86. Lopez M, San Roman J, Estrada V, Vispo E, Blanco F et al.: Endothelial Dysfunction in HIV infection – The role of Circulating Endothelial Cells, Microparticles, Endothelial Progenitor Cells and Macrophages. *AIDS Rev*, 2012, 14: 223 - 230
87. Funderburg NT, Mayne E, Sieg SF, Asaad R, Jiang W et al.: Increased tissue factor expression on circulating monocytes in chronic HIV infection: relationship to in vivo coagulation and immune activation. *Blood*, 2010, 115: 161-167
88. Larranaga GF, Bocasi AR, Puga LM, Alonso BS, Benetucci JA: Endothelial markers and HIV infection in the era of highly active antiretroviral treatment. *Thromb Res*, 2003, 110: 93-98
89. Lafeuillade A, Alessi MC, Poixot-Martin I, Boyer-Neumann C et al.: Endothelial Cell Dysfunction in HIV Infection. *J Acq Imm Def Syndr*, 1992, 5: 127-131
90. Kwiatkowska W, Knysz B, Drelichowska-Durawa J, Czarnecki M et al.: Subclinical carotid atherosclerosis and cardiovascular risk factors in HIV-infected patients. *Postęp Hig Med Dosw* 2011, 65: 770-783
91. Oh J, Hegele RA: HIV-associated dyslipidaemia: pathogenesis and treatment. *Lancet Infect Dis* 2007, 7: 787-96
92. Hsue PY, Lo JC, Franklin A, Bolger AF et al.: Progression of atherosclerosis as assessed by carotid Intima-Media Thickness in patients with HIV infection. *Circulation*, 2004, 109: 1603-1608
93. Dressman J, Kincer J, Matveev SV, Guo L et al.: HIV protease inhibitors promote atherosclerotic lesion formation independent of dyslipidemia by increasing CD36- dependent cholesteryl ester accumulation in macrophages. *J. Clin. Invest.*, 2003, 111: 389–397
94. Alyan O, Kacmaz F, Ozdemir O, Deveci B et al.: Hepatitis C Infection is Associated With Increased Coronary Artery Atherosclerosis Defined by Modified Reardon Severity Score System. *Circulation Journal* 2008, 72: 1960–1965, doi: 10.1253/circj.cj-08-0459
95. Ishizaka N, Ishizaka Y, Takahashi E, Tooda EI et al.: Association between hepatitis C virus seropositivity, carotid-artery plaque, and intima-media thickening. *Lancet* 2002, 359: 133–135
96. Momiyama Y, Ohmori R, Kato R, Taniguchi H et al.: Lack of any association between persistent hepatitis B or C virus infection and coronary artery disease Atherosclerosis 2005, 181: 211–213

97. Caliskan Y, Oflaz H, Pusuroglu H, Boz H et al.: Hepatitis C virus infection in hemodialysis patients is not associated with insulin resistance, inflammation and atherosclerosis. *Clinical Nephrology* 2009, 71: 147–157. doi: 10.5414/cnp71147
98. Bilora F, Campagnolo E, Rinaldi R, Rossato A et al.: Carotid and femoral atherosclerosis in chronic hepatitis C: a 5-year follow-up. *Angiology* 2008, 59: 717–720
99. He Huang, Rongyan Kang, Zhendong Zhao: Is Hepatitis C Associated with Atherosclerotic Burden? A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE* 9 (9): e106376. doi:10.1371/journal.pone.0106376
100. Adinolfi LE, Restivo L, Zampino R, Guerrera B et al.: Chronic HCV infection is a risk of atherosclerosis. Role of HCV and HCV-related steatosis. *Atherosclerosis* 2012, 221: 496–502
101. Boddi M, Abbate R, Chellini B, Giusti B et al.: HCV infection facilitates asymptomatic carotid atherosclerosis: preliminary report of HCV RNA localization in human carotid plaques. *Digestive & Liver Disease* 2007, 39 Suppl 1S55–60
102. Petta S, Torres D, Fazio G, Camma C et al.: Carotid atherosclerosis and chronic hepatitis C: a prospective study of risk associations. *Hepatology* 2012, 55: 1317–1323
103. Freiberg MS, Cheng DM, Kraemer KL, Saitz R et al.: The association between hepatitis C infection and prevalent cardiovascular disease among HIV-infected individuals. *AIDS* 2007, 21:193-197
104. Bedimo R, Westfall AO, Mugavero M, Drechsler H et al.: Hepatitis C virus coinfection and the risk of cardiovascular disease among HIV-infected patients. *HIV Med*, 2010, 11: 462-468
105. Sosner P, Wangermez M, Chagneau-Derrode C, Le Moal G, Silvain C: Atherosclerosis risk in HIV-infected patients: the influence of hepatitis C virus co-infection. *Atherosclerosis* 2012, 222: 274–277
106. Masia M, Padilla S, Robledano C, Ramos JM, Gutiérrez F: Evaluation of endothelial function and subclinical atherosclerosis in association with hepatitis C virus in HIV-infected patients: a cross-sectional study. *BMC Infectious Diseases* 2011, 11: 265. doi: 10.1186/1471-2334-11-265
107. Tien PC, Schneider MF, Cole SR, Cohen MH et al.: Association of hepatitis C virus and HIV infection with subclinical atherosclerosis in the women's interagency HIV study. *AIDS* 2009, 23: 1781–1784
108. Gershon AS, Margulies M, Gorczynski RM, Heathcote EJ.: Serum cytokine values and fatigue in chronic hepatitis C infection. *Journal of viral hepatitis*. 2000,7: 397–402

109. Zampino R, Marrone A, Restivo L, Guerrero B et al.: Chronic HCV infection and inflammation: Clinical Impact on hepatic and extrahepatic manifestations. *World J Hepatol*, 2013, 5: 528-540
110. de Castro IF, Micheloud D, Berenguer J, Guzmán – Fulgencio M et al. Hepatitis C virus infection is associated with endothelial dysfunction in HIV/hepatitis C virus coinfecting patients. *AIDS* 2010, 24: 2059-2067
111. Masiá M, Robledano C, López N, Escolano C, Gutiérrez F: Treatment for hepatitis C virus with pegylated-interferon- $\alpha$  plus ribavirin induces antiatherogenic effects on cardiovascular risk biomarkers in HIV-infected and uninfected patients. *J Antimicrob Chemother* 2011, 66:1861-1868
112. de Larranaga GF, Wingeyer SD, Puga LM, Alonso BS, Benetucci JA.: Relationship between hepatitis C virus (HCV) and insulin resistance, endothelial perturbation, and platelet activation in HIV-HCV-coinfecting patients under highly active antiretroviral treatment. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006, 25: 98–103
113. Bedimo R, Ghurani R, Nsuami M, Turner Det al.: Lipid Abnormalities in HIV/hepatitis C virus-coinfecting patients. *HIV Med* 2006, 7: 530-536
114. Collazos J, Mayo J, Ibarra S, Cazallas J.: Hyperlipidemia in HIV-infected patients: the protective effect of hepatitis C virus co-infection. *AIDS* 2003, 17: 927–929
115. Di Giambenedetto S, Baldini F, Cingolani A, Tamburrini E et al.: The influence of hepatitis C virus coinfection on the risk of lipid abnormalities in a cohort of HIV-1-infected patients after initiation of highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004, 36: 641–642
116. Wheeler AL, Scherzer R, Lee D, Delaney JA et al.: HIV/HCV coinfection ameliorates the atherogenic lipoprotein abnormalities of HIV infection. *AIDS*, 2014, 28: 49–58
117. Siagris D, Christofidou M, Theocharis GJ, Pagoni N et al.: Serum lipid pattern in chronic hepatitis C: histological and virological correlations. *J Viral Hepat* 2006, 13: 56–61
118. Floris-Moore M, Howard AA, Lo Y, Schoenbaum EE et al.: Hepatitis C infection is associated with lower lipids and high-sensitivity C-reactive protein in HIV-infected men. *AIDS Patient Care STDs* 2007, 21: 479–491
119. Reingold JS, Wanke C, Kotler DP, Lewis CE et al. Association of HIV Infection and HIV/HCV Coinfection With C-Reactive Protein Level - The Fat Redistribution and Metabolic Change in HIV Infection (FRAM) Study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. Jun 1, 2008, 48 : 142–148

120. National Cancer Institute at the National Institutes of Health. Health NclatNlo. Pack Year Definition. In: Dictionary of Cancer Terms. Bethesda, MD: National Cancer Institute,2012. <http://cancer.gov/dictionary?CdrID=306510>
121. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET) Steering Committee. Methods, patient characteristics, and progress. *Stroke* 1991, 22: 711-720
122. Bluth EI, Stavros AT, Marich KW, Aufrichtig D, Baker JD.: Carotid duplex sonography: a multicenter recommendation for standardized imaging and Doppler criteria. *RadioGraphics* 1988, 8: 487-506
123. Arcari CM, Nelson KE, Netski DM, Nieto FM, Gaydos CA.: No association between hepatitis C virus seropositivity and acute myocardial infarction. *Clin Infect Dis.* 2006, 43: 53-56
124. Volzke H, Schwahn C, Wolff B, Mentel R et al: Hepatitis B and C virus infection and the risk of atherosclerosis in a general population. *Atherosclerosis* 2004, 174: 99–103
125. Roed T, Kristoffersen US, Knudsen A, Wiinberg N et al.: Increased prevalence of coronary artery disease risk markers in patients with chronic hepatitis C - a cross-sectional study. *Vascular Health and Risk Management* 2014, 10: 55–61
126. Zdrojewski T, Szpakowski P, Bandosz P, Pająk A et al.: Rozpowszechnienie głównych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego w Polsce. Wyniki badania NATPOL PLUS. *Kardiol. Pol.*, 2004, 61: 1–26
127. Currier JS, Kendall MA, Henry WK, Alston-Smith B et al.: Progression of carotid artery intima-media thickening in HIV-infected and uninfected adults. *AIDS*, 2007, 21: 1137–1145
128. Hadigan C, Meigs JB, Corcoran C, Rietschel P et al.: Metabolic abnormalities and cardiovascular disease risk factors in adults with human immunodeficiency virus infection and lipodystrophy. *Clin. Infect. Dis.*, 2001, 32: 130–139
129. Hattingh Z, Walsh C, Veldman FJ, Bester CJ: The metabolic profiles of HIV-infected and non-infected women in Mangaung, South Africa. *S. Afr. J. Clin. Nutr.*, 2009, 22: 23–28
130. Lorenz MW, Stephan C, Harmjanz A, Staszewski S et al.: Both long-term HIV infection and highly active antiretroviral therapy are independent risk factors for early carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 2008, 196: 720–726
131. Jericó C, Knobel H, Calvo N, Sorli ML et al.:et al.: Subclinical carotid atherosclerosis in HIV-infected patients: role of combination antiretroviral therapy. *Stroke* 2006, 37, 812-7
132. Domingo P, Suarez-Lozano I, Teira R, Lozano F et al.: Dyslipidemia and cardiovascular disease risk factor management in HIV infected subjects treated with HAART in the Spanish VACH cohort. *Open AIDS J.*, 2008, 2: 26–38

133. Hsue PY, Hunt PW, Schnell A, Kalapus SC et al.: Role of viral replication, antiretroviral therapy, and immunodeficiency in HIV-associated atherosclerosis. *AIDS*, 2009, 23: 1059–1067
134. Sattler FR, Qian D, Louie S, Johnson D et al.: Elevated blood pressure in subjects with lipodystrophy. *AIDS*, 2001, 15: 2001–2010
135. Thiébaud R, El-Sadr WM, Friis-Moller N et al. Predictors of hypertension and changes of blood pressure in HIV infected patients. *Antivir. Ther.*, 2005, 10: 811–823
136. Hsue PY, Giri K, Erickson S, MacGregor JS et al.: Clinical features of acute coronary syndromes in patients with human immunodeficiency virus infection. *Circulation* 2004, 109, 316-319
137. Abdollahi A, Morteza A, Khalilzadeh O, Ahmadzadeh A: Factor VIII concentration is greater in female than male patients with HIV infection. *Int. J. Hematol.*, 2011, 93: 53–58
138. Madden E, Lee G, Kotler DP, Wanke C et al.: Association of antiretroviral therapy with fibrinogen levels in HIV-infection. *AIDS*, 2008, 22: 707–715
139. [http://www.mz.gov.pl/wwwfiles/ma\\_struktura/docs/sondaz\\_tyt\\_15112010.pdf](http://www.mz.gov.pl/wwwfiles/ma_struktura/docs/sondaz_tyt_15112010.pdf)
140. Seminari E, Pan A, Voltini G, Carnevale G, Maserati R et al.: Assessment of atherosclerosis using carotid ultrasonography in a cohort of HIV-positive patients treated with protease inhibitors. *Atherosclerosis* 2002, 162, 433-438
141. Oliviero U, Bonadies G, Apuzzi V, Foggia M et al: Human immunodeficiency virus per se exerts atherogenic effects. *Atherosclerosis* 2009, 204, 586-589
142. Jabłońska M, Węgrzynowicz A, Zalewski B.M, Mięka T, Wiecińska-Drapała A: Incidence of smoking cigarettes among HIV-positive patients. *HIV AIDS Rev.*, 2009, 8: 16–18
143. Corey KE, Mendez-Navarro J, Barlow JJ, Patwardhan V, et: Acute hepatitis C infection lowers serum lipid levels. *J of Viral Hepat*, 2011, 18: 366- 371.
144. Badiou S, Thiebaut R, Aurillac-Lavignolle V, Dabis F et al.: Association of non-HDL cholesterol with subclinical atherosclerosis in HIV-positive patients. *J Infection* 2008, 57: 47-54
145. Freitas P, Carvalho D, Santos AC, Madureira AJ et al.: Carotid intima media thickness is associated with body fat abnormalities in HIV-infected patients. *BMC Infect Dis*. 2014, 14: 348
146. Currier J.S., Kendall M.A., Zackin R., Henry W.K et al: Carotid artery intima-media thickness and HIV infection: traditional risk factors overshadow impact of protease inhibitor exposure. *AIDS*, 2005, 19: 927–933



147. Parrinello CM, Landay AL, Hodis HN, Gange SJ et al.: Association of subclinical atherosclerosis with lipid levels amongst antiretroviral-treated and untreated HIV-infected women in the Women's Interagency HIV study. *Atherosclerosis*. 2012, 225: 408–11
148. Ford ES, Greenwald JH, Richterman AG, Rupert A et al: Traditional risk factors and D-dimer predict incident cardiovascular disease events in chronic HIV infection. *AIDS*, 2010, 24: 1509–1517
149. Friis-Moller N, Weber R, Reiss P, Thiebaut R et al. Cardiovascular disease risk factors in HIV patients association with antiretroviral therapy. Results from the DAD study. *Aids*. 2003, 17: 1179–1193
150. Rhew DC, Bernal M, Aguilar D, Illoeje U, Goetz MB: Association between protease inhibitor use and increased cardiovascular risk in patient with human immunodeficiency virus: a systematic review. *Clin Infect Dis*, 2003, 37: 959-972
151. Carr A, Samaras K, Chisholm DJ, Cooper DA: Pathogenesis of HIV-1 protease inhibitor-associated peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia, and insulin resistance. *Lancet* 1998, 351: 1881-1883
152. Fu W, Chai H, Yao Q, Chen CH: Effects of HIV Protease Inhibitor Ritonavir on Vasomotor Function and Endothelial Nitric Oxide Synthase Expression. *Acquir Immune Defic Syndr*, 2005, 39: 152-158.
153. Fiala M, Murphy T, MacDougall J, Yang W et al.: HAART drug induce mitochondrial damage and intracellular gaps ang gp120 causes apoptosis. *Cardiovasc Toxicol*. 2004, 4: 327-338.
154. Lang S, Mary-Krause M, Cotte L, Gilquin J at al.: ANRS study of the relationship between Antiretrovirals and MI. 2009. In: 16th CROI, Montreal, Canada, February 8-11, Abstract 43 LB
155. Lundgren JD, D.A.D. Study Group.: Use of nucleoside reverse transcriptase inhibitors and risk of myocardial infarction in HIV-infected patients enrolled in the D:A:D study: a multi-cohort collaboration. *Lancet* 2008, 371: 1417-1426
156. Cooper DA, Bloch M, Humphries A, Amin J et al.: Simplification with fixed-dose tenofovir/emtricitabine or abacavir/lamivudine in adults with suppressed HIV replication: the STEAL study. 2009. In: 16th CROI, Montreal, Canada, February 8-11, Abstract 576
157. Kreuzer KA, Dayer JM, Rockstroh JK, Sauerbruch T, Spengler U. The IL-1 system HIV infection: peripheral concentrations of IL-1 $\beta$ , IL-1 receptor antagonist and soluble IL-1 receptor type II. *Clin Exp Immunol*. 1997, 109: 54-58

158. Nelson DR, Lim HL, Marousis CG, Fang JW, et al: Activation of tumor necrosis factor-alpha system in chronic hepatitis C virus infection. *Dig Dis Sci*, 1997, 42: 2487-94.
159. Park J, Kang W, Ryu SW, Kim WI, et al.: Hepatitis C virus infection enhances TNF $\alpha$ -induced cell death via suppression of NF- $\kappa$ B. *Hepatology*, 2012, 56: 831-40
160. Neumann MG, Benhamou JP, Marcelin P, Valla D, et al: Cytokine - chemokine and apoptotic signatures in patients with hepatitis C. *Transl Res*, 2007, 14: 126-36.
161. Neumann MG, Malkiewicz IM, Schmilowitz-Weiss H, Klein T, et al: Similarities and differences between cytokines levels in peripheral blood, hepatic and portal vein and in bile in patient with liver cirrhosis. *Hepatology* 2002; 36: 1323-494
162. Sitia G, De Bona A, Bogaglio S, Galli L, et al: Naive HIV/HCV-coinfected patients have higher intrahepatic pro-inflammatory cytokines than coinfecting patients treated with antiretroviral therapy. *Antiviral Therapy*, 2006, 11: 385–389
163. Ross AC, Armentrout R, O’Riordan MA, Storer N et al. Endothelial Activation Markers Are Linked to HIV Status and Are Independent of Antiretroviral Therapy and Lipodystrophy. *Acquir Immune Defic Syndr*. 2008, 49: 499-506
164. Aukrust P, Muller F, Lien E, Nordoy I et al.: Tumor necrosis factor (TNF) system levels in human immunodeficiency virus-infected patients during highly active antiretroviral therapy: persistent TNF activation is associated with virologic and immunologic treatment failure. *J Infect Dis*.1999, 179: 74-82
165. Kuller L. SMART Study Group. Elevated level of interleukin-6 and D-dimer are associated with an increased risk of death in patients with HIV. Paper presented at: Fifteenth Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, February 3–6, Boston, MA. 2008
166. Torriani F, Parker R, Murphy F, Stein J. et al.: Antiretroviral therapy improves endothelial function in treatment-naive HIV-infected subjects: a prospective, randomised multicenter trial (A5152S). Presented at: 10th European AIDS Conference, November 17–20, Dublin, Ireland. 2005
167. Arildsen H, Sorensen KA, Ingerslev JM, Ostergaard LJ, Laursen AL. Endothelial dysfunction, increase inflammation, and activated coagulation in HIV-infected patients improve after initiation of highly active antiretroviral therapy. *HIV Medicine*, 2013, 14: 1-9
168. Sadeghi HM, Weiss L, Kazatchkine MD, Haeflner-Cavaillon N: Antiretroviral therapy suppresses the constitutive production of interleukin-1 associated with human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis*, 1995, 172: 547-50.

169. Solmi M, Veronese N, Favaro A, Santonastaso P, Manzato E et al.: Inflammatory cytokines and anorexia nervosa: A meta-analysis of cross-sectional and longitudinal studies. *Psychoneuroendocrinology*, 2015, 51:237-252, doi: 10.1016/j.psyneuen.2014.09.031
170. Feingold KR, Doerrler W, Dinarello CA, Fiers W, Grunfeld C.: Stimulation of lipolysis in cultured fat cells by tumor necrosis factor, interleukin-1, and the interferons is blocked by inhibition of prostaglandin synthesis. *Endocrinology*. 1992 Jan,130:10-6
171. Seigneur M, Constans J, Blann A, Renard M et al.: Soluble adhesion molecules and endothelial cell damage in HIV infected patients. *Thromb Haemost*. 1997,77:646–649
172. Lo Iacono O, Garcia-Monzon C, Almasio P, García-Buey L et al.: Soluble adhesion molecules correlate with liver inflammation and fibrosis in chronic hepatitis C treated with interferon -a, *Aliment Pharmacol Ther* 1998, 12: 1091–1099
173. Kapllanski G, Farnarier C, Payan MJ, Bongrand P, Durand JM: Increased levels of soluble adhesion molecules in the serum of patients with hepatitis C. Correlation with cytokine concentrations and liver inflammation and fibrosis, *Dig Dis Sci* 1997, 42: 2277–2284
174. Bruno CM, Sciacca C, Cilio D, Bertino G et al.: Circulating adhesion molecules in patients with virus-related chronic diseases of the liver. *World J Gastroenterol* 2005, 11:4566-4569.
175. Nathan L, Pervin S, Singh R, Rosenfeld M, Chaudhuri, G: Estradiol inhibits leukocyte adhesion and transendothelial migration in rabbits in vivo : possible mechanisms for gender differences in atherosclerosis. *Circ. Res.* 85, 377–385
176. Mukherjee TK, Nathan L, Dinh H, Reedy ST: 17-Epiestriol, an Estrogen Metabolite, Is More Potent Than Estradiol in Inhibiting Vascular Cell Adhesion Molecule 1 (VCAM-1) mRNA Expression. *The J Biol Chem*. 2003, 278: 11746-11752
177. Boehme MW, Deng Y, Raeth U, Bierhaus A et al.: Release of thrombomodulin from endothelial cells by concerted action of TNF-alfa and neutrophils: in vivo and in vitro studies. *Immunology*, 1996, 87: 134-140
178. Blann AD, Daly RJ, Amiral J.: The influence od age, gender and ABO group blood on soluble endothelial cell markers and adhesion molekules. *British J of Haemat*. 1996, 92: 498-500
179. Richardson MA, Berg DT, Calnek DS, Ciaccia AVet al.: 17beta-estradiol, but not raloxifene, decreases thrombomodulin in the antithrombotic protein C pathway. *Endocrinology*. 2000, 141: 3908-3911

180. Quehenberger P, Loner U, Kapiotis S, Handler S et al.: Increased levels of activated factor VII and decreased plasma protein S activity and circulating thrombomodulin during use of oral contraceptives., *Thromb Haemost.* 1996, 76 : 729-734
181. Konstantoulas CJ, Cooper JA, Ohlin AK, Humphries SE et al.: Low soluble thrombomodulin activity and antigen is associated with a family history of heart disease while a high level is associated with a personal history of heart disease in type 2 diabetes. *Thromb Haemost.* 2007,97: 161-4
182. Leurs PB, Stolk RP, Hamulyak K, Van Oerle R et al.: Tissue factor pathway inhibitor and other endothelium-dependent hemostatic factors in elderly individuals with normal or impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2002, 25:1340-5
183. Aso Y, Fujiwara Y, Tayama K, Takanashi K et al.: Relationship between plasma soluble thrombomodulin levels and insulin resistance syndrome in type 2 diabetes: a comparison with von Willebrand factor. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2001, Vol. 109: 210-216
184. Aukrust P, Bjørnsen S, Lunden B, Otterdal K et al.: Persistently elevated levels of von Willebrand factor antigen in HIV infection. Downregulation during highly active antiretroviral therapy. *Thromb Haemost.* 2000, 84: 183-187
185. Wasilewski J, Poloński L.: Znaczenie fibrynogenu i właściwości reologicznych krwi w miażdżycy i chorobie wieńcowej. *Choroby Serca i Naczyń* 2010, 7: 62–71
186. Beret H, Wocial B, Kuczyńska K, Raczowska M.: Homocysteina i hemostatyczne czynniki ryzyka miażdżycy u chorych z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym. *Arterial Hypertension* 2001, 5, 255–260
187. Smith EB, Keeng G, Grant A, Strick CH: Fate of fibrinogenin human arterial intima. *Arteriosclerosis* 1990, 10, 263–275
188. Montalescot G, Collet JP, Choussat R, Thomas D: Fibrinogen as a risk factor for coronary heart disease. *Eur. Heart J.* 1998, 19 (supl. H): H11–H17
189. La Mura V, Reverter JC, Flores-Arroyo A, Raffa S et al.: Von Willebrand Factor Levels Predict Clinical Outcome in Patients With Cirrhosis and Portal Hypertension *Gut.* ,60:1133-1138
190. Antonova TV, Romanova MA, Lyman IuV.: Markers of endothelial dysfunction (VCAM-1 and vWF) in chronic hepatitis C. *Ter Arkh.* 2013, 85: 86-89
191. Mayne E, Funderburg NT, Sieg SF, Asaad R et al.: Increased platelet and microparticle activation in HIV infection: upregulation of P-selectin and tissue factor expression. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2012,59: 340–346

192. Hsue PY, Lo JC, Franklin A, Bolger AF et al.: Progression of atherosclerosis as assessed by carotid intima-media thickness in patients with HIV infection. *Circulation*. 2004,109: 1603–1608
193. Manner IW, Trøseid M, Oektedalen O, Baekken M, Os I.: Low Nadir CD4 Cell Count Predicts Sustained Hypertension in HIV-Infected Individuals. *J Clin Hyperten*. 2013,15 : 101–106
194. Sandset PM, Arsen ML, Abildgaard U.: Chromogenic substrate assay of extrinsic pathway inhibitor (EPI): levels in the normal population and relation to cholesterol. *Blood Coagul Fibrinol*. 1991, 2: 425
195. Hansen JB, Huseby KR, Sandset PM, Svensson B.: Tissue factor pathway inhibitor and lipoproteins: evidence for association with and regulation by LDL in human plasma. *Arterioscler Throm*. 1994, 14: 223
196. Saito M, Morishita E, Asakura H, Jokaji H, et al.: Analysis of behaviors of plasma tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in patients with various diseases. *Rinsho Ketsueki*, 1996, 37: 794
197. Sakkinen PA, Cushman M, Psaty BM, Kuller LH, et al.: Correlates of Antithrombin, Protein C, Protein S, and TFPI in a Healthy Elderly Cohort. *Thromb Haemost*. 1998, 80: 134-139
198. Falciani M, Gori AM, Fedi S, Chiarugi L, et al. Elevated tissue factor and tissue factor pathway inhibitor circulating levels in ischaemic heart disease patients. *Thromb Haemost*. 1998, 79:495-9.
199. Baker JV, Brummel-Ziedins K, Neuhaus J, Dupres D et al.: HIV Replication Alters the Composition of Extrinsic Pathway Coagulation Factors and Increases Thrombin Generation. *J Am Heart Assoc*. 2013, 2: e000264 doi: 10.1161/JAHA.113.000264
200. Sardo MA, Campo S, Mandraffino G, Saitta C, et al. Tissue factor and monocyte chemoattractant protein-1 expression in hypertensive individuals with normal or increased carotid intima-media wall thickness. *Clin Chem*. 2008, 54:814-23.
201. Nakagomi A, Sasaki M, Ishikawa Y, Shibui T, et al. Upregulation of monocyte tissue factor activity is significantly associated with carotid intima-media thickness in patients with metabolic syndrome. *J Atheroscler Thromb*. 2011, 18:475-486.