



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



Universitat Autònoma
de Barcelona

Tesis Doctoral

Programa de doctorado en Medicina

Departamento de Medicina

Junio 2020

**HDL-COLESTEROL Y SU CAPACIDAD ACEPTORA DEL
COLESTEROL PROCEDENTE DE MACRÓFAGOS EN
ARTRITIS REUMATOIDE: RELACIÓN CON
ATEROMATOSIS SUBCLÍNICA**

Tesis doctoral presentada por **Beatriz Tejera Segura**
para optar al grado de Doctor

Trabajo realizado bajo la dirección de:

Ivan Ferraz-Amaro y Alejandro Olivé Marqués

Tutor académico: **Jordi Tor Aguilera**

Si no puedes hacer grandes cosas, haz cosas pequeñas de una gran forma

(Napoleon Hill)

PRÓLOGO

Confieso que a pesar de ser una doctora enamorada de su especialidad, las “artritis” nunca fueron mi pasión durante la residencia. Yo siempre he sido una reumatóloga de “sistémicas” pero no tipo artritis reumatoide, más bien, tipo lupus eritematoso sistémico, vasculitis, y otras enfermedades autoinmunes con mayor predilección por otros aparatos que no sean necesariamente el aparato locomotor. Sin embargo, en mi primer año de adjunta, empecé a trabajar en otro hospital completamente nuevo para mí y un compañero, actualmente, gran amigo, me contagió su entusiasmo por otras enfermedades reumáticas que no fuesen las que vemos en los capítulos de *House*. Y aquí estoy, nerviosa, pero con mucha ilusión, escribiendo una de las primeras páginas de mi tesis doctoral sobre artritis reumatoide y riesgo cardiovascular, una de las primeras causas de morbi-mortalidad en este grupo de pacientes.

A ellos, a todos los pacientes con artritis reumatoide de cualquier etnia, género, edad, y religión, va dirigida esta tesis doctoral. Para que ayudadros, siempre sea el primer motivo de cualquier trabajo de investigación que realice, ahora y siempre.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por haberme transmitido, de forma u otra, el espíritu de intentar hacer tu trabajo lo mejor posible, siempre con cariño y humildad. A mi madre, para mí la persona más auténtica y magnífica del mundo, gracias por TODO aunque todos los agradecimientos sean pocos.

A mi familia, la “crazy family”, por estar siempre ahí, conmigo, aunque yo a veces no esté presente tanto como me gustaría. Os quiero mucho. A mi querido abuelo Juan, que siempre me acompaña y da fuerzas en esos días negros en los que la adversidad parece no querer marcharse. Todos los días me acuerdo de ti.

A Emi, mi media mitad, mi alma gemela, mi hermana del alma, contigo hasta el fin del mundo.

A mi compañero de viaje, Alfon, por sacarme todas esas sonrisas en épocas buenas, y no tan buenas. Por inspirarme con su creatividad. Sin duda alguna, eres el hombre de mi vida.

A mis amigos canariones y catalanes, frikis de hospital y frikis de otros ámbitos, por compartir días de estudio interminables y dramas personales y laborales, pero también risas cuando una guardia no podía ir peor, desayunos hospitalarios a las 04.00 de la mañana, cenas entre semana y noches de esas que ya uno a mi edad no aguanta.

A mis compis de reuma del CHUIMI, por aguantar mis “brotos de ira” con la tesis en esta época difícil de confinamiento y hacer mi día a día ameno y divertido, a pesar de todo. A María, mi reumatóloga preferida, por esas notas de voz estos últimos meses que para mí han sido como chutes de energía y optimismo.

A todos los que han hecho posible el desarrollo de esta tesis doctoral tanto en el hospital Universitario de Canarias (María, José D, Toñi y Jose A) como en Santander (José María, José L y Miguel Ángel). A los enfermeros que nos

ayudaron a recoger muestras de sangre en aquellas tardes infinitas. Gracias por vuestra colaboración y apoyo incondicional. Os estaré eternamente agradecida.

A todos y cada uno de los pacientes que han participado de forma desinteresada en este trabajo. Vosotros sois un pilar fundamental en esta tesis.

A mi tutor y mentor, "Oli", por transmitirme desde el primer minuto, esa pasión por la reumatología que llevo conmigo desde entonces y de la que estoy muy orgullosa. Al resto del equipo canrutiano, tanto mis adjuntos como mis queridas resis de la "secta reumática". Sin duda alguna, habéis hecho de mí la reumatóloga que soy ahora. Os echo de menos.

A Ivan: "Einstein nunca descansaba". Me fue imposible no engancharme a la investigación después de conocerte. Recuerdo la emoción y facilidad con la que me explicabas los análisis de regresión, el eje insulina-incretina y demás esquemas indescifrables para mí. Hubo un antes y un después en mi carrera profesional y te estoy eternamente agradecida por ello querido Ivan. Eres un ejemplo a seguir.

ABREVIATURAS

HDL	High-density lipoprotein; lipoproteína de alta densidad
RCV	Riesgo cardiovascular
AR	Artritis reumatoide
FRCV	Factores de riesgo cardiovascular
FAMEs	Fármacos modificadores de la enfermedad
LDL	Low-density lipoprotein; lipoproteína de baja densidad
CEC	Cholesterol efflux capacity; flujo reverse de colesterol
CIMT	Carotid intima-media thickness; grosor de la íntima media carotidea
HDL-C	HDL colesterol
EAS	Enfermedades autoinmunes sistémicas
PCR	Proteína C reactiva
HLA	Antígeno leucocitario humano
IL-1β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa
DM-2	Diabetes mellitus tipo 2
IMC	Índice de masa corporal
TGF- β	Transforming growth factor β ; factor de crecimiento transformante β
CT	Colesterol total
LDL-C	LDL colesterol
NHANES	Third National Health and Nutrition Examination Survey
VSG	Velocidad de sedimentación globular
ratio CT/HDL-C	Ratio colesterol total HDL colesterol
FR	Factor reumatoide

ACPA	Anticuerpo anti-péptido citrulinado
IL-17	Interleucina 17
VE-cadherina	Vascular endothelial cadherin; cadherina vascular endotelial
DAS 28	Disease activity score 28; índice actividad de la enfermedad 28
ROS	especies reactivas de oxígeno
EPCs	Células endoteliales progenitoras
NETs	Neutrophil Extracellular Traps; trampas extracelulares de neutrófilos
DAMPs	Danger-associated molecular patterns; patrones Moleculares asociados a daño
vWF	Factor de von Willebrand
ApoA-I	Apolipoproteína A-I
ABCA-1 ATP	Binding cassette transporter 1; transportador de casete dependiente de ATP
LCAT	Lecitina-colesterol-acetiltransferasa
ABCG-1	ATP binding cassette transporter G1; transportador de casete dependiente de ATP G1
SR-B1	Scavenger receptor class B type 1; receptor scavenger clase B tipo 1
HDL-T	Nivel total de colesterol HDL
ApoB	Apolipoproteína B
FRS	Framingham Score
SCORE	Systematic Coronary Risk Evaluation; Evaluación del Riesgo Coronario Sistemático
RRS	Reynolds Risk Score; Índice de riesgo Reynolds
QRISK3	Cardiovascular Risk Score 3; índice de riesgo cardiovascular tipo 3
ERS-RA	Expanded Cardiovascular Risk Prediction Score for Rheumatoid Arthritis; índice de predicción de riesgo cardiovascular aumentado para la artritis reumatoide
CORRONA	Consortium of Rheumatology Researches of North America

CDAI	Clinical disease activity index; índice clínico de actividad de la enfermedad
HAQ	Modified Health Assessment Questionnaire disability index; índice modificado de evaluación de salud e incapacidad
ACR/EULAR	American College of Rheumatology/EUropean League Against Rheumatism: Colegio Americano de Reumatología/Liga Europea contra el reumatismo
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay; ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas
SDAI	Simple disease activity index; índice simple de actividad de la enfermedad
BODIPY	Borondipyrrromethene
ACAT	Acetil-coenzima A acetiltransferasa
RPMI	Roswell Park Memorial Institute medium; medio del instituto Roswell Park Memorial
FBS	Fetal bovine serum; suero bovino fetal
MEM-HEPES	Minimum Essential Medium Eagle
cAMP	Adenosina monofosfato cíclica
BSA	Bovine serum albumin; albúmina de suero bovino
AINES	Anti-inflamatorios no esteroideos
CETP	Cholesteryl ester transfer protein; proteína de transferencia de éster de colesterol
IQR	Rango intercuartil
JUPITER	Justification for the Use of statins in Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin

Índice

1. RESUMEN	1
2. SUMMARY.....	3
3. INTRODUCCIÓN.....	6-27
3.1. Justificación del trabajo	6
3.2. Riesgo cardiovascular en la artritis reumatoide	7
3.3. FRCV en los pacientes con Artritis Reumatoide	8-12
3.3.1. Hipertensión arterial en la AR.....	8
3.3.2. Resistencia a la insulina y diabetes en la AR	9
3.3.3. Obesidad en la AR	10
3.3.4. Dislipemia en la AR.....	11
3.3.5. Tabaquismo y AR.....	12
3.4. Mecanismos comunes entre la inflamación y la aterosclerosis en la artritis reumatoide.....	14-19
3.4.1. Relación entre inflamación y aterosclerosis en la artritis reumatoide	14
3.4.2. Relación entre inflamación, actividad de la enfermedad y riesgo cardiovascular	16
3.4.3. Estrés oxidativo y riesgo cardiovascular en la AR.....	17
3.4.4. Disfunción endotelial y riesgo cardiovascular en la AR	17
3.4.5. NETosis y aterosclerosis acelerada en la AR	18
3.4.6. Susceptibilidad genética y aterosclerosis en la AR	19

3.5. Capacidad aceptora del colesterol HDL (CEC) y riesgo cardiovascular	19-24
3.5.1. Mecanismos implicados en el transporte y flujo reverso de colesterol	19
3.5.2. CEC en población sana y riesgo cardiovascular	21
3.5.3. CEC en AR riesgo cardiovascular: ¿qué sabemos?.....	24
3.6. Evaluación del riesgo cardiovascular en pacientes con artritis reumatoide.....	25-27
4. HIPÓTESIS.....	30
5. OBJETIVOS.....	33
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	36
6.1. Diseño del estudio	36
6.2. Sujetos del estudio	36
6.3. Recogida de datos	37-40
6.3.1. Variables clínicas	37
6.3.2. Variables de laboratorio	38
- Pruebas de laboratorio: reactantes de fase aguda y hematimetría	39
- Pruebas de laboratorio: bioquímica plasmática.....	39
- Pruebas de autoinmunidad:.....	40
6.3.3. Variables de actividad.....	40
6.4. Evaluación del flujo reverso de colesterol.....	41
6.5. Evaluación de CIMT por ecografía carotídea	42
6.6. Análisis estadístico	43
7. RESULTADOS	46
7.1. Datos demográficos, de laboratorio y relacionados con la enfermedad	46

7.2. Relación entre la CEC y las características demográficas, FRCV tradicionales, y variables asociadas a la enfermedad entre pacientes y controles	48
7.3. Relación entre las características de los pacientes con AR, el CIMT y la presencia de placas carotideas	50
7.4. Asociación de la CEC con la ateromatosis subclínica en pacientes con AR	53
8. DISCUSIÓN.....	56
9. CONCLUSIONES.....	67
10. LINEAS DE FUTURO.....	70
11. BIBLIOGRAFÍA.....	74
12. ANEXOS.....	99
12.1. Relación de figuras	99
12.2. Relación de tablas	99
12.3. Artículo publicado en la revista indexada Arthritis Research & Therapy	100

1. RESUMEN

En los pacientes con artritis reumatoide, la inflamación propia de la enfermedad así como la actividad de la misma, se han relacionado con un perfil lipídico anómalo. La capacidad aceptora de colesterol HDL, conocida como flujo reverso de colesterol, es la capacidad del colesterol HDL para aceptar el colesterol de los macrófagos. Esta función principal del HDL colesterol no sólo se ha vinculado a eventos cardiovasculares en población general, sino también, parece estar alterada en los pacientes con artritis reumatoide.

En esta tesis doctoral se realizan diferentes análisis en una población de pacientes con artritis reumatoide con el objetivo de discernir si existe una relación entre la capacidad aceptora del colesterol HDL y distintos parámetros predictores de la aterosclerosis subclínica así como características de la propia enfermedad articular. Del mismo modo, se estudia la posible asociación entre las concentraciones séricas de las diferentes lipoproteínas y el perfil lipídico estándar en pacientes y grupo control. La tesis incluye una revisión de la literatura sobre riesgo cardiovascular en pacientes con artritis reumatoide así como una revisión de los principales mecanismos fisio-patogénicos implicados en el aumento de riesgo cardiovascular en estos pacientes. La investigación de la presente tesis se divide en tres apartados. Un primer apartado en el que se describen las variables clínicas de los pacientes con artritis reumatoide y el grupo control, y en el cual se recalcan las diferencias pertinentes. Un segundo apartado que refleja las distintas asociaciones entre el perfil lipídico y la capacidad aceptora de colesterol en los pacientes con artritis reumatoide y los controles. Finalmente, un tercer apartado en el que se investiga la relación entre los parámetros predictores de aterosclerosis subclínica y la capacidad aceptora de colesterol. No cabe la menor duda que serán necesarios otros análisis para

poder entender profundamente los mecanismos del riesgo cardiovascular en la artritis, sin embargo, nuestros resultados podrían ser un paso previo y tener su aplicación en práctica clínica.

2. SUMMARY

Lipid profiles appear to be altered in rheumatoid arthritis patients because of disease activity and inflammation. Cholesterol efflux capacity which is the ability of high-density lipoprotein cholesterol to accept cholesterol from macrophages, has been linked not only to cardiovascular events in the general population but also, to be impaired in patients with rheumatoid arthritis.

In the present work, we performed different analyses in a rheumatoid arthritis population in order to investigate whether there is a relationship between the acceptance capacity of HDL cholesterol and different predictive parameters of subclinical atherosclerosis as well as characteristics of the joint disease itself. Similarly, the possible association between the serum concentrations of the different lipoproteins and the standard lipid profile in patients and control group is studied. Furthermore, the present work includes a review of the literature on cardiovascular risk in patients with rheumatoid arthritis as well as a review of the main pathophysiological mechanisms that may be involved in the increased cardiovascular risk in these patients. The thesis research is divided into three sections. The first section describes the clinical variables of patients with rheumatoid arthritis and the control group, and emphasizes the relevant differences. A second section reflecting the different associations between lipid profile and cholesterol acceptance capacity in patients with rheumatoid arthritis and controls. Finally, a third section investigating the relationship between predictive parameters of subclinical atherosclerosis and cholesterol acceptance capacity. Although other analyses will undoubtedly be necessary to understand in depth the mechanisms of cardiovascular risk in rheumatoid arthritis, some of our results might be a preliminary step and have applicability in clinical practice.

Introducción

3. Introducción

3.1. Justificación del trabajo

El aumento de riesgo cardiovascular (RCV) en los pacientes que padecen artritis reumatoide (AR) es responsable de un aumento de la morbilidad en este grupo de pacientes y es además, una de las principales causas de mortalidad. Durante los últimos años se ha profundizado en los posibles mecanismos fisiopatogénicos que conllevan a un aumento del riesgo¹. Si se deja a un lado el componente genético y los factores de riesgo cardiovascular (FRCV) clásicos, se evidencia que la propia inflamación juega un papel fundamental en la aterosclerosis acelerada observada en la AR^{2,3}.

Se describen diversos estudios que ponen de manifiesto que la propia enfermedad reumática es un factor predisponente para desarrollar un perfil lípido aterosclerótico. Éste a su vez, se correlaciona con la actividad de la enfermedad y con los fármacos modificadores de la enfermedad (FAMEs), tratamientos empleados en estos pacientes⁴. Sin embargo, paradójicamente, la modificación del perfil lipídico en la AR se caracteriza por una disminución del colesterol total y del colesterol LDL por mecanismos todavía desconocidos⁵.

La capacidad aceptora del colesterol (CEC) consiste en la habilidad del HDL colesterol para captar el colesterol de los macrófagos. Este hecho representa un paso fundamental en el transporte reverso del colesterol^{6,7}. Por otro lado, se ha observado que el transporte reverso del colesterol se correlaciona con el grosor de íntima media (CIMT) y la enfermedad coronaria en población sana, independientemente de los niveles de colesterol HDL del individuo. Así mismo, se ha demostrado que la CEC está alterada en pacientes con AR y que este hecho se correlaciona con la inflamación sistémica propia de la enfermedad y la

capacidad anti-oxidante del HDL-C⁸. Sin embargo, las implicaciones de la alteración de la CEC en el desarrollo de la aterosclerosis subclínica en pacientes con AR no se han estudiado hasta el momento.

3.2. Riesgo cardiovascular en la artritis reumatoide

La AR es una enfermedad autoinmune sistémica que afecta a un 0'5% de los adultos en España. Es más frecuente en mujeres que en hombres, con una proporción de 3:1. Su prevalencia mundial es mayor del 1% siendo más común en el norte de Europa y en América. Puede comenzar a cualquier edad, aunque su inicio es más frecuente entre los 40 y los 60 años. La incidencia aumenta en familiares (2-3 veces) y en gemelos monocigóticos, en éstos la presencia de la enfermedad tiene una mayor concordancia⁹.

La AR no solo afecta a las articulaciones sino que también, puede ser responsable de manifestaciones extra-articulares. En otras palabras, puede afectar a otros órganos y aparatos fuera de la articulación. En el caso del sistema cardiovascular por ejemplo, la pericarditis es la manifestación más frecuente encontrándose hasta en un 50% de las autopsias de estos pacientes. Asimismo, está bien establecido que los pacientes con AR tienen más aterosclerosis, con una mayor prevalencia de los FRCV clásicos tales como la hipertensión, la hipercolesterolemia, la diabetes, la obesidad y el tabaquismo^{10,11}.

Durante décadas, la presencia de FRCV en las enfermedades autoinmunes sistémicas (EAS) se ha subestimado, pero lo cierto es que los eventos cardiovasculares son la principal causa de mortalidad en los pacientes con AR (10-30% de las muertes). Asimismo, la mortalidad por eventos cardiovasculares está aumentada con respecto a población general, por encima de un 50% según algunos meta-análisis^{1,14}.

Varios estudios retrospectivos ponen de manifiesto que los pacientes con AR tienen mayor riesgo de mortalidad por infarto agudo de miocardio y fallo cardiaco cuando se comparan con grupos de población de su misma edad y género^{10,11,16}. La asociación de los FRCV tradicionales con el desarrollo de eventos cardiovasculares parece ser diferente en pacientes con AR que en población general^{15,16}.

A lo largo de los años, múltiples estudios sugieren que la inflamación que caracteriza a la AR es clave en la predisposición para desarrollar un evento cardiovascular. En un estudio realizado sobre autopsias de pacientes con AR se encontró no solo inflamación en el tejido arterial coronario sino también un mayor número de placas inestables¹⁷. Asimismo, otros autores han demostrado que la presencia de actividad de la enfermedad medida por articulaciones inflamadas y proteína C reactiva (PCR) elevada, se asoció a mayor número de placas carotideas¹⁸⁻²⁰. A este hecho se suman los marcadores genéticos como el HLA-DRB1*0404 que también se ha asociado a eventos cardiovasculares²⁰, el tratamiento con glucocorticoides²¹ y la presencia de auto-anticuerpos^{22,23}.

3.3. FRCV en los pacientes con Artritis Reumatoide

3.3.1. Hipertensión arterial en la AR

La hipertensión arterial es un factor de riesgo bien establecido para el desarrollo de RCV con una prevalencia en torno a un 29% en población general²⁴. La prevalencia en pacientes con AR se establece entre un 3'8%-7'3%²⁵⁻²⁹ siendo éste un factor de riesgo independiente para el desarrollo de eventos cardiovasculares. En un meta-análisis que incluyó estudios longitudinales, se encontró un 84% de aumento de riesgo en aquellos pacientes con AR e hipertensos cuando se comparó con el grupo de no hipertensos (RR 1,8 95% CI

1,4-2,5)³⁰. En el estudio de Singh y colaboradores, se utilizaron modelos de predicción de riesgo cardiovascular basados en el *Framingham Heart Study*. Se observó que un aumento de 20 mmHg de la presión arterial sistólica en pacientes con AR se asociaba a 1572 eventos isquémicos cardíacos adicionales por año³¹. No obstante, a pesar de la asociación de hipertensión arterial y el riesgo cardiovascular, el cribado de este parámetro en los pacientes con AR suele ser subóptimo.

En estos pacientes se evidencia también que los efectos de la inflamación sistémica y los diferentes tratamientos utilizados contribuyen junto con polimorfismos genéticos específicos, a la hipertensión arterial³²⁻³⁴.

3.3.2. Resistencia a la insulina y diabetes en la AR

La AR y la diabetes están fuertemente asociadas³⁵. Mediadores inflamatorios como son las interleucinas 1 beta (IL-1 β), la interleucina-6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) contribuyen de manera significativa en la aterosclerosis. Estas citocinas pro-inflamatorias pueden producir una disfunción de las células beta y progresivamente conducir este proceso a una resistencia a la insulina^{35,36,40}. Por tanto, existe una relación bidireccional entre la AR y la diabetes mellitus tipo 2 (DM-2) de tal forma que los pacientes con AR tienen más riesgo de desarrollar DM-2 y ésta a su vez, es más prevalente en los pacientes con AR³⁷.

En una cohorte italiana de pacientes con AR se objetivó una mayor alteración del metabolismo de la glucosa con respecto a controles sanos (apareados por edad y género) y esta alteración a su vez se asoció con FRCV tradicionales y actividad de la enfermedad³⁷. Los mismos autores encontraron un riesgo significativo de desarrollar diabetes tipo 2 en los pacientes con AR en un estudio longitudinal de un año de seguimiento³⁸. Recientes publicaciones han demostrado que algunos

de los fármacos utilizados para el tratamiento de la AR pueden producir un efecto positivo en la prevención de la diabetes³⁹.

3.3.3. Obesidad en la AR

La obesidad, igual que la hipertensión y la diabetes, es un factor asociado de forma independiente al riesgo cardiovascular en pacientes con AR⁴¹⁻⁴². La obesidad además se asocia a disfunción endotelial y promueve la aterosclerosis. El tejido adiposo es una fuente de factores inflamatorios como son la IL-6, el TNF- α y la PCR, lo que induce un estado de inflamación de bajo grado que contribuye al riesgo cardiovascular⁴³. Es sabido que algunas citocinas producidas por los adipocitos (adipocinas) tales como la resistina, la adiponectina o la leptina, tienen acciones proinflamatorias. El desequilibrio entre estas adipocinas actúa como potenciador de la inflamación y del riesgo cardiovascular en la AR (**Figura 1**).

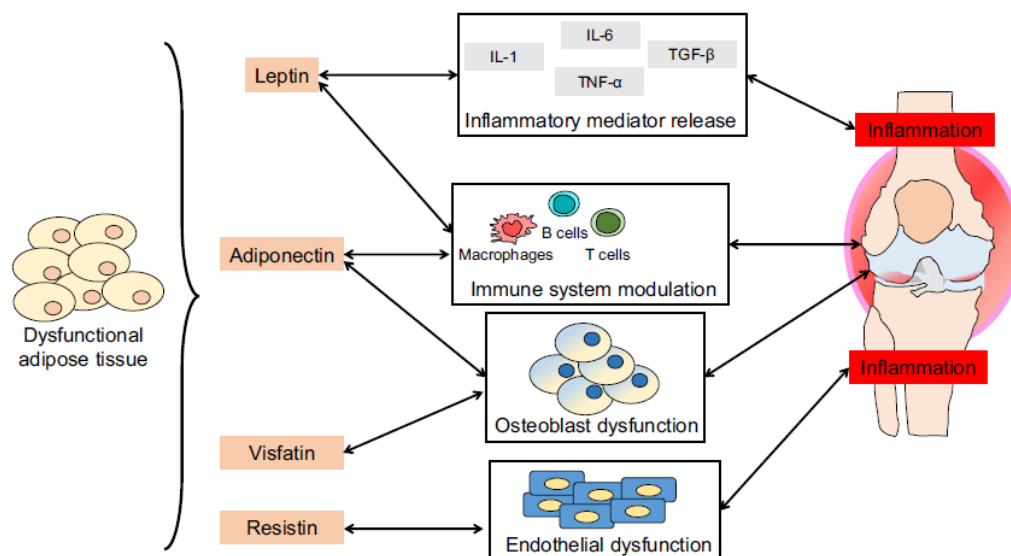


Figura 1. Papel de las adipocinas en la inflamación y el RCV en la AR. Adaptado de Carbone F, et al⁴⁴. Interleucina 1 (IL-1); interleucina 6 (IL-6); factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α); factor de necrosis tumoral beta (TNF- β).

Asimismo, se observa una correlación negativa entre un IMC elevado (índice de masa corporal) y el CIMT⁴⁵. Paradójicamente, un IMC bajo en pacientes con AR, esto es, $< 18,5 \text{ kg/m}^2$ se asocia a un aumento del riesgo cardiovascular, posiblemente, por la caquexia reumatoidea^{46,47}.

3.3.4. Dislipemia en la AR

La relación de los lípidos y el RCV en pacientes con AR es más compleja de lo que se piensa. En población general, el perfil aterogénico de los lípidos viene determinado por un colesterol total (CT) y colesterol de baja densidad (LDL-C) elevado y colesterol de alta densidad (HDL-C) disminuido. La dislipemia es frecuente en los pacientes con AR y se asocia a RCV⁴⁸. Incluso podría estar presente antes del diagnóstico de la enfermedad⁴⁹. Los niveles de lipoproteína A, estructuralmente similar al LDL-C y aterogénica, también se describen elevados en pacientes con AR^{50,51}.

Se debe tener en cuenta que los niveles de colesterol total disminuyen con la inflamación. La *Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)* comparó el perfil lipídico de 128 pacientes con AR con una edad ≥ 60 años con un grupo control de pacientes sin AR. Este estudio puso de manifiesto que los pacientes con AR que no tomaban FAMES y/o glucocorticoides, tenían niveles de HDL-C significativamente más bajos⁵². Del mismo modo, en aquellos pacientes con AR activa se encontraron niveles disminuidos de CT y LDL-C mientras que el riesgo de desarrollar infarto agudo de miocardio se mantuvo 1'6 veces mayor que en pacientes sin AR^{4,53}.

A este fenómeno se le conoce como "*lipid paradox*" – paradoja de los lípidos, es decir, los niveles bajos de LDL no se asocian necesariamente a una disminución del RCV. Por otro lado, los niveles elevados de PCR se asociaron a mayor inflamación que se correlacionó con niveles bajos de LDL-C y CT y altos de HDL-

C, sin embargo, al mismo tiempo, la PCR elevada se asoció a RCV^{5,54}. El mecanismo exacto por el que existe esta “*lipid paradox*”- paradoja de los lípidos es desconocido: los factores genéticos pueden disminuir la síntesis de lípidos y aumentar su eliminación; también el CT es un sustrato importante para todos los procesos inflamatorios por lo que podrían estar relacionados con la disminución del CT^{5,19,54}. Asimismo se sugiere que los tratamientos para la AR pueden disminuir la inflamación aumentando los niveles de colesterol, especialmente fármacos biológicos tales como el tocilizumab (fármaco inhibidor del receptor de IL-6)⁵⁵.

Dejando a un lado las modificaciones cuantitativas en los lípidos, la inflamación también tiene un impacto en el aspecto cualitativo del colesterol. Los niveles de inflamación podrían determinar cuál es el impacto del LDL-C en el RCV. Por ejemplo, el LDL-C tiene más impacto cuando la VSG (velocidad de sedimentación globular) es mayor de 39 mm/hora⁴. Asimismo, la inflamación afecta la capacidad anti-oxidante del HDL-C. En circunstancias normales, el HDL-C es responsable de inhibir la oxidación del LDL-C y el flujo reverso de colesterol desde la pared de los vasos⁵⁶. En un estado de inflamación, el HDL-C se altera y pierde su capacidad para remover el colesterol de la aterosclerosis volviéndose pro-aterogénico^{55,57}. Los pacientes con AR tienen un ratio CT:HDL-C elevado lo que indica un alto riesgo aterogénico. Los tratamientos para la AR mejoran la función del HDL-C como consecuencia de la disminución de la inflamación por lo que es fundamental controlar la actividad de la enfermedad en la AR.

3.3.5. Tabaquismo y AR

La prevalencia de tabaquismo, es mayor en pacientes con AR que en la población general y está bien establecido que éste se correlaciona con el FR positivo⁵⁸ y la

citrulinización con la consiguiente producción de ACPA⁵⁹, aumento de la gravedad de la enfermedad articular⁶⁰ y peor respuesta al tratamiento⁶¹. En efecto, todos estos factores se asocian a comorbilidad cardiovascular en los pacientes con AR. En un estudio longitudinal que incluyó 37.568 pacientes con AR, y 896 eventos cardiovasculares, el ser fumador se asoció a infarto de miocardio en un 42% vs los pacientes nunca fumadores (HR 1,4 95% CI 1,1-1,8)¹⁸. En otro estudio con 5.638 pacientes con AR sin historia previa de eventos cardiovasculares, con un seguimiento de 5,8 años, se observó que los pacientes que fumaban tenían mayor riesgo que otros pacientes con diferentes FRCV de desarrollar un evento⁶².

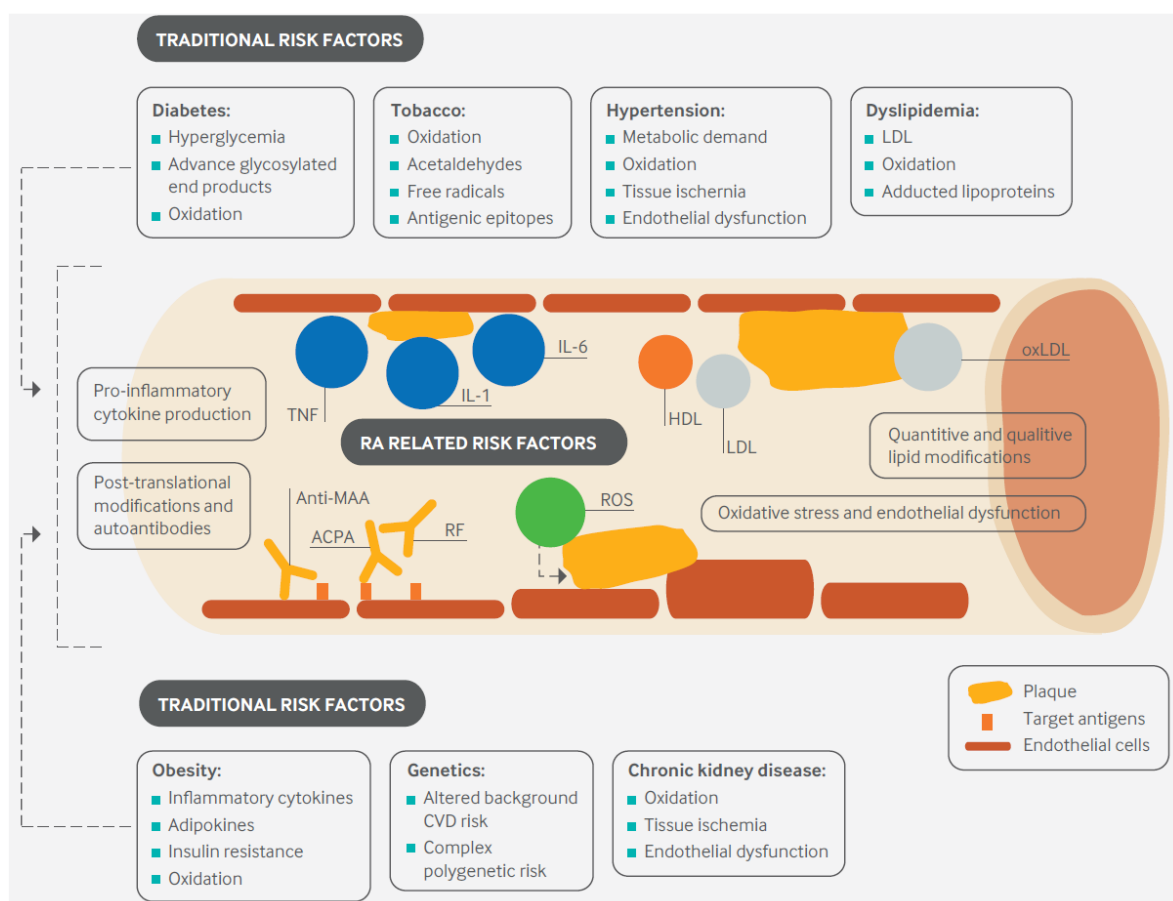


Figura 2. Resumen de los mecanismos implicados en el desarrollo de RCV en la AR. Adaptación de England BR, et al⁶³. Diferentes mecanismos interfieren en el desarrollo del RCV en la AR. La alta actividad de la enfermedad participa en la inflamación sistémica y la producción de citocinas pro-inflamatorias. Esta inflamación produce modificaciones cuantitativas y cualitativas que alteran el transporte del colesterol y favorecen la formación de mastocitos.

Las modificaciones post-translacionales de ciertas proteínas actúan como dianas para anticuerpos de la AR y a su vez, producen un efecto deletéreo en el sistema cardiovascular, favoreciendo la inflamación local y sistémica. El estrés oxidativo, que resulta de la inflamación, contribuye con estas modificaciones post-translacionales de proteínas afectando directamente a la función endotelial. Estos mecanismos relacionados con la propia AR, exacerbaban la patogenicidad de los FRCV clásicos como el tabaco, la obesidad, la diabetes, la dislipemia, la hipertensión, entre otros. Factor de necrosis tumoral (TNF); interleucina 1 (IL-1); interleucina 6 (IL-6); high density lipoprotein (HDL); low density lipoprotein (LDL); LDL oxidado (oxLDL); anti-malodialdehído acetaldehído (anti MAA); anti-péptido citrulinado (ACPA); factor reumatoide (RF); especies reactivas de oxígeno (ROS).

3.4. Mecanismos comunes entre la inflamación y la aterosclerosis en la artritis reumatoide

3.4.1. Relación entre inflamación y aterosclerosis en la artritis reumatoide

La AR y la aterosclerosis comparten mecanismos de inflamación comunes como son la activación de las células T y mastocitos, la producción de citocinas pro-inflamatorias y la sobreexpresión de moléculas de adhesión leucocitarias⁶⁴. Los complejos inmunes y las citocinas pro-inflamatorias como el TNF alfa, IL-1 β e IL-6 surgen principalmente de tejidos diana inflamados, tales como la membrana sinovial y tejidos linfoides secundarios como son el bazo, los nódulos linfoides y el tejido adiposo. Estos mediadores pro-inflamatorios se liberan a la circulación sistémica con potentes efectos en numerosos tejidos como son el sistema musculo-esquelético, el tejido adiposo, el hígado y los vasos sanguíneos. Todo ello resulta en un control sobre los factores de riesgo cardiovascular que implican una disfunción vascular, una alteración en la composición de los lípidos, efectos protrombóticos y aumento de la resistencia a la insulina. Todos estos factores pueden promover la aterogénesis⁶⁵⁻⁶⁷ (**Figura 3**).

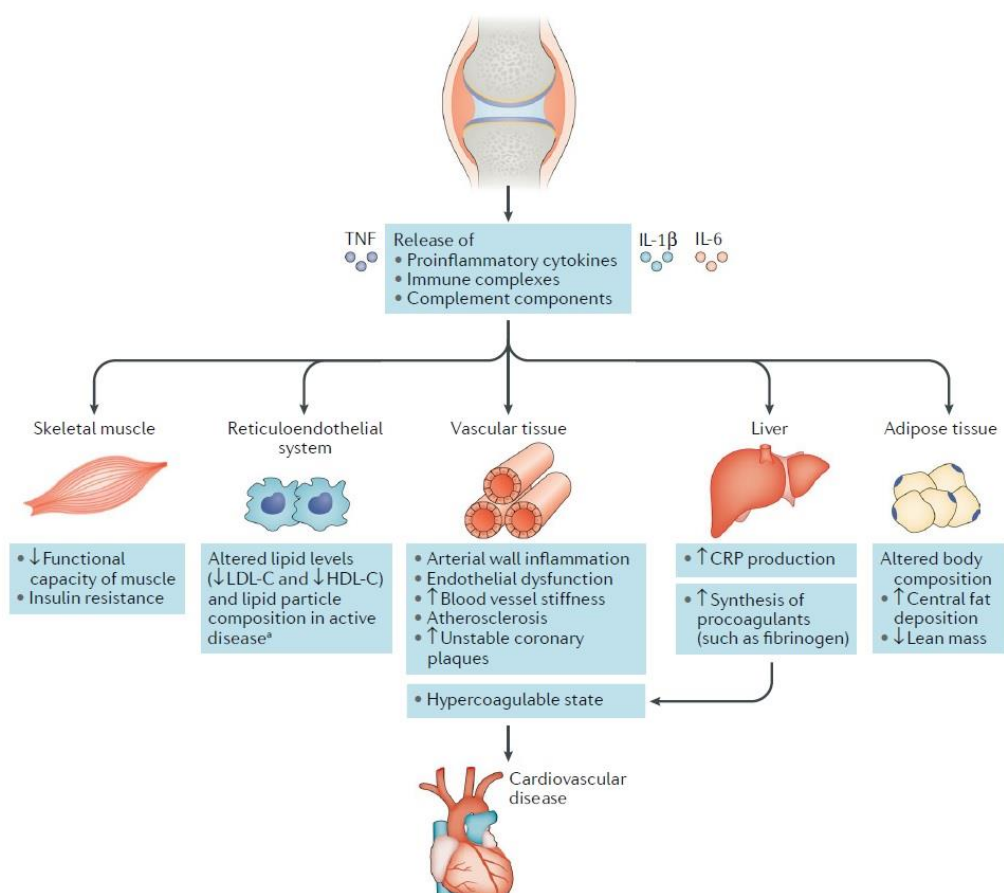


Figura 3. Factores implicados en la relación entre la inflamación sistémica y el RCV en la AR.

Adaptada de Ferguson LD, et al⁶⁷. En el torrente sanguíneo se liberan diferentes citocinas pro-inflamatorias, como son el TNF, IL-1β e IL-6, quimiocinas e inmuno-complejos. Estas moléculas afectan desde la distancia, a numerosos tejidos. El daño al tejido vascular puede desencadenar una inflamación de la pared arterial, una disfunción endotelial y rigidez arterial, todos ellos, marcadores de daño subclínico y precursores de aterosclerosis que en última instancia, conllevan a enfermedad coronaria. El aumento de citocinas sistémicas impide la absorción de glucosa mediada por insulina en el sistema musculo-esquelético, produciendo atrofia muscular y alterando la capacidad funcional de los músculos y en última instancia, contribuyendo a la resistencia a la insulina. Asimismo, la inflamación sistémica puede alterar la composición corporal, aumentando el depósito central de grasa y disminuyendo la masa magra. El aumento de la IL-6 en la AR puede incrementar la síntesis de fibrinógeno y otras moléculas pro-coagulantes en el hígado, contribuyendo a un estado de hipercoagulabilidad. Factor de necrosis tumora (TNF); interleucina 1-beta (IL-1β); interleucina 6 (IL-6); low density lipoprotein cholesterol (LDL-C); high density lipoprotein cholesterol (HDL-C); C reactive protein (CRP).

Estudios ex-vivo e in-vitro han demostrado un aumento de la expresión de determinadas citocinas como el TNF-alfa, la IL-18 y la IL-33 en las células endoteliales de la capa adventicia de la aorta en pacientes con AR que han sido

intervenidos de un bypass aorto-coronario, en comparación con controles⁶⁸. Estos hallazgos sugieren que la existencia de un único proceso pro-inflamatorio en la adventicia de pacientes con AR, puede desencadenar una activación del sistema inmune innato y adaptativo que participa en el proceso aterogénico⁶⁹. In vitro, la adición de IL-17 y TNF-alpha escinde la VE-cadherina (vascular endothelial cadherin), una molécula de adhesión específica y primordial en el mantenimiento de las uniones endoteliales. La escisión de esta molécula resulta en un aumento de la permeabilidad, el edema intersticial y la hemorragia in vivo⁷⁰.

La relación entre la AR y la aterosclerosis manifiesta en numerosos estudios, un aumento del grosor del CIMT sumado a un mayor número de placas carotideas en los pacientes con AR con respecto a controles sin historia de enfermedad cardiovascular⁷¹. Asimismo, la presencia de placas fue más prevalente en los pacientes con AR (71%) con respecto a individuos sanos aleatorizados por edad y género (45%)⁷².

Siguiendo esta línea de investigación, Del Rincón L y colaboradores, realizaron ecografías carotideas de manera sistemática a 487 pacientes con AR y objetivan que la inflamación sistémica y los FRCV clásicos predecían el desarrollo de aterosclerosis. De forma notable, el riesgo relacionado con la inflamación sistémica fue, en efecto, dependiente de los FRCV clásicos⁷³.

3.4.2. Relación entre inflamación, actividad de la enfermedad y riesgo cardiovascular

Diversos estudios observacionales ponen de manifiesto una relación entre la actividad de la AR y los eventos cardiovasculares⁴⁰⁻⁴³. En efecto, un estudio de casos y controles escandinavo, estudió la asociación entre AR precoz con actividad moderada-grave y síndrome coronario agudo⁷⁴. Otro trabajo objetivó que el grupo de pacientes con AR en remisión tenía un 53% de menor riesgo cardiovascular que el grupo de pacientes con un índice de actividad elevado,

todo ello independientemente de los FRVC tradicionales⁷⁵. En la cohorte de Nijmegen (cohorte de AR precoz) se objetivó que el aumento en una unidad del DAS 28 se asociaba a un aumento del riesgo de un 33% para eventos cardiovasculares, independientemente de la duración de la enfermedad⁷⁶. Asimismo, la PCR y la VSG se correlacionaron con un aumento estadísticamente significativo del riesgo cardiovascular¹⁸⁻²⁰.

Tanto el número de articulaciones inflamadas como la elevación de la PCR se asocia a la progresión de placas carotídeas. Además, la concentración de IL-6 y TNF- α circulante se correlacionó con la presencia de calcificaciones en arteria coronaria en los pacientes con AR^{3,77,78}. Por tanto, los estudios sugieren que tanto la inflamación sistémica como los FRCV tradicionales, son predictores de la progresión de la aterosclerosis en la AR⁷³.

3.4.3. Estrés oxidativo y riesgo cardiovascular en la AR

El estrés oxidativo, un desequilibrio entre las especies reactivas de oxígeno (ROS) y los antioxidantes, está aumentado durante el proceso de inflamación, contribuye al desarrollo de riesgo cardiovascular y AR, y representa otra posible vía común entre ambas enfermedades⁷⁹⁻⁸³.

3.4.4. Disfunción endotelial y riesgo cardiovascular en la AR

La disfunción endotelial también juega un papel en el riesgo cardiovascular de la AR debido a su asociación con la aterosclerosis temprana^{29,84,85}. El endotelio regula el tono vascular y la homeostasis y su alteración es mecanismo clave en el desarrollo de aterogénesis. En una cohorte de pacientes con AR se evaluaron los parámetros asociados a respuesta vascular y se observó que un 86% de los pacientes tenían disfunción endotelial. Asimismo, aquellos pacientes que tenían parámetros de respuesta vascular más elevados también tenían menor gravedad de la AR y menor número de articulaciones inflamadas⁸⁶. Del mismo modo,

encuentran un menor número de células endoteliales progenitoras (EPCs) así como una función anómala de las mismas en pacientes con AR⁸⁷.

Otros autores denotan una correlación positiva entre las EPCs y la disfunción endotelial y el riesgo cardiovascular evaluado por el Framingham score en población sana. No obstante, el número de EPCs tuvo una correlación inversa con la disfunción endotelial, es decir, los individuos con menor número de EPCs tuvieron mayor disfunción endotelial⁸⁸.

3.4.5. NETosis y aterosclerosis acelerada en la AR

La NETosis (*Neutrophil Extracellular Traps – NETs*) es una forma de muerte celular que se caracteriza por la liberación de cromatina sin condensar y de los contenidos granulares al espacio extracelular. Este proceso se ha relacionado con la patogenia de las enfermedades autoinmunes, entre ellas la AR⁸⁹⁻⁹¹.

Del mismo modo, existe cada vez más evidencia sobre la implicación de la NETosis en todas las fases de la aterogénesis, desde la disfunción endotelial temprana hasta la ruptura de la placa aterosclerótica y la aterotrombosis⁹²⁻⁹³. Los NETs pueden actuar como alarminas (*danger-associated molecular patterns* o DAMPs) y mantener un círculo vicioso inflamatorio que conlleva a la expresión endotelial de moléculas de adhesión, citocinas, especies reactivas de oxígeno y factores pro-trombóticos como el factor de von Willebrand (vWF) y la P-selectina⁹⁴⁻⁹⁶.

La inhibición de la NETosis se ha considerado como una estrategia terapéutica primordial en modelos murinos para disminuir la inflamación del vaso y la ruptura de la placa^{97,98}. En humanos, los productos derivados de la NETosis podrían servir como biomarcadores sobre el riesgo aterotrombótico y aterosclerótico, pero de momento, son poco específicos⁹¹. No obstante, en una cohorte de pacientes con AR se objetivó que la presencia de células sin nucleosomas correlacionaba positivamente con la presencia de aterosclerosis (medida por el

CIMT) con una elevada especificidad⁹⁹. Asimismo, se ha observado que infliximab y tocilizumab pueden suprimir los NETs con un efecto beneficioso en la disfunción endotelial y efecto anti-trombótico^{99,100}.

3.4.6. Susceptibilidad genética y aterosclerosis en la AR

El antígeno leucocitario humano (HLA) es una de las mayores proteínas polimórficas y está bien establecida su asociación con la AR pero también con enfermedades cardiovasculares^{20,101}. El HLA-DRB1*01*04 y el HLA-DRB1*04*04 se asocian a disfunción endotelial y aterosclerosis carotídea. Ambos confieren más riesgo que otras variantes para el desarrollo de eventos cardiovasculares¹⁰². Por otra parte, diferentes variantes genéticas de mediadores inflamatorios como son el TNF-alpha y las adipocinas, podrían actuar como factores de riesgo comunes para la AR y las enfermedades cardiovasculares¹⁰³⁻¹⁰⁷.

3.5. Capacidad aceptora del colesterol HDL (CEC) y riesgo cardiovascular

3.5.1. Mecanismos implicados en el transporte y flujo reverso de colesterol

Los macrófagos ricos en lípidos – *foam cells* – son inducidos por oxiteroles (productos derivados de la oxidación del colesterol) secretados por el LDL-C, formando el núcleo de la placa aterosclerótica en la pared arterial¹⁰⁸. La apoptosis de macrófagos empieza con una cascada inflamatoria que conlleva a la ruptura de la placa¹⁰⁹. Los oxiteroles y el flujo libre de colesterol fuera de los macrófagos en los HDL-C promueven la regresión de la placa y disminuyen la inestabilidad de la misma y ocasionalmente, son secretados vía biliar y hepática¹¹⁰.

Las partículas HDL empiezan siendo una ApoA-I (apolipoproteína A-I) pobre en lípidos que se sintetiza en el hígado y el intestino. Estas moléculas de ApoA-I (Prebeta-1 HDL) adquieren el colesterol circulante del hígado y los tejidos periféricos vía ABCA-1 (*ATP binding cassette transporter 1*). Múltiples moléculas ApoA-I se combinan para funcionar como una “jaula” de proteínas que formará parte del interior de una partícula de HDL, pero éstas, solo pueden asumir el 65% de la masa de proteína de una partícula de HDL madura¹⁰⁹. Existe una importante heterogeneidad en la composición de proteínas y fosfolípidos de las moléculas HDL, por tanto, es probable que el HDL englobe una variedad de partículas de diferente composición pero densidad similar^{109,110}.

La lecitina-colesterol-acetiltransferasa (LCAT) funciona como mediador entre la conversión del colesterol libre a éster de colesterol dentro del HDL-C. Esta función mantiene un gradiente de colesterol libre equilibrado entre el colesterol en la periferia y el circulante, promoviendo el flujo del mismo¹¹⁰.

Las partículas maduras de HDL-C pueden de alguna manera promover el transporte reverso de colesterol vía macrófago ABCG-1 de forma unidireccional. Los receptores SR-B1 (*scavenger receptor class B type 1*) median el flujo e influjo de colesterol entre macrófagos y HDL-C maduro de forma bidireccional^{110,111}. Finalmente, la difusión acuosa pasiva del colesterol es un componente fundamental del transporte reverso de colesterol desde el macrófago a HDL maduro. El éster de colesterol en el HDL-C puede ser suministrado al hígado vía

SR-B1 con la consiguiente excreción en vía biliar y posteriormente, fuera del organismo¹⁰⁹⁻¹¹² (Figura 4).

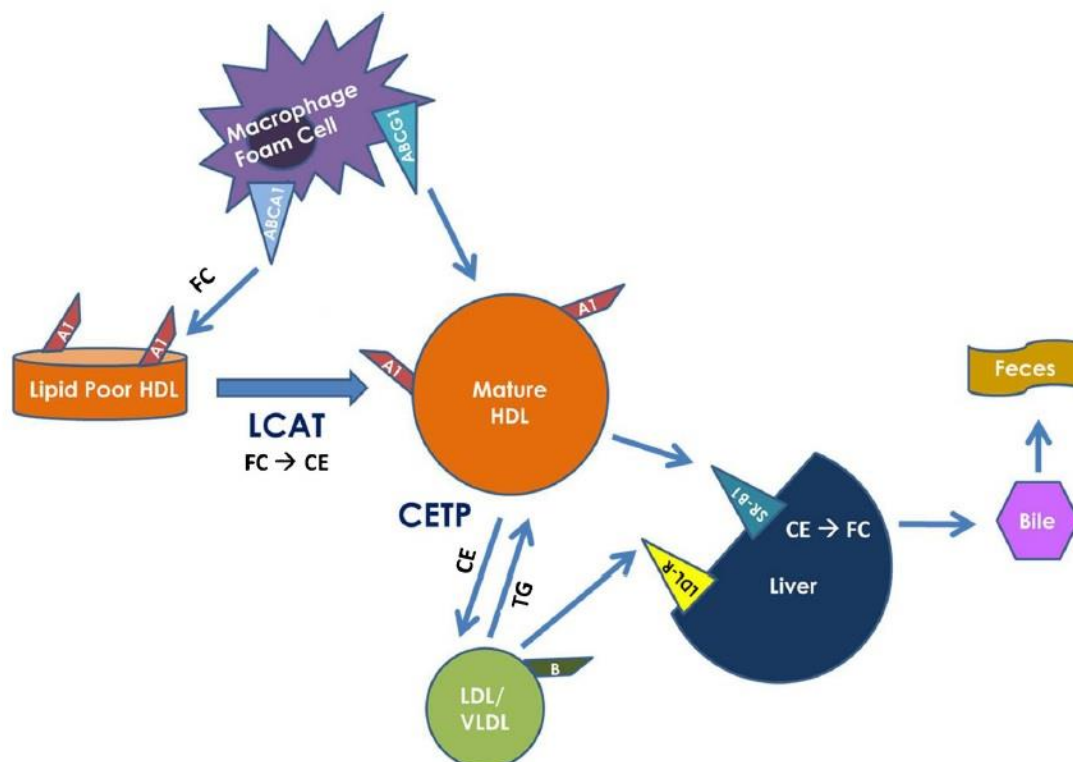


Figura 4. Mecanismo del flujo reverso de colesterol. Adaptado de Bhatt A, et al¹¹⁰. Lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT); cholesteryl ester transfer protein (CETP); free cholesterol (FC); cholesterol ester (CE); triglycerides (TG); LDL receptor (LDL-R).

3.5.2. CEC en población sana y riesgo cardiovascular

Un nivel bajo de HDL-C es un factor de riesgo independiente para desarrollar enfermedad cardiovascular aterosclerótica¹¹³. Sin embargo, en ensayos clínicos aleatorizados, controlados, los fármacos empleados para aumentar los niveles de HDL no consiguieron disminuir el riesgo, a pesar de sí conseguir aumentar el HDL-C¹¹⁴⁻¹¹⁷. Asimismo, variantes genéticas que predisponen a niveles elevados de HDL-C tampoco se asocian en todos los casos a disminución de enfermedad cardiovascular¹¹⁸. Por estos motivos, existen limitaciones a la hora de evaluar el riesgo de desarrollar un evento cardiovascular teniendo en cuenta solo los niveles de HDL-C o apoA-I.

El HDL tiene numerosas funciones que no se reflejan midiendo los niveles de HDL-C¹¹⁹. El papel protector del HDL frente a la aterosclerosis se consigue mediante diferentes mecanismos tales como la capacidad aceptora del colesterol, los efectos anti-inflamatorios y anti-oxidantes. Todo ello depende no solo de los niveles circulantes de HDL sino de su composición y funcionalidad. La capacidad aceptora de colesterol HDL (CEC) refleja la habilidad del HDL para captar el colesterol procedente de los macrófagos. Este proceso a su vez, representa el paso inicial del transporte reverso de colesterol: el HDL capta el colesterol que se encuentra en tejidos periféricos, transportándolo al hígado para ser excretado^{109,120,121}. Este proceso ocurre en diferentes pasos y en él participan diferentes moléculas como son la ABCG-1 (*ATP binding cassette transporter G1*) y la ABCA-1 (*aqueous diffusion, scavenger receptor B1*). La expresión de los transportadores de colesterol varía en las diferentes células y especies siendo el SR-B1 (*scavenger receptor class B type I*), el ABCA1 y ABCG1 los que están expresados en macrófagos de humanos.

La función del HDL como aceptor del colesterol depende parcialmente del grado de maduración del mismo^{109,122,123}. Si el flujo es eficiente, se produce una interacción entre el HDL y SR-B1, ABCA1 y ABCG1 y se activan diferentes mecanismos de señalización intracelular tanto en macrófagos como en células endoteliales que resultan en una preservación del vaso^{124,125}. El transporte reverso de colesterol se considera la función principal del HDL pero se conoce también, que existen otras funciones que contribuyen a la cardioprotección como son la activación endotelial de la óxido nítrico sintetasa endotelial, la adhesión de monocitos y la agregación plaquetaria¹²⁶.

La relevante implicación de la CEC en la prevención de la aterosclerosis en modelos animales lleva a que se intensifiquen los estudios en este campo en humanos^{126,127}. Uno de los primeros estudios se realizó en 204 varones con bajo

riesgo de aterosclerosis. Se observó que la CEC fue inversamente proporcional a CIMT, marcador que se asocia a enfermedad cardiovascular independiente de los niveles de colesterol HDL-C y los niveles de ApoA-I⁶. Los niveles de HDL-C se correlacionaron con la CEC ($r=0,85$; $p<0,001$) pero no se correlacionaron con el CIMT^{128,129}. Estos resultados sugieren que la relación entre la CEC y aterosclerosis no se puede explicar completamente por los niveles de HDL-C. Otro estudio investigó la relación entre la CEC y la aterosclerosis coronaria explorada por angiografía en pacientes con psoriasis sin historia de enfermedad coronaria. La baja CEC se asoció a mayor daño coronario, concretamente, de placa no calcificada, independientemente de los FRCV¹³⁰. Estos dos estudios evidencian que incluso en población de bajo riesgo y con escasos factores de riesgo cardiovascular, la función del HDL puede ser anormal y podría ser un factor predictivo para aterosclerosis.

La relación entre la CEC y aterosclerosis también se evaluó en cohortes poblacionales de alto riesgo cardiovascular mediante pruebas complementarias como la angiografía coronaria. La CEC fue inversamente proporcional a la presencia y la gravedad de la enfermedad coronaria evaluada por angiografía. La estenosis se definió como una ocupación de $> 50\%$ en una enfermedad coronaria, independientemente de los niveles de HDL-C y la ApoA-1. Este trabajo demostró la asociación entre la CEC y aterosclerosis⁶. Por otro lado, otro estudio de cohortes no encontró asociación estadísticamente significativa entre la CEC y la enfermedad coronaria (evaluada por angiografía) después de ajustar por factores de riesgo y HDL-C¹³¹. Por tanto, los estudios publicados hasta ahora sugieren que sí que existe una asociación inversa entre enfermedad coronaria y la CEC pero en pacientes de bajo riesgo cardiovascular. La asociación entre estas dos variables en pacientes de alto riesgo es controvertida.

La CEC se asocia a eventos cardiovasculares y a enfermedad aterosclerótica cardiovascular incidente. En este sentido, diversos estudios ponen de manifiesto la asociación entre la CEC y el aumento de los niveles de LDL-C, por el contrario, encuentran escasa relación con los FRCV clásicos^{7,132}. En el estudio de la cohorte de Dallas⁷, se estudiaron 2924 individuos sin enfermedad cardiovascular y se observó una correlación débil entre la CEC y HDL-C ($r=0,07$; $p<0,05$) y moderada con los niveles de HDL-T ($r=0,15$; $p<0,05$). Otro estudio anglosajón¹³² evidenció una asociación moderada de la CEC con el HDL-C ($r=0,4$; $p<0,05$) a diferencia de lo encontrado en la cohorte de Dallas. No obstante, los resultados finales fueron similares: se encontró una relación inversa entre la CEC y enfermedad coronaria. Es importante recalcar que en estas dos cohortes la población era de bajo riesgo cardiovascular. De nuevo, existen resultados controvertidos en cohortes de elevado riesgo.

3.5.3. CEC en AR riesgo cardiovascular: ¿qué sabemos?

Se ha demostrado que el efecto anti-inflamatorio y anti-oxidante del HDL está alterado en los pacientes con enfermedades autoinmunes^{133,134}, pero ¿qué sabemos de la habilidad del HDL para promover el flujo de colesterol desde los macrófagos?.

En efecto, existe una relación inversa entre la CEC y el grosor de íntima media y la rigidez arterial en población sana, independientemente de los niveles de colesterol HDL, sin embargo, la CEC en población con AR se ha empezado a estudiar hace sólo algunos años con resultados dispares, posiblemente por la heterogeneidad de los diseños, entre otros factores¹³⁵. Hasta hace un lustro, los estudios se centraban en la capacidad anti-oxidante del HDL-C. Recientemente, Charles Schoeman¹³⁶ diseñó un estudio transversal y aleatorizado que incluyó 40 pacientes con AR y controles aleatorizados por edad y sexo con el objetivo

de evaluar la CEC. Los autores observaron que hubo una relación inversa entre la CEC y la actividad de la enfermedad en el subgrupo de pacientes con actividad alta de la enfermedad (DAS 28 > 5,1) pero no encontraron diferencias entre la CEC de pacientes con AR y controles. Por el contrario, otros autores no han encontrado asociación entre la CEC y la actividad de la enfermedad o los marcadores de inflamación como son la PCR y VSG^{82,133,137,138}.

Con objeto de estudiar el efecto de los tratamientos sobre la CEC, se investigó a 56 pacientes con AR y varios brazos de tratamiento tales como metotrexato vs metotrexato más adalimumab¹³⁷. El metotrexato aumentó la CEC vía SR-B1 sobre un 6% y sobre un 7% vía ABCG1 a los 6 meses de tratamiento. No obstante, no hubo un impacto sustancial en la CEC en el grupo de tratamiento de metotrexato más adalimumab. Por otro lado, se encontró una asociación positiva entre la CEC y los niveles de HDL-C y negativa con el DAS 28 en aquellos pacientes que estaban en tratamiento con metotrexato más adalimumab. La CEC no se asoció con marcadores de inflamación.

Algunos autores recalcan también que la activación del sistema inmune propiamente dicha, podría producir modificaciones en el transporte del colesterol. Por ejemplo, el TNF- α puede reducir la expresión de transportadores de colesterol, la mieloperoxidasa puede alterar los niveles de apoA-I y el flujo de colesterol, la activación de los receptores tipo Toll-like aumentan la captación y síntesis de colesterol y disminuyen el flujo del mismo^{122,138-140}.

3.6. Evaluación del riesgo cardiovascular en pacientes con artritis reumatoide

La evaluación del riesgo cardiovascular en los pacientes con AR es fundamental para identificar aquellos pacientes en riesgo y poder iniciar estrategias de

prevención primaria, antes de que ocurra el evento. A lo largo de los años, se han estado empleando numerosos algoritmos que se emplean en población general como son el *Framingham Score (FRS)*^{141,142}, el *SCORE (Systematic Coronary Risk Evaluation)* o el *Reynolds Risk Score (RRS)*^{143,144}. Todos estos índices infraestiman el riesgo cardiovascular en la AR ya que no tienen en cuenta que la propia enfermedad reumática, es un factor de riesgo independiente para el desarrollo de un evento cardiovascular. El algoritmo *QRISK3* es el único que tiene en cuenta la AR como FRCV independiente. Sin embargo, los estudios han demostrado que se sobreestima el riesgo en los pacientes con AR cuando se utiliza este índice^{145,146}. Recientemente se ha puesto en marcha un nuevo algoritmo, el *ERS-RA (Expanded Cardiovascular Risk Prediction Score for Rheumatoid Arthritis)*, elaborado a partir de 23.605 pacientes de la cohorte *CORRONA (Consortium of Rheumatology Researches of North America)*¹⁴⁷. Este algoritmo incluye variables como el CDAI, el HAQ modificado (*modified Health Assessment Questionnaire disability index*) así como la dosis de glucocorticoides diaria y otros FRCV tradicionales. Aunque los resultados pueden ser prometedores, todavía es necesario validarlo en otras cohortes para poder discernir si se puede aplicar a población general o no¹⁴⁸.

Existen nuevos algoritmos en desarrollo para la AR. En efecto, EULAR publica en 2016 las recomendaciones sobre el manejo y el tratamiento el riesgo cardiovascular en la AR¹⁴⁹. A modo de resumen, los expertos recomiendan multiplicar por 1'5 el resultado de los algoritmos que no incluyan la AR como factor de riesgo para dar una estimación más exacta del riesgo.

Otro punto a considerar en la estratificación del riesgo de estos pacientes es decidir, qué perfil lipídico solicitar en la analítica de rutina y cuándo. En la práctica, tanto el colesterol total como el HDL-C forman parte de los algoritmos utilizados para medir el riesgo. Se conoce que los AINES y la actividad de la

enfermedad puede modificar la concentración de los componentes lipídicos por lo que estos parámetros deberían ser medidos durante la fase estable de la enfermedad¹⁵⁰.

Por otro lado, el ratio CT:HDL-C podría predecir mejor el riesgo que el nivel de lípidos individual, sobretodo en pacientes con alta actividad de la enfermedad. Además, el tratamiento de la AR generalmente no modifica este ratio¹⁵¹.

El uso de ecografía carotídea con el objeto de evaluar la presencia de placa aterosclerótica asintomática también puede ayudar a mejorar la estratificación del riesgo cardiovascular en estos pacientes. En efecto, el aumento del grosor en el CIMT de pacientes con AR se asocia a un aumento del riesgo de desarrollar un evento cardiovascular¹⁵²⁻¹⁵⁷. Sin embargo, aún no existe evidencia científica suficiente para incorporar está técnica de manera rutinaria en práctica clínica¹⁵⁸⁻

161.

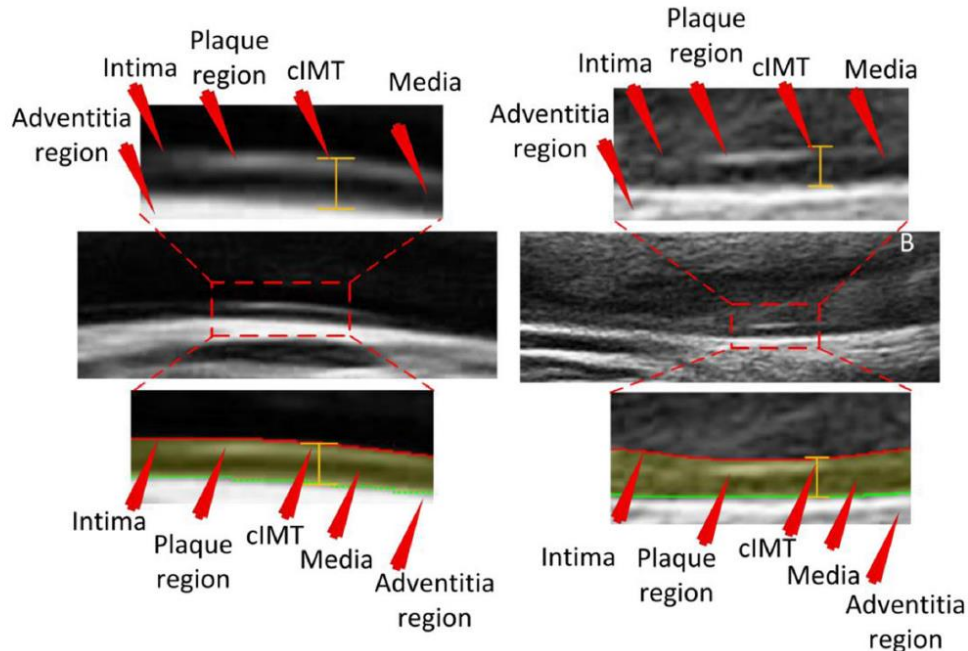


Figura 5. Ecografía carotídea de la arteria carótida común de un paciente control (imagen de la izquierda, CIMT = 0,72 mm) y un paciente con AR (imagen de la derecha, CIMT=0,93 mm). Adaptado de Khanna NN, et al¹⁶¹. Carotid intima-media thickness (CIMT).

Hipótesis

4. Hipótesis

Se establecieron las siguientes hipótesis de trabajo:

- 1) Los pacientes con artritis reumatoide tienen una capacidad aceptora del colesterol (flujo reverso de colesterol) alterada comparada con la de controles sanos.
- 2) La capacidad aceptora del colesterol (flujo reverso de colesterol) se relaciona con determinados parámetros de la enfermedad como su actividad clínica así como con otras características relacionadas con la misma como alteraciones de laboratorio y fármacos utilizados.
- 3) La capacidad aceptora de colesterol (flujo reverso de colesterol) se asocia a aterosclerosis subclínica (medida por ecografía carotídea) en los pacientes con artritis reumatoide.

Objetivos

5. Objetivos

Objetivo principal: el objetivo principal del estudio es analizar si la capacidad aceptora de colesterol está relacionado con la ateromatosis subclínica determinada por la presencia de placa carotídea o aumento de niveles del grosor de íntima-media carotídeo en pacientes con AR.

Objetivo secundario: como objetivo secundario se describirán los factores dependientes de la enfermedad que puedan asociarse a variaciones en la capacidad aceptora de colesterol como una expresión de la alteración del perfil lipídico asociado a la enfermedad.

Material y Métodos

6. Material y métodos

6.1. Diseño del estudio

Estudio transversal en el que participaron 401 individuos: 203 pacientes con AR atendidos en el servicio de Reumatología del Hospital Universitario de Canarias y 178 controles sanos apareados por género. Este estudio fue aprobado por el comité ético del Hospital Universitario de Canarias (Tenerife) y por el comité correspondiente del Hospital Marqués de Valdecilla (Santander). Todos los participantes firmaron un consentimiento informado previo a su entrada en el estudio.

6.2. Sujetos del estudio

La selección de pacientes se realizó mediante un muestreo aleatorio simple. Como criterios de inclusión, los pacientes debían tener una AR ≥ 1 año evolución y ser mayores de 18 años de edad. Todos cumplían criterios diagnósticos ACR/EULAR 2010 para AR¹⁶². Los pacientes fueron diagnosticados por médicos reumatólogos y seguían controles de manera periódica en consultas externas de reumatología del Hospital Universitario de Canarias. Aunque los fármacos anti-TNF α se asocian a cambios en el perfil lipídico de pacientes con enfermedad reumática inflamatoria, no se excluyeron pacientes en tratamiento con este grupo de fármacos y/u otros tratamientos biológicos.

El grupo control está formado por pacientes sanos de la cohorte Camargo^{163,164}. En esta cohorte se reclutaron sujetos sanos durante 5 años (Febrero 2006 – Febrero 2011). El objetivo inicial de esta cohorte fue evaluar la prevalencia e incidencia de enfermedad metabólica ósea y alteraciones del metabolismo mineral. Los

controles fueron apareados por género y no padecían enfermedad conocida ni tomaban medicación alguna que pudiese influir en los niveles de lípidos, diferente a las estatinas.

Los criterios de exclusión para el grupo control y de pacientes fueron los siguientes: historia de infarto agudo de miocardio, angina, ictus, filtrado glomerular < 60 ml/minute/1.73 m², historia de cáncer u otra enfermedad crónica y evidencia de infección activa.

6.3. Recogida de datos

6.3.1. Variables clínicas

Los datos de pacientes con AR se recogieron en una única visita de forma estandarizada. En esta visita se realizaba pruebas de laboratorio en ayunas y la ecografía carotídea para la evaluación del CIMT. Se realizó una exploración física a todos los pacientes evaluando el peso, la talla, el IMC, el ratio cintura-cadera, la tensión arterial sistólica y diastólica (medida con el paciente en posición de decúbito supino). La presencia o no de FRCV (condición de fumador, diabetes, hipertensión arterial, dislipemia) se recogió de los cuestionarios entregados al paciente. Se revisaron las historias clínicas de los pacientes para completar la historia con otros diagnósticos y/o tratamientos no relacionados con el riesgo cardiovascular. Las preguntas incluidas en el cuestionario se presentan en la **Tabla 1**.

La dislipemia se definió como “presente” si el paciente cumplía algunos de los siguientes puntos: colesterol total > 200 mg/dl, triglicéridos > 150 mg/dl, HDL colesterol < 40 mg/dl en hombres y < 50 mg/dl en mujeres o LDL > 130 mg/dl.

Tabla 1. Variables demográficas y clínicas incluidas en el cuestionario
VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS <ul style="list-style-type: none"> - Fecha de nacimiento - Edad (momento de inclusión en el estudio) - Género
ANTECEDENTES PERSONALES <ul style="list-style-type: none"> - Toma de ácido acetil salicílico - Tabaquismo - Alcohol - Hipertensión arterial - Dislipemia - Diabetes - Enfermedad crónica diferente a la AR - Historia familiar de enfermedad cardiovascular - Postmenopausia - Usos de estrógenos
VARIABLES RELACIONADAS CON LA AR <ul style="list-style-type: none"> - Años de evolución - Presencia de factor reumatoide - Presencia de ACPA - Tratamiento con glucocorticoides - Dosis media de glucocorticoides en el último año - Tratamiento con AINEs - Tratamiento con FAMES - Tratamiento con anti-TNFα - Otros tratamientos biológicos
ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR PREVIA (CRITERIOS DE EXCLUSIÓN) <ul style="list-style-type: none"> - Enfermedad coronaria (infarto, angina, insuficiencia cardíaca) - Enfermedad cerebrovascular (ictus, TIA) - Enfermedad vascular periférica (claudicación intermitente, isquemia arterial, venosa) - Aterosclerosis aórtica o aneurisma torácico o abdominal
EXPLORACIÓN FÍSICA <ul style="list-style-type: none"> - Tensión arterial diastólica y sistólica (mmHg) - Talla (cm) - Peso (kg) - Cintura abdominal - Cintura cadera - Índice C/C - NAD - NAT

Tabla 1. Variables demográficas y clínicas incluidas en el cuestionario. Accidente isquémico transitorio (TIA); índice cintura/cadera (índice C/C); número de articulaciones dolorosas (NAD); número de articulaciones tumefactas (NAT).

6.3.2. Variables de laboratorio

Se obtuvieron muestras de sangre periférica mediante venopunción a todos los pacientes que participaron en el estudio. Los pacientes estaban en ayunas. Una vez extraídas las muestras de sangre, se centrifugaron y se obtuvo el suero de las mismas. Se procedió a la congelación a -80° de las muestras de suero y de sangre fresca de todos los pacientes. En sangre periférica se determinaron los siguientes valores:

- *Pruebas de laboratorio: reactantes de fase aguda y hematimetría*

La VSG se determinó mediante medida manual en el suero de los pacientes. El valor de normalidad para la VSG en el laboratorio de nuestro centro es de 20 mm/hora.

- *Pruebas de laboratorio: bioquímica plasmática*

Todas las muestras de suero se recogieron en ayunas y se congelaron a -80°C hasta la medición de los niveles de lípidos circulantes. El colesterol total, los triglicéridos y el HDL-C se midió utilizando un ensayo colorimétrico enzimático (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, USA). Los niveles de colesterol oscilaron entre 0,08 hasta 20,7 mmol/L (coeficiente de variación intra-ensayo de 0,3%); los niveles de triglicéridos entre 4 y 1000 mg/dl (coeficiente de variación intra-ensayo de 1,8%); y los niveles de HDL-C entre 3 y 120 mg/dl (coeficiente de variación intra-ensayo de 0,9%). El LDL-C fue calculado utilizando la fórmula de Friedewald¹⁶⁵.

La PCR, Apolipoproteína A, B y lipoproteína A, se midieron utilizando un analizador automático de inmunoturbidimetría.

Así mismo, se calcularon dos índices relacionados con la aterogenicidad de los lípidos, índice de colesterol total/colesterol HDL e índice aterogénico (triglicéridos/colesterol HDL) según fórmula de Castelli¹⁶⁶.

En la **Tabla 2** se resumen los parámetros de normalidad de bioquímica general según el laboratorio del Hospital Universitario de Canarias.

Tabla 2. Valores de la normalidad de parámetros recogidos en bioquímica general	
Parámetro	Valores de normalidad
Colesterol total	0-200 mg/dl
Colesterol HDL	Varon > 35 mg/dl; Mujer >65 mg/dl
Triglicéridos	50-150 mg/dl
PCR	< 3 mg/L
Lipoproteína A	≤ 50 mg/dl
Apolipoproteína A	115-240 mg/dl
Apolipoproteína B	50-165 mg/dl

- *Pruebas de autoinmunidad:*

El FR se midió por nefelometría. El ACPA se midió por inmuno ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). Se consideran positivos valores de FR y ACPA > 20 U/ml.

6.3.3. Variables de actividad

La actividad de la enfermedad en los pacientes con AR se evaluó utilizando el DAS 28, el CDAI, y el SDAI. El cálculo de estos índices se realizó utilizando las herramientas disponibles en la página web de la Sociedad Española de Reumatología. Los pacientes se encontraban en remisión si el DAS 28 < 2,6; baja actividad, DAS 28 de 2,6 a 3,2; actividad moderada, DAS 28 > 3,2-5,1 y alta actividad si el DAS 28 era mayor de 5,1. Esta estratificación ya ha sido previamente descrita en la literatura¹⁶⁷.

6.4. Evaluación del flujo reverso de colesterol

La capacidad aceptora de colesterol de macrófagos fue medida utilizando “boron dipyrromethene difluoride” (BODIPY) de colesterol como previamente se ha descrito en otros artículos⁷. Los pasos a realizar fueron los siguientes:

- 1) Se cultivaron macrófagos tipo J774 en una placa de 96 pocillos con 7×10^4 células por pocillo.
- 2) A las 24 horas, las células se incubaron durante una hora con el colesterol marcado BODIPY (25 μ M; Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL, USA), 0,2% albúmina de suero bovino (BSA), y 2 μ g/ml de inhibidor de acetil-coenzima A acetiltransferasa (ACAT) (Sandoz; Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA) en un medio RPMI más 1% de FBS.
- 3) A continuación de un paso de lavado con medio esencial mínimo (MEM-HEPES), las células se incubaban durante la noche en un suero libre de medio de RPMI 1640 que contenía 0,3 Mm de adenosina monofosfato cíclica (cAMP), 0,2% de BSA, y 2 μ g/ml de inhibidor de ACAT. El plasma de sujetos con depleción de la apolipoproteína B fue preparado utilizando un precipitado de polietilenglicol.
- 4) Después de un paso de lavado con MEM-HEPES, el BODIPY de células marcadas con colesterol se incubó con un 2,8% de plasma con depleción de apolipoproteína B en un tampón de MEM-HEPES, 0,15 mM cAMP y 2 μ g/ml de inhibidor de ACAT durante 4 horas a 37°C.
- 5) La cantidad resultante del BODIPY cholesterol en el medio se midió directamente utilizando un lector de placas espectrofluorométricas (Tecan Trading AG, Männedorf, Switzerland) con una longitud de onda de excitación de 485 nm y una detección de la emisión a 530 nm.

6) La CEC fue calculada como la cantidad de BODIPY expresada como una fracción del contenido celular inicial del BODIPY colesterol. Es decir, primero se procedió a la incubación de macrófagos con BODIPY; posteriormente se añadió el suero problema (del paciente) para medir la capacidad de este suero para captar el colesterol marcado; a continuación, el suero del paciente se retira del ensayo y se mide nuevamente su capacidad de captar colesterol marcado. De esta forma, la diferencia entre el suero inicial (sin haber sido incubado en un pocillo con macrófagos y colesterol marcado) y el suero posterior que ha sido capaz de aceptar colesterol, determina la cifra de CEC.

Cada ensayo fue realizado por triplicado y cuando el porcentaje de variación de cada muestra era mayor de 7%, la muestra fue reevaluada.

6.5. Evaluación de CIMT por ecografía carotídea

Se utilizó la ecografía de carótidas para evaluar el CIMT en la pared de la carótida común y para detectar placas focales en las ramas de la carótida extracraneal en los pacientes con AR. Se utilizó el ecógrafo MyLab 70 (Esaote, Génova, Italia), equipado con un transductor lineal de 7-12 MHz y se utilizó un software automático guiado por radiofrecuencia llamado "*quality intima-media thickness in real time*". La presencia de placa carotídea en el árbol carotídeo extracraneal (arteria carótida común, bulbo y arteria carótida interna) se definió como lo siguiente: protrusión focal en la luz con CIMT $\geq 1,5$ mm, protrusión $\geq 50\%$ mayor que los CIMT circundante o una invasión del lumen arterial $>0,5$ mm¹⁶⁸. Todo ello queda recogido en el consenso de Mannheim,

6.6. Análisis estadístico

En lo que respecta a la potencia del estudio, estudios previos del presente grupo habían encontrado una correlación entre el HDL-C y el CIMT ($r=-0,161$, $p=0,034$). Basándonos en este resultado, se esperaba encontrar una relación similar entre la CEC y el CIMT. Por tanto, para una potencia estadística al 80%, para detectar diferencias en el contraste de la hipótesis nula, asumiendo una significancia estadística bilateral de 0,05 y con medias del análisis de la varianza en el contexto de un modelo de regresión logística con un coeficiente de determinación final esperado de 0,5, se calculó que sería necesario incluir 152 sujetos. Las características clínicas y demográficas de los pacientes con AR y los controles se compararon mediante test de X^2 para variables categóricas y test de *Student's t* para variables continuas (datos expresados con media \pm SD – desviación estándar). Para variables no continuas, se utilizó el test de U de *Mann-Whitney* o una transformación logarítmica (datos expresados como mediana; IQR – rango intercuartil). Para establecer la asociación entre factores demográficos, FRCV clásicos, niveles de lípidos, variables clínicas relacionadas con la AR, la CEC y el CIMT y/o la presencia de placa carotídea, se realizaron análisis de regresión logística o lineal univariantes. La relación de la CEC con la evaluación carotídea se determinó mediante un análisis de regresión lineal y regresión logística multivariantes ajustando por factores de confusión. Teniendo en cuenta el objetivo de este estudio, las variables confundidoras fueron aquellas con $p < 0,2$ en el análisis de asociación vis-á-vis de la evaluación carotídea y la CEC. Se determinó un nivel de significación bilateral del 5% y todos los análisis se realizaron con el programa IBM SPSS Statistics version 21 software (IBM, Armonk, NY, USA) y la versión de STATA 13/SE software (StataCorp, College Station, TX, USA). Un valor $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

Resultados

7. Resultados

7.1. Datos demográficos, de laboratorio y relacionados con la enfermedad

En este estudio participaron un total de 401 individuos apareados por género; 178 pacientes con AR y 223 controles sanos. Las características demográficas y asociadas a la enfermedad se describen en la **Tabla 3**. No hubo diferencias en el IMC entre los dos grupos, sin embargo, la circunferencia abdominal aumentada, la hipertensión, diabetes mellitus y dislipemia, fue más común en el grupo de pacientes con AR. Del mismo modo, el porcentaje de pacientes que tomaba estatinas fue mayor en el grupo de AR que en el grupo control (34% vs 10%, $p=0,000$).

La mayoría de los pacientes con AR tenían actividad moderada de la enfermedad medida por DAS28 ($3,74 \pm 1,19$), en el momento del estudio. Asimismo, un 35% tomaba prednisona (dosis media de 5 mg) [IQR 3-6 mg/día]. La VSG fue significativamente mayor en el grupo de pacientes que en el grupo control, sin diferencias en los valores de PCR entre ambos grupos. En lo que respecta a los marcadores de AR, 119 (67%) pacientes presentaban FR positivo y 98 (55%) ACPA positivo. La mayoría de los pacientes (86%) se encontraba en tratamiento con FAMEs mientras que una minoría recibía tratamiento con fármacos anti-TNF α (13%) u otros biológicos.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la media de la CEC entre pacientes con AR ($18,9 \pm 9\%$) y los controles ($16,9 \pm 10,4\%$) ($p=0,11$). Esta diferencia se mantuvo no significativa después de ajustar por niveles de HDL-C, edad, género y uso de estatinas.

Tabla 3. Características de los pacientes con artritis reumatoide y los controles			
	Controles	Pacientes con AR	P
	(n=223)	(n=178)	
Edad, años	59 ± 9	55 ± 11	0,000
Mujeres, n (%)	155 (70)	140 (79)	0,063
Índice de masa corporal, kg/m ²	28 ± 5	28 ± 5	0,74
Circunferencia abdominal, cm	93 ± 14	97 ± 13	0,006
Tensión arterial sistólica	133 ± 15	137 ± 19	0,018
Tensión arterial diastólica	82 ± 10	83 ± 12	0,36
Comorbilidad cardiovascular			
Fumadores, n (%)	45 (20)	29 (16)	0,29
Diabetes, n(%)	10 (4)	27 (15)	0,000
Hipertensión, n (%)	64 (29)	62 (35)	0,22
Dislipemia, n (%)	41 (18)	71 (40)	0,000
Tratamiento antihipertensivo, n (%)	38 (17)	63 (35)	0,000
Estatinas, n (%)	22 (10)	60 (34)	0,000
Tratamiento hormonal sustitutivo, n (%)	7 (3)	0 (0)	0,018
Datos de laboratorio			
VSG, mm/h	10 ± 8	35 ± 22	0,000
PCR, mg/dl	1,0 (1,0-3,0)	3,3 (1,6-6,1)	0,34
Colesterol, mg/dl	218 ± 39	206 ± 37	0,001
Triglicéridos, mg/dl	105 ± 52	151 ± 92	0,000
HDL colesterol, mg/dl	63 ± 17	56 ± 16	0,000
LDL colesterol, mg/dl	134 ± 36	120 ± 33	0,000
Lipoproteína A, mg/dl	16 (9-35)	33 (10-121)	0,000
Apolipoproteína A	191 ± 35	170 ± 28	0,000
Apolipoproteína B	102 ± 24	109 ± 59	0,13
Ratio Apo B/apo A	0,55 ± 0,16	0,65 ± 0,29	0,000
Índice aterogénico	3,72 ± 1,14	4,02 ± 1,51	0,036
Capacidad aceptora del colesterol, %	16,9 ± 10,4	18,9 ± 9,0	0,11
Datos relacionados con la AR			
Duración de la enfermedad, años		7 (4-15)	
Edad al diagnóstico, años		45 ± 13	
DAS28		3,74 ± 1,19	
Remisión, n (%)		38 (21)	
Baja actividad, n (%)		29 (16)	
Moderada actividad, n (%)		84 (47)	
Alta actividad, n (%)		27 (15)	

DAS28-PCR		2,94 ± 0,99	
SDAI		14 (8-21)	
CDAI		82 (40-112)	
Factor reumatoide, n (%)		119 (67)	
ACPA, n (%)		98 (55)	
Tratamiento con prednisona, n (%)		62 (35)	
Dosis de prednisona, mg/día		5 (3-6)	
Tratamiento con AINEs, n (%)		78 (44)	
FAMEs, n (%)		153 (86)	
Metotrexato, n (%)		135 (76)	
Leflunomida, n (%)		19 (11)	
Tratamiento biológico, n (%)		41 (23)	
Anti-TNFα, n (%)		23 (13)	
Tocilizumab, n (%)		11 (6)	
Rituximab, n (%)		5 (3)	
Abatacept, n (%)		2 (1)	
Evaluación carotídea			
CIMT, mm		0,671 ± 0,143	
Placa carotídea, n (%)		66 (37)	
Los datos se representan con media ± DS o mediana (RIQ) dependiendo de si siguen o no una distribución normal.			

7.2. Relación entre la CEC y las características demográficas, FRCV tradicionales, y variables asociadas a la enfermedad entre pacientes y controles

Se encontró una correlación entre el género masculino y la CEC en pacientes con AR pero no en controles, no existiendo ninguna asociación entre la CEC y el resto de variables demográficas.

La tensión arterial sistólica se asoció de manera inversa con la CEC en controles (coeficiente β -0,1 [-0,2 a 0,0]%, $p=0,025$). En pacientes con AR, se encontró una asociación similar, aunque no se alcanzó significancia estadística. No se encontró relación entre los FRCV clásicos, comorbilidades cardiovasculares y la

CEC en ninguno de los grupos. Tampoco hubo asociación entre los niveles de lípidos y la CEC (**Tabla 4**).

Tabla 4. Relación univariante de los factores de riesgo cardiovascular tradicionales y artritis reumatoide con la capacidad aceptora del colesterol del HDL en controles y pacientes con AR				
	Controles		AR	
	% efflux, beta coef. (95%CI), p			
Edad, años	-0,9 (-0,4-0,2)	0,50	-0,2 (-0,2-0,1)	0,78
Varon	-0,9 (-4,6-2,8)	0,62	-6,1 (-9,4-2,8)	0,000
Índice de masa corporal, kg/m ²	-0,2 (-0,6-0,1)	0,20	0,2 (-0,1-0,5)	0,21
Circunferencia abdominal, cm	-0,1 (-0,2-0,0)	0,058	0,0 (-0,1-0,2)	0,42
Tensión arterial sistólica	-0,1 (-0,2-0,0)	0,025	0,1 (-0,0-0,2)	0,11
Tensión arterial diastólica	-0,0 (-0,1-0,0)	0,29	0,01 (-0,0-0,2)	0,15
Comorbilidad cardiovascular				
Fumadores	1,8 (-2,4-6,0)	0,40	-0,3 (-4,5-3,9)	0,89
Diabetes, n(%)	1,2 (-5,9-8,3)	0,74	2,9 (-1,3-7,2)	0,17
Hipertensión	-2,4 (-6,0-1,1)	0,17	0,1 (-3,0-3,2)	0,95
Dislipemia	-1,1 (-5,2-3,1)	0,61	-0,3 (-3,4-2,8)	0,85
Tratamiento antihipertensivo	0,7 (-3,6-5,0)	0,75	0,4 (-2,7-3,5)	0,80
Estatinas	-2,1 (-7,4-3,2)	0,44	0,6 (-2,6-3,8)	0,70
Datos de laboratorio				
VSG, mm/h	-0,2 (-0,1-0,1)	0,23	-0,1 (-0,1-0,0)	0,12
PCR, mg/dl	-0,3 (-0,6-0,0)	0,092	-0,0 (-0,1-0,1)	0,83
Colesterol, mg/dl	0,0 (-0,0-0,1)	0,11	0,00 (-0,0-0,00)	0,69
Triglicéridos, mg/dl	-0,0 (-0,1-0,0)	0,19	0,0 (-0,0-0,0)	0,30
HDL colesterol, mg/dl	0,1 (-0,0-0,2)	0,092	0,0 (-0,1-0,1)	0,48
LDL colesterol, mg/dl	0,0 (-0,0-0,1)	0,32	-0,0 (-0,1-0,0)	0,62
Lipoproteína A, mg/dl	0,1 (-0,0-0,1)	0,059	-0,0 (-0,0-0,0)	0,35
Apolipoproteína A	0,0 (-0,0-0,1)	0,089	-0,0 (-0,1-0,0)	0,84
Apolipoproteína B	0,0 (-0,1-0,1)	0,77	0,00 (-0,0-0,0)	0,99
Ratio Apo B/apo A	-5,8 (-16,8 5,4)	0,31	0,8 (-4,1-5,7)	0,76
Índice aterogénico	0,7 (-2,4-1,0)	0,41	0,0 (-1-1)	0,99
Datos relacionados con la AR				
Duración de la enfermedad, años			0,1 (-0,0-0,3)	0,12
DAS28			-1,1 (-2,3-0,2)	0,086
Remisión			-	
Baja actividad de la enfermedad			-5,2 (-10,0--0,3)	0,039

Moderada actividad de la enfermedad		-4,6 (-8,5--0,7)	0,020
Alta actividad de la enfermedad		-3,2 (-8,1--1,7)	0,19
Moderada y alta actividad de la enfermedad		-4,2 (-7,9—0,6)	0,024
DAS28-PCR		-1,1 (-2,7-0,4)	0,14
SDAI		-0,0 (-0,1-0,1)	0,54
CDAI		-0,0 (-0,0-0,0)	0,31
Factor reumatoide		-0,4 (-3,8-2,9)	0,81
ACPA		0,4 (-2,7-3,6)	0,78
Tratamiento con prednisona		-0,3 (-3,4-2,9)	0,88
Dosis de prednisona, mg/día		-0,3 (-3,4-2,9)	0,88
Tratamiento con AINEs		4,6 (1,5-7,6)	0,004
FAMEs		-0,2 (-4,6-4,2)	0,93
Metotrexate		0,5 (-2,9-4,0)	0,77
Leflunomida		-1,3 (-5,9-3,3)	0,58
Tratamiento biológico		3,57 (-0,0-7,2)	0,05
Anti TNF α		0,7 (-4,0-5,5)	0,76
Tocilizumab		8,0 (2,3-13,7)	0,007
Rituximab		1,3 (-9,1-11,7)	0,81
Abatacept		-1,4 (-14,1-11,4)	0,83
La relación entre el DAS 28 y la capacidad aceptora del colesterol fue estudiada usando la categoría de “remisión” como categoría de referencia.			

7.3. Relación entre las características de los pacientes con AR, el CIMT y la presencia de placas carotideas

La edad, el género masculino, la circunferencia cintura y los FRCV clásicos (hipertensión, diabetes, dislipemia) salvo el tabaco, se correlacionaron de manera positiva con el CIMT y la presencia de placa.

En lo que respecta a los lípidos, la lipoproteína A se asoció a la presencia de placa (OR 1,00 [95% CI 1,00-1,01], $p=0,043$). Los triglicéridos ($p=0,034$) y el índice aterogénico ($p=0,023$) se correlacionaron con niveles elevados de CIMT. Se objetivó una correlación negativa entre los niveles de HDL-C y el CIMT (coeficiente β -0,01 [-0,03 a 0,00]%, $p=0,034$). Los niveles de VSG se

correlacionaron de manera positiva con la presencia de placa carotidea y el CIMT.

La actividad de la enfermedad medida por DAS 28 y/o el CDAI se asoció a un riesgo mayor de desarrollar placa (OR 1,36 [95% CI 1,05-1,77], $p=0,022$) (OR 1,01 [95% CI 1,00-1,01], $p=0,055$), respectivamente. Se objetivó una correlación negativa entre el FR y el bajo nivel de CIMT. Estas asociaciones no se encontraron con el ACPA.

El tratamiento con AINES se correlacionó negativamente con la placa carotidea (OR 0,40 [95% CI 0,21-0,76], $p=0,005$) y la CIMT (coeficiente β -0,6 [-1,0 a 0,2], $p=0,005$) (**Tabla 5**). Sin embargo, no se encontró asociación entre el tratamiento con prednisona y/o la dosis de la misma y la presencia de placa y el CIMT.

Tabla 5. Relación univariante de las características de los pacientes con AR y el CIMT y la presencia de placa carotidea				
	Pacientes con AR (n=178)			
	Placa carotidea		CIMT (x 10 mm)	
	OR (95% CI)	p	beta coef (95% CI)	P
Edad, años	1,15 (1,10-1,20)	0,000	0,08 (0,01-0,01)	0,000
Varon	3,00 (1,44-6,26)	0,003	1,1 (0,6-1,6)	0,000
Índice de masa corporal, kg/m ²	1,00 (0,95-1,06)	0,92	0,03 (0,02-0,07)	0,23
Circunferencia abdominal, cm	1,01 (0,99-1,04)	0,31	0,02 (0,00-0,03)	0,021
Tensión arterial sistólica	1,04 (1,02-1,06)	0,000	0,04 (0,03-0,05)	0,000
Tensión arterial diastólica	1,02 (0,997-1,05)	0,078	0,02 (0,01-0,04)	0,009
Comorbilidad cardiovascular				
Fumadores	1,04 (0,46-2,37)	0,92	-0,1 (0,7-0,4)	0,63
Diabetes, n(%)	3,54 (1,51-8,30)	0,004	1,0 (0,04-1,6)	0,001
Hipertensión	2,57 (1,36-4,87)	0,004	0,6 (0,2-1,1)	0,005
Dislipemia	3,61 (1,91-6,84)	0,000	0,4 (-0,01-0,8)	0,082
Tratamiento anti-hipertensivo	2,73 (1,44-5,18)	0,002	0,7 (0,2-1,1)	0,002
Estatinas	3,93 (2,04-7,58)	0,000	0,5 (0,0-0,9)	0,036
Datos de laboratorio				

VSG, mm/h	1,02 (1,01-1,04)	0,003	0,01 (0,00-0,02)	0,041
PCR, mg/dl	0,45 (0,96-1,02)	0,45	0,00 (-0,01-0,01)	0,947
Colesterol, mg/dl	1,00 (0,99-1,01)	0,83	0,00 (0,00-0,01)	0,16
Triglicéridos, mg/dl	1,00 (0,99-1,01)	0,13	0,00 (0,00-0,00)	0,034
HDL colesterol, mg/dl	0,99 (0,98-1,01)	0,51	-0,01 (-0,03-0,00)	0,034
LDL colesterol, mg/dl	0,99 (0,99-1,01)	0,77	0,00 (0,00-0,01)	0,14
Lipoproteína A, mg/dl	1,00 (1,00-1,01)	0,043	0,00 (0,00-0,00)	0,76
Apolipoproteína A	1,01 (0,99-1,02)	0,37	0,00 (-0,01-0,01)	0,8
Apolipoproteína B	0,99 (0,99-1,01)	0,73	0,00 (0,00-0,00)	0,48
Ratio Apo B/apo A	0,70 (0,21-2,33)	0,56	0,4 (0,4-1,1)	0,36
Índice aterogénico	1,06 (0,87-1,29)	0,57	0,2 (0,0-0,3)	0,029
Datos relacionados con la AR				
Duración de la enfermedad, años	1,02 (0,99-1,06)	0,17	0,01 (-0,01- 0,03)	0,41
DAS28	1,36 (1,05-1,77)	0,022	0,12 (-0,06-0,30)	0,18
DAS28-PCR	1,19 (0,88-1,63)	0,26	0,08 (-0,14-0,29)	0,47
SDAI	0,99 (0,98-1,02)	0,85	0,00 (-0,01-0,01)	0,76
CDAI	1,01 (1,00-1,01)	0,055	0,00 (0,00-0,01)	0,16
Factor reumatoide	0,87 (0,45-1,71)	0,69	-0,5 (-1,0—0,0)	0,043
ACPA	0,87 (0,46-1,63)	0,66	-0,3 (-0,8-0,1)	0,14
Tratamiento con prednisona	1,11 (0,59-2,10)	0,74	0,0 (-0,4-0,5)	0,9
Dosis de prednisona, mg/día	0,99 (0,89-1,09)	0,81	-0,04 (-0,1-0,2)	0,2
Tratamiento con AINEs	0,40 (0,21-0,76)	0,005	-0,6 (-1,0—0,2)	0,005
FAMEs	2,04 (0,77-5,41)	0,15	0,3 (-0,4-0,9)	0,43
Metotrexato	0,77 (0,38-1,54)	0,46	-0,3 (-0,8-0,2)	0,25
Leflunomida	2,04 (0,78-5,32)	0,14	0,9 (0,2-1,6)	0,01
Tratamiento biológico	0,51 (0,23-1,13)	0,098	-0,2 (-0,8-0,3)	0,35
Anti TNF α	0,89 (0,36-2,23)	0,81	0,4 (-0,3-1,0)	0,23
Tocilizumab	0,16 (0,02-1,26)	0,081	-0,7 (-1,6-0,1)	0,085
Rituximab	0,42 (0,05-3,80)	0,44	-1,1 (-2,4-0,1)	0,81
Abatacept	1,71 (0,11-27,8)	0,71	0,6 (-1,4-2,6)	0,55

7.4. Asociación de la CEC con la ateromatosis subclínica en pacientes con AR

Los niveles elevados de la CEC se asociaron con un efecto protector frente a la presencia de placas en pacientes con AR. Esta asociación se mantuvo en el análisis multivariable después de ajustar por edad, género, tensión arterial sistólica, diabetes, VSG, duración de la enfermedad, DAS 28 y tratamiento con tocilizumab (OR 0,94 [95% CI 0,89-0,98], $p=0,015$). Por otro lado, no se encontró asociación entre la CEC y la CIMT en pacientes con AR (**Tabla 6, figura**).

Tabla 6. Capacidad aceptora del colesterol y su relación con el cIMT y la placa carotídea				
	Placa carotídea		cIMT x 10 mm	
	OR (95% CI)		beta coef. (95% CI)	
Capacidad aceptora del colesterol, %				
No ajustado	0,95 (0,92-0,99)	0,023	0,01 (-0,02-0,03)	0,67
Ajustado	0,94 (0,89-0,98)	0,015	0,01 (-0,02-0,03)	0,54
Ajustado por edad, género, presión arterial sistólica, diabetes, VSG, duración de la enfermedad, DAS28 y tratamiento con tocilizumab				

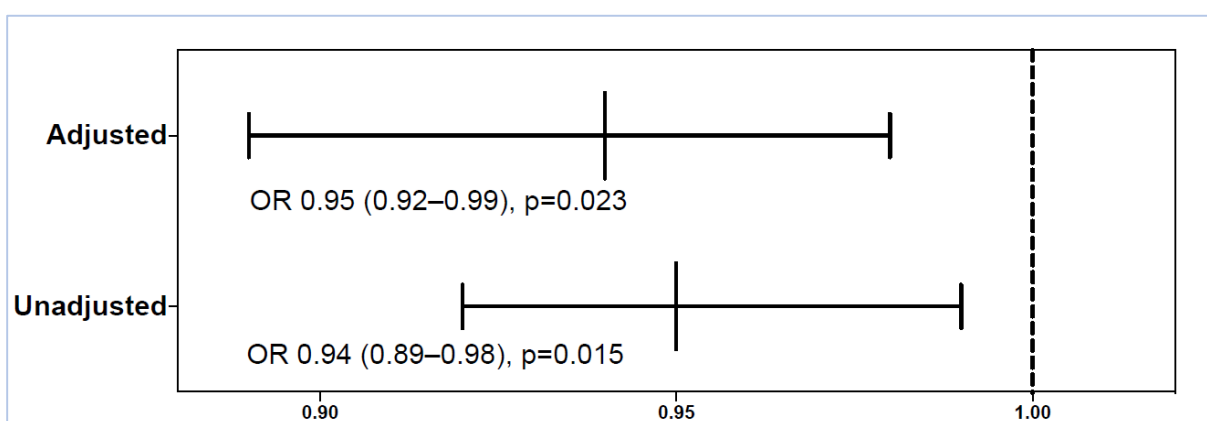


Figura 6. Diagrama de cajas que evalúa la CEC y su relación con el cIMT y la placa carotídea

Discusión

8. Discusión

Es conocido que la CEC está alterada en pacientes con AR pero hasta ahora, no se había evaluado la posible relación entre ésta y la presencia de ateromatosis subclínica. En el presente estudio demuestra que en pacientes con artritis reumatoide la CEC se asocia de forma independiente a la presencia de placas carotideas.

Por otro lado, no se encontraron diferencias entre la CEC de pacientes con AR y controles, un hallazgo que ya se evidenció en estudios previos. Charles-Schoeman y colaboradores⁸, realizan un estudio en el cual participaron 40 pacientes con AR y 40 controles sanos que se aleatorizan por género con el objetivo de determinar si existen diferencias entre la CEC entre estos grupos. Los autores no encuentran diferencias estadísticamente significativas entre el valor de la CEC. Sin embargo, si observan una asociación significativa entre la CEC y la actividad de la enfermedad independiente de los niveles de HDL-C de los pacientes con AR, sugiriendo que la inflamación sistémica tiene un papel primordial en la capacidad anti-oxidante del HDL-C.

Así mismo, Ronda y colaboradores¹³³, evalúan la funcionalidad del HDL-C midiendo la CEC desde 3 vías diferentes en 30 pacientes con AR y 30 controles sanos sin encontrar diferencias entre la vía de los receptores SR-B1, la vía del ABCA1, y la vía de la difusión acuosa entre los pacientes y los controles. Únicamente objetivaron que la vía del ABCG1 estaba alterada en los pacientes con AR con respecto a controles y que la CEC mediada por esta vía se asoció a alta actividad de la enfermedad. Estos resultados sugieren que la propia inflamación de la enfermedad podría alterar una población específica de HDL colesterol por mecanismos todavía en estudio.

En lo que respecta a la relación entre la actividad de la enfermedad y la CEC, se encontró una relación inversa aunque no significativa, entre la CEC y el DAS 28 en todos los grupos de pacientes. Sin embargo, al realizar un análisis por subgrupos, la CEC fue significativamente menor en pacientes con actividad baja o moderada que en los pacientes en remisión. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la CEC de los pacientes con alta actividad y remisión. Las razones de estos resultados pueden atribuirse a una falta de potencia estadística al comparar los pacientes con alta actividad y en remisión. Cuando los pacientes con alta y moderada actividad se incluían en un mismo grupo y se comparaban con aquellos en remisión, ciertamente se encontraba una disminución estadísticamente significativa de la CEC en el primer grupo con respecto al grupo en remisión. Por esta razón, consideramos que la asociación encontrada entre la CEC y la actividad de la enfermedad es lo suficientemente robusta para ser real. Estos resultados están en línea con otros estudios publicados previamente. En efecto, Charles-Schoeman y colaboradores⁸, describen diferencias estadísticamente significativas en la CEC entre los pacientes en remisión/baja actividad y alta actividad. De la misma forma, observan una correlación significativa entre la CEC, la actividad de la enfermedad y la inflamación sistémica medida por VSG. Ronda y colaboradores¹³³, objetivaron una relación inversa y significativa entre la CEC mediada por el ABCG1 y los valores de DAS 28 en los pacientes con AR, no obstante, no encontraron relación entre la CEC y reactantes de fase aguda tales como la PCR y la VSG. Los autores exponen que mediadores inflamatorios como las citosinas, podría influir en el resultado de la CEC en pacientes con AR. La evidencia de la relación entre la inflamación y la CEC se demostró incluso en población sin enfermedades reumáticas inflamatorias. En individuos sanos a los que se les produjo un estado de endotoxemia baja, se observó diferencias entre la CEC antes y después de la endotoxemia, sugiriendo que la propia inflamación,

sea cual sea su índole, puede alterar la funcionalidad del HDL-C²⁰⁸. Asimismo, se ha encontrado diferencias en la CEC en pacientes con otras enfermedades autoinmunes con respecto a controles^{133,169,170}.

Por otro lado, Liao y colaboradores¹⁷¹, estudian la asociación entre la CEC, los niveles de HDL-C y la inflamación de 90 pacientes con AR. Contrariamente a los resultados encontrados por otros autores, los investigadores observaron una relación inversa y significativa entre los niveles de PCR y la CEC, no obstante, no encuentran correlación entre la CEC y el DAS 28. La reducción de la PCR se asoció con un incremento de la Apo-A1 y mejoría de la CEC. Esta relación fue independiente de los tratamientos recibidos. Asimismo, encontraron una relación inversa aunque no significativa entre el aumento de la PCR y los niveles más bajos de HDL-C. En definitiva, aunque existen datos controvertidos en la literatura, la mayoría de los estudios apuntan a una relación clara entre la inflamación medida por los reactantes de fase aguda y la CEC^{133,171-174}.

En nuestro estudio, no se encontró relación entre ninguna otra variable relacionada con la AR y la CEC a excepción del tratamiento con tocilizumab y AINEs. El hecho de que el tocilizumab se asoció a un aumento de los valores de CEC está en línea con otras publicaciones que describen el efecto beneficioso del tocilizumab sobre la CEC. En el estudio TOCRIVAR¹⁷⁵, un estudio prospectivo en el cual se incluyeron 27 pacientes con AR, se observó un aumento de la CEC en los pacientes que llevaban un año con este tratamiento poniendo de manifiesto la influencia de la IL-6 en el metabolismo de los lípidos. Por otro lado, Ormseth y colaboradores¹⁷⁶ estudiaron el efecto del tocilizumab en la CEC de 25 pacientes con AR, sin encontrar diferencias significativas después de 6 meses de tratamiento con este fármaco, excepto por una disminución de la CEC basal en algunos pacientes. Sin embargo, esta asociación no se encontró en pacientes con adalimumab o metotrexato, lo que sugirió a los autores que la modificación

en la CEC parece estar relacionada con el propio fármaco anti-IL6. Así mismo, en otro estudio se observó que el tocilizumab disminuyó los metabolitos de oxígeno reactivo en plasma de los pacientes con tocilizumab frente a los pacientes con otros FAMES sintéticos y biológicos^{82,177}. Por tanto, el tocilizumab podría influir en la CEC reduciendo el estrés oxidativo, que al mismo tiempo, afecta la funcionalidad del HDL-C. De cualquier forma, y a pesar de lo expuesto, se debe recalcar que la asociación objetivada entre el tocilizumab y la CEC en nuestro estudio, debe ser interpretada con cautela, teniendo en cuenta el pequeño tamaño muestral de este grupo.

En el presente trabajo el tratamiento con AINEs podría jugar un papel protector frente a la aparición de placa carotídea y el valor del CIMT. Los niveles de la CEC fueron más elevados en los pacientes que tomaban AINEs con respecto a los que no. Este efecto beneficioso de los AINEs sobre la CEC no se ha descrito previamente en la literatura científica. No obstante, en otros estudios se ha objetivado que concretamente en los pacientes con artritis inflamatoria, el efecto anti-inflamatorio de los AINEs podría compensar el potencial aumento de riesgo cardiovascular atribuido a este medicamento¹⁷⁸. En un estudio longitudinal danés que incluyó 17.320 pacientes con AR, se evaluó el riesgo cardiovascular asociado a los AINEs en este grupo de pacientes con respecto a controles sanos. En un seguimiento medio de 5 años, los autores encontraron que el número de eventos cardiovasculares y el riesgo fue menor en pacientes con AR con respecto a controles (HR 1,22 [IC 95% 1,09-1,37]) vs (HR 1,36 [IC 95% 1,36-1,66], $p < 0,01$) para todos los AINEs utilizados. Se observó que el rofecoxib (AINE retirado del mercado por exceso de eventos cardiovasculares) y el diclofenaco se asociaban a un riesgo cardiovascular aumentado, sin encontrarse diferencias significativas en el resto de los AINEs¹⁷⁸. Por otro lado, en un reciente meta-análisis y revisión sistemática se describe un 18% más de riesgo de

eventos cardiovasculares en población con AR con respecto a controles¹⁷⁹. El AINE que se ha asociado a menor riesgo cardiovascular es el naproxeno, si lo comparamos con ibuprofeno y celecoxib. Por tanto, los AINES pueden utilizarse en estos pacientes aunque siempre durante periodos limitados de tiempo, teniendo en cuenta el balance riesgo-beneficio en nuestros pacientes. Es conocido que los AINES, al igual que otros fármacos utilizados en la AR, ayudan a disminuir la inflamación en un paciente con brote pero no es el tratamiento que consigue frenar la enfermedad.

Así como sí que se encontró un papel protector de los AINEs sobre la CEC, no se observó asociación entre el uso de prednisona o equivalentes y la aterosclerosis subclínica carotídea. Creemos que este hallazgo puede ser debido a que el riesgo cardiovascular en pacientes en tratamiento con glucocorticoides es dosis dependiente, y puede ser que no se haya apreciado en nuestros pacientes por estar tomando dosis bajas de prednisona. De cualquier forma, la asociación entre el uso prolongado de glucocorticoides y los eventos cardiovasculares, es bien conocido. En un meta-análisis que incluyó 236.525 pacientes con AR, el riesgo de desarrollar un evento cardiovascular asociado al tratamiento con glucocorticoides fue de un 47%¹⁷⁹. Otro estudio observó que una dosis ≥ 8 mg de prednisona diaria o equivalente, o una dosis acumulada de 40 mg, aumentaba el riesgo de forma significativa así como la mortalidad por cualquier causa, independientemente de los FRCV tradicionales que tuviese el paciente y la severidad de la artritis. Otros estudios observacionales han encontrado relación entre dosis bajas de glucocorticoides y enfermedad cardiovascular^{18,73}. Una dosis de prednisona o equivalente $< 7,5$ mg se asoció con un 23-32% de riesgo para desarrollar infarto agudo de miocardio en una cohorte de pacientes con AR¹⁸. También el tiempo de tratamiento parece contribuir a aumentar el riesgo¹⁸⁰. No obstante, se debe tener en cuenta la

presencia de factores de confusión, posiblemente los pacientes con AR más grave, son los que precisan de corticoides desde el inicio, siendo la gravedad de la enfermedad un factor de riesgo para el desarrollo de eventos cardiovasculares. Por otro lado, Ferraz-Amaro y colaboradores¹⁸¹ encuentran en un estudio de cohortes que incluyó 101 pacientes con AR, que la proteína de transferencia de éster de colesterol (CETP), tenía una función decreciente en los pacientes con AR en tratamiento con glucocorticoides con respecto a los controles. Esta proteína es fundamental en el proceso de modulación enzimática del transporte reverso de colesterol, ya que se encarga de transferir los ésteres de colesterol desde la molécula de HDL-C a los triglicéridos ricos en LDL. Asimismo, los autores observan que la actividad de la CEPT tuvo una relación inversa con el valor del SCORE, pudiendo considerarse un factor predictor de mortalidad cardiovascular en los pacientes con AR.

No se observó relación entre la presencia de ACPA y la aterosclerosis subclínica, sin embargo, se encontró un efecto protector aunque débil, del FR sobre el CIMT. No tenemos una explicación clara para este hecho. No obstante, consideramos que esta relación puede ser casual y tendrá que ser corroborada en futuros estudios. En contra de estos resultados, otros estudios han observado una relación entre el FR y el riesgo cardiovascular. Tomasson y colaboradores¹⁸² realizan un estudio prospectivo a 23 años en un grupo de pacientes con FR positivo pero sin AR establecida. Los autores encuentran un aumento de la mortalidad cardiovascular. En otro estudio multi-étnico en individuos sin AR se observó una asociación entre el FR y el desarrollo de aterosclerosis subclínica y eventos cardiovasculares en pacientes mujeres afro-americanas¹⁸³. De cualquier forma, la relación causal entre FR positivo y riesgo cardiovascular en pacientes con AR no está claramente establecida.

La presencia de ACPA también se ha asociado al riesgo cardiovascular en pacientes con AR, de una forma más estrecha. López-Longo y colaboradores¹⁸⁴ describen una relación entre la presencia de ACPA en pacientes con AR y el desarrollo de cardiopatía isquémica y mortalidad. Asimismo, otro estudio observó como la presencia de anticuerpos contra proteínas citrulinadas, como el fibrinógeno y la vimentina en pacientes con AR, se asoció a mayor tasa de aterosclerosis clínica medida por tomografía computarizada multicorte cardiaca. No obstante, esta asociación no se encontró para los ACPA que se suelen medir en práctica clínica¹⁸⁵. Resultados similares encontró Hejblum BP y colaboradores¹⁸⁶, donde en un grupo de 1006 pacientes con AR, los anticuerpos anti-fibrinógeno citrulinados, se asociaron a enfermedad coronaria, no encontrándose asociación con el resto. Estos resultados sugieren que independientemente de la artritis reumatoide, el propio proceso autoinmune que da lugar a los anticuerpos participa de forma indirecta en aumentar el riesgo cardiovascular.

En el presente estudio no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre la CEC, los FRCV tradicionales y el perfil lipídico en el grupo de pacientes y controles. En este sentido, se debe tener en cuenta que los FRCV solo explican un 3% de las variaciones observadas en la CEC⁷. Así mismo, la tolerancia a la glucosa no parece tampoco tener impacto en el valor de la CEC y éste no puede explicarse por los niveles del HDL-C y los niveles de la apoA-I^{110,187}. De la misma forma, no se encontró ninguna asociación entre el uso de estatinas y la CEC en pacientes y controles. Un subanálisis del ensayo clínico JUPITER (Justification for the Use of statins in Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin)¹⁸⁸, realizado en población sana, a pesar de que si se encontró una relación inversa entre el tratamiento con rosuvastatina y los niveles de HDL-C, apoA-I y el número de partículas de HDL, no hubo relación con la

CEC¹⁸⁹. Resultados similares se encontraron en los ensayos clínicos de pravastatina y atorvastatina⁶. Estas observaciones sugieren que el mecanismo por el que las estatinas son responsables del beneficio sobre el riesgo cardiovascular, es otro diferente a su modificación de la CEC⁶.

La relación entre el RCV y el hábito tabáquico es bien conocida¹⁹⁰. En efecto, en previos estudios⁶ se encuentra una relación inversa entre el tabaco y la CEC. No obstante, no se encuentra esta asociación en el presente trabajo. Este hecho podría estar relacionado con el diseño: solo se incluyeron pacientes fumadores activos y solo un 16% de los pacientes con AR que fueron fumadores activos en el momento de la inclusión. De cualquier forma, creemos que la alteración de la CEC en los pacientes con AR no se debe a un efecto de los FRCV tradicionales sino a la inflamación inherente propia la enfermedad.

La CEC se ha asociado a enfermedad aterosclerótica en población sana^{6,7}, sin embargo, no se había explorado esta asociación en pacientes con AR. El presente trabajo describe una relación entre la CEC y la presencia de placa carotídea pero no con el CIMT. Una explicación para este fenómeno podría ser que la relación entre la CEC y la CIMT no es lineal, por tanto, el análisis con regresión lineal pudo no detectar una asociación significativa. No obstante, la presencia de placa carotídea se considera mejor predictor de enfermedad cardiovascular que el CIMT¹⁹¹. Además, está bien establecido que así como la placa carotídea refleja aterosclerosis avanzada y se asocia de manera estrecha con la dislipemia, el CIMT elevado se asocia más a hipertensión arterial y se relaciona con la hipertrofia de ventrículo izquierdo y el desarrollo de ictus¹⁹². Por estas razones, creemos que la asociación encontrada en el presente trabajo entre la CEC y la placa carotídea pero no con el CIMT, refleja la relación de este con un estado de arteriosclerosis subclínica relacionada con factores de riesgo cardiovascular como la presencia de un perfil anómalo de lípidos.

Este estudio no está exento de limitaciones que deben mencionarse. En primer lugar, no se pudo evaluar la presencia de placa o no en carótida en el grupo control. Aunque es cierto que hay suficiente evidencia que establece una relación entre la CEC, el CIMT y los eventos cardiovasculares en población general, la evaluación de la aterosclerosis subclínica carotídea en el grupo control nos hubiese dado la oportunidad de observar diferencias e interacciones estadísticas entre los dos grupos. En segundo lugar, se debe tener en cuenta que las vías implicadas en la CEC son múltiples y diferentes y pueden participar otras moléculas que no se han medido en nuestro estudio. En tercer y último lugar, aunque ciertamente existen otros mecanismos para medir la CEC in vitro, la mayoría de las investigaciones en estudios de cohortes, se han realizado utilizando el mismo ensayo que hemos empleado en el presente trabajo. Este ensayo integra las diferentes vías de la CEC desde los macrófagos (ABCA1, ABCG1, SR-B1 y AD).

Por otro lado, el presente trabajo tiene fortalezas, siendo el primero en evidenciar la relación entre la CEC y la aterosclerosis subclínica en una serie de pacientes con AR, con un tamaño muestral no despreciable.

Conclusiones

9. Conclusiones

- I. El presente trabajo constituye el primero en la literatura científica que ha observado una relación entre la capacidad aceptora del colesterol y la aterosclerosis subclínica en pacientes con AR.

- II. La capacidad aceptora del colesterol expresa una relación inversa con la actividad de la enfermedad. Esto podría sugerir que es esta actividad de la enfermedad la que determina, de forma independiente, una capacidad aceptora del colesterol disminuida. Esta capacidad aceptora de colesterol alterada podría ser responsable, por tanto, del perfil lipídico anómalo que expresan los pacientes con AR.

- III. En los pacientes con artritis reumatoide no se encuentra una relación entre la capacidad aceptora de colesterol y los factores de riesgo cardiovascular tradicionales. Por este motivo, consideramos que la relación de la capacidad aceptora de colesterol con la presencia de ateromatosis subclínica es independiente de estos factores y relacionada con la actividad de la enfermedad.

- IV. Teniendo en cuenta que la medición del perfil lipídico en los pacientes con artritis reumatoide no es un marcador “fiable” de riesgo cardiovascular, la medición de la capacidad aceptora de colesterol podría ser útil para ayudar a evaluar el riesgo cardiovascular en estos pacientes.

Líneas de futuro

10. Líneas de futuro

El inicio de esta tesis doctoral sirve como estímulo para profundizar todavía más en los mecanismos por los cuales padecer artritis reumatoide es un factor de riesgo independiente para desarrollar eventos cardiovasculares independientemente de la actividad de la enfermedad y de los niveles de colesterol. Asimismo cuestiona cómo el uso de otras herramientas no invasivas, como es la ecografía carotídea, puede ayudarnos a ser más precisos en la predicción del riesgo cardiovascular en práctica clínica. Del mismo modo, nuestros resultados revelan que más allá de la cuantificación de los niveles de lípidos como predictores de eventos cardiovasculares, lo que realmente parece tener una implicación certera en el riesgo de nuestros pacientes, es el aspecto cualitativo de la molécula de colesterol. Por tanto, un perfil lipídico “óptimo” no nos debe hacer pensar que el paciente no está exento de desarrollar un evento cardiovascular. Este hecho implica quizás, el desarrollo de protocolos en práctica clínica específicos para este tipo de pacientes.

Los resultados de esta tesis han sido presentados como comunicación tipo poster oral en el congreso nacional (SER), europeo (EULAR) y americano (ACR) de reumatología en 2017, y ha sido aceptado como artículo original en la revista *Arthritis Research & Therapy*, una revista de impacto en el ámbito de la reumatología.

En la actualidad se está trabajando con otras series de pacientes con distintas enfermedades reumáticas diferentes a la artritis reumatoide con el objetivo de investigar si existen diferencias entre la CEC y la ateromatosis subclínica en pacientes con artritis psoriásica y lupus eritematoso sistémico. Así mismo, mediante la reserva de seroteca de los pacientes de la presente serie, se están desarrollando otras líneas de investigación relacionadas con la funcionalidad del

HDL colesterol en colaboración con otros hospitales de nuestro país. Estos trabajos se presentarán en los próximos congresos nacionales e internacionales de reumatología.

Bibliografía

11. Bibliografía

1. Aviña-Zubieta JA, Choh HK, Sadatsafavi M, Etminan N, Esdalle JM, Lacalle D. Risk of cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Arthritis Rheum* 2008; 59(2): 1690-7.
2. López-Mejías R, Castañeda S, González-Juanatey C, Corrales A, Ferraz-Amaro L, Genre F, et al. Cardiovascular risk assessment in patients with rheumatoid arthritis: The relevance of clinical, genetic and serological markers. *Autoimmun Rev* 2016;15(11): 1013-30.
3. Rho YH, Chung CP, Oeser A, Solus J, Asanuma Y, Sokka T, et al. Inflammatory mediators and premature coronary atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009;61(11): 1580-5.
4. Myasoedova E, Crowson CS, Kremers HM, Roger VL, Fitz-Gibbon PD, Therneau TM, et al. Lipid paradox in rheumatoid arthritis: the impact of serum lipid measures and systemic inflammation on the risk of cardiovascular disease. *Ann Rheum Dis* 2011;7(3): 482-7.
5. Choy E, Sattar N. Interpreting lipid levels in the context of high-grade inflammatory states with a focus on rheumatoid arthritis: a challenge to conventional cardiovascular risk actions. *Ann Rheum Dis* 2009;68 (4): 460-9.
6. Khera AV, Cuchel M, de la LLera-Moya M, Rodrigues A, Burke MF, Jafri K, et al. Cholesterol efflux capacity, high density lipoprotein function, and atherosclerosis. *N Engl J Med* 2011;364(2): 127-35.
7. Rohatgi A, Khera A, Berry JD, Givens EG, Ayers CR, Wedin KE, et al. HDL cholesterol efflux capacity and incident cardiovascular events. *N Engl J Med* 2014;371(25): 2383-93.

8. Charles-Shoeman C, Lee YY, Grijalva V, Amjadi S, FitzGerald J, Ranganath VK, et al. Cholesterol efflux by high density lipoproteins is impaired in patients with active rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2012;71(7): 1157-62.
9. Firestein GS. Etiology and Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology (10th edition). Firestein, Budd, Gabriel, McInnes and O' Dell. Philadelphia: Elsevier, 2017:1115-1166.e7.
10. Pujades-Rodriguez M, Duyx B, Thomas SL, Stogiannis D, Rahman A, Smeeth L, et al. Rheumatoid arthritis and incidence of twelve initial presentations of cardiovascular disease: a population record-linkage cohort study in England. *PloS One* 2016;11(3):e0151245.
11. Meune C, Touze E, Trinquart L, Allanore Y. Trends in cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis over 50 years: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Rheumatol (Oxf)* 2009;48(10): 1309-13.
12. Firestein GS, McInnes IB. Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Immunity* 2017;46(2):183-196.
13. Malmström V, Catrina AI, Klareskog L. The immunopathogenesis of seropositive rheumatoid arthritis: from triggering to targeting. *Nat Rev Immunol* 2017; 17(1): 60-75.
14. Radner H, Lesperance T, Accortt NA, Solomon DH. Incidence and prevalence of cardiovascular risk factors among patients with rheumatoid arthritis, psoriasis, or psoriatic arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2017;69(10):1510-8.
15. Maradit-Kremers H, Crowson CS, Nicola PJ, Ballman KV, Roger VL, Jacobsen SJ, et al. Increased unrecognized coronary heart disease and sudden deaths in rheumatoid arthritis: a population-based cohort study. *Arthritis Rheum* 2005;52(2): 402-11.
16. Del Rincon ID, Williams K, Stern MP, Freeman GL, Escalante A. High incidence of cardiovascular events in rheumatoid arthritis cohort not explained by traditional cardiac risk factors. *Arthritis Rheum* 2011;44(12);2737-45.

17. Watson DJ, Rhodes T, Guess HA. All-cause mortality and vascular events among patients with rheumatoid arthritis, osteoarthritis, or no arthritis in the UK general Practice Database. *J Rheumatol* 2003;30(6):1196-202.
18. Navarro-Millán I, Yang S, DuVall SL, Chen L, Baddley J, Cannon GW, et al. Association of hyperlipidaemia, inflammation and serological status and coronary heart disease among patients with rheumatoid arthritis: data from the National Veterans Health Administration. *Ann Rheum Dis* 2016;75(2):341-7.
19. Zhang J, Chen L, Delzell E, Muntner P, Hillegas WB, Safford MM, et al. The association between inflammatory markers, serum lipids and the risk of cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2013;73(7):1301-8.
20. Gonzalez-Gay MA, González-Juanatey C, López-Díaz MJ, Piñeiro A, García-Porrúa C, Miranda-Filloo JA, et al. HLA-DRB1 and persistent chronic inflammation contribute to cardiovascular events and cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2007;57(1):125-32.
21. Del Rincón I, Battafarano DF, Restrepo JF, Erikson JM, Escalante A. Glucocorticoid dose threshold associated with all-cause and cardiovascular mortality in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol* 2014;66(2):264-72.
22. Humphreys JH, Warner A, Chipping J, Marshall T, Lunt M, Symmons DP, et al. Mortality trends in patients with early rheumatoid arthritis over 20 years: results from the Norfolk arthritis register. *Arthritis Care Res (Hooken)* 2014;66(9): 1296-301.
23. Goodson NJ, Wiles NJ, Lunt M, Barret EM, Silman AJ, Symmons DP. Mortality in early inflammatory polyarthritis: cardiovascular mortality is increased in seropositive patients. *Arthritis Rheum* 2002;46(8):2010-9.
24. Yoon SS, Carroll MD, Fryar CD. Hypertension prevalence and control among adults: United States, 2011-2014. *NCHS data brief*. 2015;220:1-8.

25. Dougados M, Soubrier M, Antunez A, Balint P, Balsa A, Buch MH, et al. Prevalence of comorbidities in rheumatoid arthritis and evaluation of their monitoring: results of an international, cross-sectional study (COMORA). *Ann Rheum Dis* 2014;73(1):62-8.
26. Panoulas VF, Metsios GS, Pace AV, John H, Treharne GJ, Banks MJ, et al. Hypertension in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2008;47(9):1286-98.
27. Innala L, Moller B, Ljung L, Magnusson S, Smedby T, Sodergen A, et al. Cardiovascular events in early rheumatoid arthritis are a result of inflammatory burden and traditional risk factors: a five year prospective study. *Arthritis Res Ther* 2011;13(4):R131.
28. Naranjo A, Sokka T, Descalzo MA, Calvo-Alén J, Horslev-Petersen K, Luukkainen RK, et al. Cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: results from QUEST-RA study. *Arthritis Res Ther* 2008;10(2):R30.
29. Chung CP, Oester A, Solus JF, Avalos I, Gebretsadik T, Shintani A, et al. Prevalence of metabolic syndrome is increased in rheumatoid arthritis and is associated with coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2008;196:756-63.
30. Baghdadi LR, Woodman RJ, Shanahan EM, Mangoni AA. The impact of traditional cardiovascular risk factors on cardiovascular outcomes in patients with rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2015;10(2): e0117952.
31. Singh G, Miller JD, Huse DM, Pettitt D, D'Agostino RB, Russell MW. Consequences of increased systolic blood pressure in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003;30(4):714-9.
32. Sesso HD, Buring JE, Rifai N, Blake GJ, Gaziano JM, Ridker PM. C-reactive protein and the risk of developing hypertension. *JAMA* 2003;290 (22):2945-51.
33. Rexrode KM, Lee IM, Cook NR, Hennekens CH, Buring JE. Baseline characteristics of participants in the Women's health study. *J Womens Health Gend Based Med* 2000;9(1):19-27.

34. Van Breukelen-van der Stoep DF, van Zeben D, Klop B, van de Geijn GJ, Janssen HJ, van der Meulen N, et al. Marked underdiagnosis and undertreatment of hypertension and hypercholesterolaemia in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2016;55(7):1210-6.
35. Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol* 2011;11:98-107.
36. Zuliani G, Morieri ML, Volpato S, Maggio M, Cherubini A, Francesconi D, et al. Insulin resistance and systemic inflammation but not metabolic syndrome phenotype, predict 9 years mortality in older adults. *Atherosclerosis* 2014;235(2):538-45.
37. Ruscitti P, Ursini F, Cipriani P, Ciccia F, Liakouli V, Carubbi F, et al. Prevalence of type 2 diabetes and impaired fasting glucose in patients affected by rheumatoid arthritis: results from a cross-sectional study. *Medicine* 2017;96(34):e7896.
38. Ruscitti P, Ursini F, Cipriani P, Liakouli V, Carubbi F, Berardicurti O, et al. Poor clinical response in rheumatoid arthritis is the main risk factor for diabetes development in the short term: a 1-year, single center, longitudinal study. *PLoS One* 2017;12:e0181203.
39. Solomon DH, Massarotti E, Garg R, Liu J, Canning C, Schneeweiss S, et al. Association between disease-modifying antirheumatic drugs and diabetes risk in patients with rheumatoid arthritis and psoriasis. *JAMA* 2011;305(24):2525-31.
40. Stavropoulos-Kalinoglou A, Metsios GS, Panoulas VF, Nightingale P, Koutedakis Y, Kitas GD. Anti-tumour necrosis factor α therapy improves insulin sensitivity in normal-weight but not in obese patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2012;14(4):R160.
41. Adams KF, Schatzkin A, Harris TB, Kipnis V, Mouw T, Ballard-Barbash R, et al. Overweight, obesity and mortality in a large prospective cohort of persons 50 to 71 years old. *N Engl J Med* 2006;355(8):763-78.

42. Stavropoulos-Kalinoglou A, Metsios GS, Panoulas VF, Douglas KM, Nevill AM, Jamurtas AZ, et al. Associations of obesity with modifiable risk factors for the development of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*.2009;68(2):242-5.
43. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumour necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 1995;95(5):2409-15.
44. Carbone F, Bonaventura A, Liberale L, Paolino S, Torre F, Dallegri F, et al. Atherosclerosis in Rheumatoid Arthritis: Promoters and Opponents. *Clin Rev Allergy Immunol* 2018;58(1):1-14.
45. Metsios GS, Stavropoulos-Kalinoglou A, Panoulas VF, Wilson M, Nevill AM, Koutedakis Y, et al. Association of physical inactivity with increased cardiovascular risk in patients with rheumatoid arthritis. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2009;16(2):188-94.
46. Kremers HM, Nicola PJ, Crowson CS, Ballman KV, Gabriel SE. Prognostic importance of low body mass index in relation to cardiovascular mortality in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004;50(11):3450-7.
47. Roubenoff R, Roubenoff RA, Cannon JG, Kehayias JJ, Zhuang H, Dawson-Hughes B, et al. Rheumatoid cachexia: cytokine-driven hypermetabolism accompanying reduced body cell mass in chronic inflammation. *J Clin Invest* 1994;93(6):2379-86.
48. Nadkarni A, You M, Resuehr H, Curtis JR. The risk of cardiovascular events associated with hyperlipidemia among patients with and without rheumatoid arthritis. *J Arthritis* 2015;4(4):178.
49. Van Halm VP, Nielen MM, Nurmohamed MT, van Schaardenburg D, Reesink HW, Voskuyl AE, et al. Lipids and inflammation: serial measurements of the lipid profile of blood donors who later developed rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007;66(2):184-8.

50. Boffa MB, Koschinsky ML. Lipoprotein (a): truly a direct prothrombotic factor in cardiovascular disease? *J Lipid Res* 2016;57(5):745-57.
51. Zhang C, Li X, Niu D, Zi R, Wang C, Han A, et al. Increased serum levels of β 2-GPI-LP(a) complexes and their association with premature atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta* 2011;412(15-16):1332-6.
52. Choi HK, Seeger JD. Lipid profiles among US elderly with untreated rheumatoid arthritis – the third National Health and nutrition examination survey. *J Rheumatol* 2005;32(12):2311-6.
53. Semb AG, Kvien TK, Aastveit AH, Jungner I, Pedersen TR, Walldius G, et al. Lipids, myocardial infarction and ischaemic stroke in patients with rheumatoid arthritis in the apolipoprotein-related mortality RISk (AMORIS) study. *Ann Rheum Dis* 2010;69(11):1996-2001.
54. Liao KP, Diogo D, Cui J, Cai T, Okada Y, Gainer VS, et al. Association between low density lipoprotein and rheumatoid arthritis genetic factors with low density lipoprotein levels in rheumatoid arthritis and non-rheumatoid arthritis controls. *Ann Rheum Dis* 2014;73(6):1170-5.
55. Robertson J, Peters MJ, McInnes IB, Sattar N. Changes in lipid levels with inflammation and therapy in RA: maturing paradigm. *Nat Rev Rheumatol* 2013;9(9):513-23.
56. Navab M, Hama SY, Anantharamaiah GM, Hassan K, Hough GP, Watson Ad, et al. Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: steps 2 and 3. *J Lipid Res* 2000;41(9):1495-508.
57. Georgiadis AN, Papavasiliou EC, Lourida ES, Alamanos Y, Kostara C, Tselepis AD, et al. Atherogenic lipid profile is a feature characteristic of patients with early rheumatoid arthritis: effect of early treatment-a prospective, controlled study. *Arthritis Res Ther* 2006;8(3):R82.

58. Masdottir B, Jónsson T, Manfredsdottir V, Víkingsson A, Brekkan A, Valdimarsson H. Smoking, rheumatoid factor isotypes and severity of rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2000;65(11):366-71.
59. Linn-Rasker SP, van der Helm-van Mil AH, van Gaalen FA, Kloppenburg M, de Vries RR, le Cessie S, et al. Smoking is a risk factor for anti-CPP antibodies only in rheumatoid arthritis patients who carry HLA-DRB1 shared epitope alleles. *Ann Rheum Dis* 2006;65(3):366-71.
60. Saag KG, Cerhan JR, Kolluri S, Ohashi K, Hunninghake GW, Schwartz DA. Cigarette smoking and rheumatoid arthritis severity. *Ann Rheum Dis* 1997;56(8):463-9.
61. Matthey DL, Brownfield A, Dawes PT. Relationship between pack-year history of smoking and response to tumor necrosis factor antagonists in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2009;36(6):1180-7.
62. Crowson CS, Rollefstad S, Ikdahl E, Kitas GD, van Riel PLCM, Gabriel SE, et al. Impact of risk factors associated with cardiovascular outcomes in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2018;77(1):48-54.
63. England BR, Thiele GM, Anderson DR, Mikuls TR. Increased cardiovascular risk in rheumatoid arthritis: mechanism and implications. *BMJ* 2018;361:k1036.
64. Liby P. Role of inflammation in atherosclerosis associated with rheumatoid arthritis. *Am J Med* 2008;121(1):S21-S31.
65. Sattar N. Explaining how “high grade” systemic inflammation accelerates vascular risk in rheumatoid arthritis. *Circulation* 2003;108(24):2957-2963.
66. Skeoch S, Bruce IN. Atherosclerosis in rheumatoid arthritis: is it all about inflammation? *Nat Rev Rheumatol* 2015;11(7):390-400.
67. Ferguson LD, Siebert S, McInnes IB, Sattar N. Cardiometabolic comorbidities in RA and PsA: lessons learned and future directions. *Nat Rev Rheumatol* 2019;15(8):461-474.

68. Ahmed A, Hollan I, Curran SA, Kitson SM, Riggio MP, Mikkelsen K, et al. Brief Report: Proatherogenic Cytokine Microenvironment in the Aortic Adventitia of patients with Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol* 2016;68(6):1361-6.
69. Hot A, Lenief V, Miossec P. Combination of IL-17 and TNF α induces a pro-inflammatory, pro-coagulant and pro-thrombotic phenotype in human endothelial cells. *Ann Rheum Dis* 2012;71(5):786-76.
70. Sidibé A, Mannic T, Arboleas M, Subileau M, Gulino-Debrac D, Bouillet L, et al. Soluble VE-cadherin in rheumatoid arthritis patients correlates with disease activity: evidence for tumor necrosis factor α -induced VE-cadherin cleavage. *Arthritis Rheum* 2012;64(1):77-87.
71. González-Juanatey C, Llorca J, Testa A, Revuelta J, García-Porrúa C, González-Gay MA. Increased prevalence of severe subclinical atherosclerotic findings in long-term treated rheumatoid arthritis patients without clinically evident atherosclerotic disease. *Medicine (Baltimore)* 2003;82(6):407-413.
72. Karpouzas GA, Malpeso J, Choi TY, Ki D, Munoz S, Budoff MJ. Prevalence, extent and composition of coronary plaque in patients with rheumatoid arthritis without symptoms or prior diagnosis of coronary artery disease. *Ann Rheum Dis* 2014;73(10):1797-1804.
73. Del Rincón I, Polak JF, O'Leary DH, Battafarano D, Erikson JM, Restrepo JF, et al. Systemic inflammation and cardiovascular risk factors predict rapid progression of atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2015;74(6):1118-23.
74. Solomon DH, Reed GW, Kremer JM, Kurtis JR, Farkouh ME, Harrold LR, Hochberg MC, et al. Disease activity in rheumatoid arthritis and the risk of cardiovascular events. *Arthritis Rheumatol* 2015;67(6):1449-55.
75. Arts EE, Fransen J, den Broeder AA, Popa CD, van Riel PL. The effect of disease duration and disease activity on the risk of cardiovascular disease in rheumatoid arthritis patients. *Ann Rheum Dis* 2015;74(6):998-1003.

76. Midtbø H, Semb AG, Matre K, Kvien TK, Gerds E. Disease activity is associated with reduced left ventricular systolic myocardial function in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2017;76(2):371-6.
77. Giles JT, Post WS, Blumenthal RS, Polak J, Petri M, Gelber AC, et al. Longitudinal predictors of progression of carotid atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2011;63(11):3216-25.
78. Giles JT, Szklo M, Post W, Petri M, Blumenthal RS, Gelber AC, et al. Coronary arterial calcification in rheumatoid arthritis: comparison with the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Arthritis Res Ther* 2009;11(2):R36.
79. Harrison D, Griending KK, Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Role of oxidative stress in atherosclerosis. *Am J Cardiol* 2003;91(3):7-11.
80. Quiñonez-Flores CM, González-Chávez SA, Del Río Nájera D, Pacheco-Tena C. Oxidative Stress Relevance in the Pathogenesis of the Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review. *Biomed Res Int* 2016;2016:6097417.10.1155/2016/6097417.
81. Ikonomodis I, Tzortzis S, Lekakis J, Paraskevaidis I, Andreadou I, Nikolaou M, et al. Lowering interleukin-1 activity with anakinra improves myocardial deformation in rheumatoid arthritis. *Heart* 2009;95(18):1502-7.
82. Vivekanandan-Giri A, Slocum JL, Byun J, Tang C, Sands RL, Gillespie BW, et al. High density lipoprotein is targeted for oxidation by myeloperoxidase in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2013;72(10):1725-31.
83. De Groot L, Hinkema H, Westra J, Smit AJ, Kallenberg CG, Bijl M, et al. Advanced glycation endproducts are increased in rheumatoid arthritis patients with controlled disease. *Arthritis Res Ther* 2011;13(6): R205.
84. Blum A, Adawi M. Rheumatoid arthritis (RA) and cardiovascular disease 2019;18(7):679-690.
85. Adawi M, Watad A, Bragazzi NI, Amital H, Saaida G, Sirchan R, et al. Endothelial function in rheumatoid arthritis. *QJM* 2018;111(4):243-7.

86. Adawi M, Pastukh N, Saaida G, Sirchan R, Watad A, Blum A. Inhibition of endothelial progenitor cells may explain the high cardiovascular event rate in patients with rheumatoid arthritis. *QJM* 2018;111(8):525-9.
87. Södergren A, Karp K, Boman K, Eriksson C, Lundström E, Smedby T, et al. Atherosclerosis in early rheumatoid arthritis: very early endothelial activation and rapid progression of intima media thickness. *Arthritis Res Ther* 2010;12(4):R158.
88. Hill JM, Zalos G, Halcox JPJ, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, et al. Circulating endothelial progenitor cells , vascular function, and cardiovascular risk. *NEJM* 2003;348(7):593-600.
89. Gupta S, Kaplan MJ. The role of neutrophils and NETosis in autoimmune and renal diseases. *Nat Rev Nephrol* 2016;12(7):402-413.
90. Puga I, Cols M, Barra CM, He B, Cassis L, Gentile M, Comerma L, et al. B cell-helper neutrophils stimulate the diversification and production of immunoglobulin in the marginal zone of the spleen. *Nat Immunol* 2011;13(2):170-180.
91. Sangaletti S, Tripodo C, Chidoni C, Guarnotta C, Cappetti B, Casalini P, Piconese S, et al. Neutrophil extracellular traps mediate transfer of cytoplasmatic neutrophil antigens to myeloid dendritic cells toward ANCA induction and associated autoimmunity. *Blood* 2012;120(15):3007-3018.
92. Bonaventura A, Liberale L, Carbone F, Vecchie A, Diaz-Canestro C, Camici GG, Montecucco F, et al. The pathophysiological role of neutrophil extracellular traps in inflammatory diseases. *Thromb Haemost* 2018;118(1):6-27.
93. Qi H, Yang S, Zhang L. Neutrophil extracellular traps and endothelial dysfunction in atherosclerosis and thrombosis. *Front Immunol* 2017;8:928.
94. Palmai-Pallag T, Bachrati CZ. Inflammation-induced DNA damage and damage-induced inflammation: a vicious cycle. *Microbes Infect* 2014;16(10):822-832.

95. Sobhy IS, Miyake A, Shinya T, Galis I. Oral secretions affect HIPVs induced by generalist (*Mythimna loreyi*) and specialist (*Parnara guttata*) herbivores in Rice. *J Chem Ecol* 2017;43(9):929-943.
96. Zhang Y, Guan L, Yu Z, Zhao Z, Mao L, Li S, Zhao J. Pulmonary endothelial activation caused by extracellular histones contributes to neutrophil activation in acute respiratory distress syndrome. *Respir Res* 2016;17(1):155.
97. Stakos DA, Kambas K, Konstantinidis T, Mitroulis I, Apostolidou E, Arelaki S, Tsironidou V, et al. Expression of functional tissue factor by neutrophil extracellular traps in culprit artery of acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 2015;36(22):1405-1414.
98. Knight JS, Luo W, O'Dell AA, Yalavarthi S, Zhao W, Subramanian V, Guo C, et al. Peptidylarginine deiminase inhibition reduces vascular damage and modulates innate immune responses in murine models of atherosclerosis. *Circ Res* 2014;114(6):947-956.
99. Perez-Sanchez C, Ruiz-Limon P, Aguirre MA, Jimenez-Gomez Y, de la Rosa Arias I, Abalos-Aguilera MC, Rodriguez-Ariza A, et al. Diagnostic potential of NETosis-derived products for disease activity, atherosclerosis and therapeutic effectiveness in rheumatoid arthritis patients. *J Autoimmun* 2017;82:31-40.
100. Ruiz-Limon P, Ortega R, de la Rosa Arias I, Abalos-Aguilera MDC, Perez-Sanchez C, Jimenez-Gomez Y, Peralbo-Santaella E, et al. Tocilizumab improves the proatherothrombotic profile of rheumatoid arthritis patients modulating endothelial dysfunction, NETosis, and inflammation. *Transl Res* 2017;183:87-103.
101. Lopez-Mejias R, Castaneda S, Gonzalez-Juanatey C, Corrales A, Ferraz-Amaro I, Genre F, Remuzgo-Martinez S, et al. Cardiovascular risk assessment in patients with rheumatoid arthritis: the relevance of clinical, genetic and serological markers. *Autoimmun Rev* 2016;15(11):1013-1030.

102. Farragher TM, Goodson NJ, Nassem H, Silman AJ, Thomson W, Symmons D, Barton A. Association of the HLA-DRB1 gene with premature death, particularly from cardiovascular disease, in patients with rheumatoid arthritis and inflammatory polyarthritis. *Arthritis Rheum* 2008;58(2):359-369.
103. Rodriguez-Rodriguez L, Gonzalez-Juanatey C, Palomino-Morales R, Vazquez-Rodriguez TR, Miranda-Filloo JA, Fernandez-Gutierrez B, Llorca J, et al. TNFA – 308(rs1800629) polymorphism is associated with a higher risk of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis* 2011;216(1):125-130.
104. Vallvé JC, Paredes S, Girona J, Uliaque K, Ribalta J, Hurt-Camejo E, Masana L. Tumor necrosis factor-alpha – 1031 T/C polymorphism is associated with smaller and more proatherogenic low density lipoprotein particles in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2008;35(9):1697-1703.
105. López-Mejías R, Genre F, Remuzgo-Martinez S, Robustillo-Villarino M, Garcia-Bermudez M, Llorca J, et al. Protective role of the IL-33 rs3939286 gene polymorphism in the development of subclinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis patients. *PLoS One* 2015;10:e0143153.
106. Garcia-Bermudez M, Gonzalez-Juanatey C, Rodriguez-Rodriguez L, Vazquez-Rodriguez TR, Miranda-Filloo JA, Fernandez-Gutierrez B, et al. Lack of association between LEP rs2167270 (19 G>A) polymorphism and disease susceptibility and cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2011;29(2):293-298.
107. Rodriguez-Rodriguez L, Garcia-Bermudez M, Gonzalez-Juanatey C, Vazquez-Rodriguez TR, Miranda-Filloo JA, Fernandez-Gutierrez B, et al. Lack of association between ADIPOQ rs266729 and ADIPOQ rs1501299 polymorphisms and cardiovascular disease in rheumatoid arthritis patients. *Tissue Antigens*. 2011;77(1):74-78.

108. Terasaka N, Wang N, Charvet LY, Tall AR. High density lipoprotein protects macrophages from oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis by promoting efflux of 7-ketocholesterol via ABCG1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104(38):15093-8.
109. Rosenson RS , Brewer HB, Davidson WS, Fayad ZA, Fuster V, Goldstein J, et al. Cholesterol efflux and atheroprotection: advancing the concept of reverse cholesterol transport. *Circulation* 2012;125(15):1905-19.
110. Bhatt A, Rohatgi A. HDL Cholesterol Efflux Capacity: Cardiovascular Risk Factor and Potential Therapeutic Target. *Curr Atheroscler Rep* 2016;18(1):2.
111. Tall AR, Yvan-Charvet L, Terasaka N, Pagler T, Wang N. HDL, ABC transporters, and cholesterol efflux: implications for the treatment of atherosclerosis. *Cell Metab* 2008;7(5):365-75.
112. Out R, Hoekstra M, Habets K, Meurs I, de Waard V, Hildebrand RB, et al. Combined deletion of macrophage ABCA1 and ABCG1 leads to massive lipid accumulation in tissue macrophages and distinct atherosclerosis at relatively low plasma cholesterol levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28(2):258-64.
113. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey CN, Blum CB, Eckel RH, et al. 2013 ACC/AH Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2014;129(25): Suppl 2:S46-S48.
114. Boden WE, Probstfield JL, Anderson T, Chaitman BR, Desvignes-Nickens P, Koprowicz K, et al. Niacin in patients with low HDL cholesterol levels receiving intensive statin therapy. *N Eng J Med* 2011;365(24):2255-67.
115. Barter PJ, Caulfield M, Eriksson M, Grundy SM, Kastelein JPJ, Komajda M, et al. Effects of torcetrapib in patients at high risk for coronary events. *N Engl J Med* 2007;357(21):2109-22.

116. Schwartz GG, Olsson AG, Abt M, Ballantyne CM, Barter PJ, Brumm J, et al. Effects of dalcetrapib in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med* 2012;367(22):2089-99.
117. Landray MJ, Haynes R, Hopewell JC, Parish S, Aung T, Tomson J, et al. The HPS2-THRIVE Collaborative Group. Effects of extended-release niacin with laropirant in high-risk patients. *N Engl J Med* 2014;371(3):203-12.
118. Voight BF, Peloso GM, Orho-Melander M, Frikke-Schmidt R, Barbalic M, Jensen MK, et al. Plasma HDL cholesterol and risk of myocardial infarction: a mendelian randomization study. *Lancet* 2012;380(9841):572-80.
119. deGoma EM, deGoma RL, Rader DJ. Beyond high-density lipoprotein cholesterol levels evaluating high-density lipoprotein function as influenced by novel therapeutic approaches. *J Am Coll Cardiol* 2008;51(23):2199-211.
120. Rader DJ, Alexander ET, Weibel GL, Billheimer J, Rothblat GH. The role of reverse cholesterol transport in animals and humans and relationship to atherosclerosis. *J Lipid Res* 2009;50 Suppl:S189-S194.
121. Fisher EA, Feig JE, Hewing B, Hazen SL, Smith DJ. High-density lipoprotein function, dysfunction and reverse cholesterol transport. *Arterios, Thromb Vasc Biol* 2012;32(12):2813-2820.
122. Favari E, Calebresi L, Adorni MP, Jessup W, Simonelli S, Franceschini G, et al. Small discoidal pre-beta 1 HDL particles are efficient acceptors of cell cholesterol via ABCG1. *Biochemistry* 2009;48(46):11067-74.
123. Favari E, Ronda N, Adorni M, Zimetti F, Salvi P, Manfredini M, et al. ABCA1-dependent serum cholesterol efflux capacity inversely correlates with pulse wave velocity in healthy subjects. *J Lipid Res* 2013;54(1):238-43.
124. Prosser HC, Ng MK, Bursill CA. The role of cholesterol efflux in mechanism of endothelial protection by HDL. *Curr Opin Lipidol* 2012;23(3): 182-9.
125. Ye D, Lammers B, Zhao Y, Meurs I, Van Berkel TJ, Van Eck M. ATP-binding cassette transporters A1 and G1, HDL metabolism, cholesterol efflux, and

- inflammation: important targets for the treatment of atherosclerosis. *Curr Drug Targets* 2011;12(5):647-60.
126. Rye KA, Barter PJ. Cardioprotective functions of HDLs. *J Lipid Res* 2014;55(2): 168-179.
127. Rohatgi A. High-density lipoprotein function measurement in human studies: focus on cholesterol efflux capacity. *Prog Cardiovasc Dis* 2015;58(1):32-40.
128. Bauer M, Caviezel S, Teynor A, Erbel R, Mahabadi AA, Schmidt-Trucksäss A. Carotid intima-media thickness as a biomarker of subclinical atherosclerosis. *Swiss Med Wkly* 2012;142:w-13705.
129. Taylor AJ, Bindeman J, Le TP, Bauer K, Byrd C, Feuerstein IM, et al. Progression of calcified coronary atherosclerosis: relationship to coronary risk factors and carotid-intima-media thickness. *Atherosclerosis* 2008;197(1):339-45.
130. Salahuddin T, Natarajan B, Playford MP, Joshi AA, Teague H, Masmoudi Y, et al. Cholesterol efflux capacity in humans with psoriasis is inversely related to non-calcified burden of coronary atherosclerosis. *Eur Heart J* 2015;36(39):2662-5.
131. Li XM, Tang WHW, Moisor MK, Huang Y, Wu Y, Matter W, et al. Paradoxical association of enhanced cholesterol efflux with increased incident cardiovascular risks. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013;33(7):696-705.
132. Saleheen D, Scott R, Javad S, Zhao W, Rodrigues A, Picataggi A, et al. Association of HDL cholesterol efflux capacity with incident coronary heart disease events: a prospective case-control study. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2015;3(7): 507-13.
133. Ronda N, Favari E, Borghi MO, Ingegnoli F, Gerosa M, Chighizola C, et al. Impaired serum cholesterol efflux capacity in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2014;73(3):609-615.
134. Symmons DP, Gabriel SE. Epidemiology of CVD in rheumatic disease, with a focus on RA and SLE. *Nat Rev Rheumatol* 2011;7(7):399-408.

135. Ormseth MJ, Stein MC. HDL function in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Lipidol* 2016;27(1):67-75.
136. Charles-Schoeman C, Lee YY, Grijalva V, Amjadi S, Fitzgerald J, Ranganath VK, et al. Cholesterol efflux by high density lipoproteins is impaired in patients with active rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2012;71(7):1157-1162.
137. Ronda N, Greco D, Adorni MP, Zimetti F, Favari E, Hjeltnes G, et al. Newly identified antiatherosclerotic activity of methotrexate and adalimumab: complementary effects on lipoprotein function and macrophage cholesterol metabolism. *Arthritis and Rheumatology* 2015;67(5):1155-1164.
138. Zarubica A, Trompier D, Chimini G. ABCA1, from pathology to membrane function. *Pflugers Arch* 2007;453(5):569-79.
139. Shao B, Bergt C, Fu X, Green P, Voss JC, Oda MN, et al. Tyrosine 192 in apolipoprotein A-I is the major site of nitration and chlorination by myeloperoxidase, but only chlorination markedly impairs ABCA1-dependent cholesterol transport. *J Biol Chem* 2005;280(7):5983-93.
140. Zheng L, Settle M, Brubaker G, Schmitt D, Hazel SL, Schmit JD, et al. Localization of nitration and chlorination sites on apolipoprotein A-I catalyzed by myeloperoxidase in human atheroma and associated oxidative impairment in ABCA1-dependent cholesterol efflux from macrophages. *J Biol Chem* 2005;280(1):38-47.
141. Goff DC, Lloyd-Jones DM, Bennett G, Coady S, D'Agostino RB, Gibbons R, et al. 2013 ACA/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2014;63(25): 2935-59.
142. D'Agostino RB, Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: The Framingham heart study. *Circulation* 2008;117(6):743-53.

143. Ridker PM, Buring JE, Rifai N, Cook NR. Development and validation of improved algorithms for the assessment of global cardiovascular risk in women: the Reynolds risk score. *JAMA* 2007;297(6):611-9.
144. Ridker PM, Paynter NP, Rifai N, Gaziano JM, Cook NR. C-reactive protein and parental history improve global cardiovascular risk prediction: the Reynolds Risk Score for men. *Circulation* 2008;118(22):2243-51.
145. Young LE. QRISK underestimated risk of cardiovascular disease in general practice patients; Framingham score overestimated risk. *Evid Based Nurs* 2008;11(3):91.
146. Arts EE, Popa C, Den Broeder AA, Semb AG, Toms T, Kitas GD, et al. Performance of four current risk algorithms in predicting cardiovascular events in patients with early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2015;74(4):668-74.
147. Solomon DH, Greenberg J, Curtis JR, Liu M, Farkouh ME, Tsao P, et al. Derivation and internal validation of an expanded cardiovascular risk prediction score for rheumatoid arthritis: a consortium of rheumatology researches of North America registry study. *Arthritis and Rheumatology* 2015;67(8):1995-2003.
148. Crowson CS, Gabriel SE, Semb AG, van Riel PLCM, Karpouzas G, Dessein PH, et al. Rheumatoid arthritis-specific cardiovascular risk scores are not superior to general risk scores: a validation analysis of patients from seven countries. *Rheumatology (Oxford)* 2017;56(7):1102-10.
149. Agca R, Heslinga SC, Rollefstad S, Heslinga M, McInnes IB, Peters MJ, et al. EULAR recommendations for cardiovascular disease risk management in patients with rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory joint disorders: 2015/2016 update. *Ann Rheum Dis* 2017;76(1):17-28.
150. Peters MJL, Voskuyl AE, Sattar N, Dijkmans BAC, Smulders YM, Normuhamed MT. The interplay between inflammation, lipids and cardiovascular risk in rheumatoid arthritis: why ratios may be better. *Int J Clin Pract* 2010;64(10):1440-3.

151. Toms TE, Panoulas VF, Douglas KMJ, Nightingale P, Smith JP, Griffiths H, et al. Are lipid ratios less susceptible to change with systemic inflammation than individual lipid components in patients with rheumatoid arthritis ?. *Angiology* 2011;62(2):167-75.
152. Kablak-Ziembicka A, Tracz W, Przewlocki T, Pieniazek P, Sokolowski A, Konieczynska M. Association of increased carotid intima-media thickness with the extent of coronary artery disease. *Heart* 2004;90(11):1286-90.
153. Polak JF, Pencina MJ, Meisner A, Pencina KM, Brown LS, Wolf PA, et al. Association of carotid artery intima-media thickness (IMT) with risk factors and prevalent cardiovascular disease. *J Ultrasound Med* 2010;29(12):1759-68.
154. Bots ML, Baldassarre D, Simon A, de Groot E, O'Leary DH, Riley W, et al. Carotid intima-media thickness and coronary atherosclerosis: weak or strong relations? *Eur Heart J* 2007;28(4):398-406.
155. Wang P, Guan S-Y, Xu S-Z, Li HM, Leng RX, Li XP, et al. Increased carotid-intima media thickness in rheumatoid arthritis: an update meta-analysis. *Clin Rheumatol* 2016;35(2):315-23.
156. van Sijl AM, Peters MJ, Knol DK, de Vet HC, González-Gay MA, Smulders YM, et al. Carotid intima media thickness in rheumatoid arthritis as compared to control subjects: a meta-analysis. *Semin Arthritis Rheum* 2011;40(5): 389-397.
157. González-Juanatey C, Llorca J, Martin J, González-Gay MA. Carotid intima-media thickness predicts the development of cardiovascular events in patients with rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 2009;38(5):366-371.
158. Romano S, Salustri E, Ruscitti P, Carubbi F, Penco M, Giacomelli R. Cardiovascular and Metabolic Comorbidities in rheumatoid arthritis. *Curr Rheumatol Rep* 2018;20(12):81.
159. Corrales A, González-Juanatey C, Peiró ME, Blanco R, Llorca J, González-Gay MA. et al. Carotid Ultrasound is useful for the cardiovascular risk stratification

- of patients with rheumatoid arthritis: results of a population-based study. *Ann Rheum Dis* 2014;73(4):722-7.
160. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in clinical practice (Constituted by representatives of 10 Societies and Invited experts): Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular prevention and Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J* 2016;37(29):2315-8.
161. Khanna NN, Jamthikar AD, Gupta D, Piga M, Saba L, Carcassi C, et al. Rheumatoid Arthritis: Atherosclerosis Imaging and Cardiovascular Risk Assessment Using Machine and Deep Learning-based Tissue Characterization. *Curr Atheros Rep* 2019;21(2):7.
162. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, et al. 2010 Rheumatoid Arthritis Classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatology Collaborative Initiative. *Arthritis Rheum* 2010;62(9):2569-81.
163. Hernández JL, Olmos JM, Pariente E, Martínez J, Valero C, García-Velasco P, et al. Metabolic syndrome and bone metabolism: the Camargo cohort study. *Menopause* 2010;17(5):955-61.
164. Olmos JM, Hernández JL, Martínez J, Castillo J, Valero C, Pérez-Pajares I, et al. Bone turnover markers and bone mineral density in hypertensive postmenopausal women on treatment. *Maturitas* 2010;65(4):396-402.
165. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18(6):499-502.

166. McKee PA, Castelli WP, McNamara PM, Kannel WB. The natural history of congestive heart failure: The Framingham Study. *N Engl J Med* 1971;285(26):1441-6.
167. Aleha D, Ward MM, Machold KP, Nell VP, Stamm T, Smolen JS. Remission and active disease in rheumatoid arthritis: defining criteria for disease activity states. *Arthritis Rheum* 2005;52(9):2625-36.
168. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, et al. Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004-2006): an update on behalf of the Advisory Board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium, 13th and 15th European Stroke Conferences. Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. *Cerebrovasc Dis* 2007;23(1):75-80.
169. McMahon M, Grossman J, FitzGerald J, Wallace DJ, Thong BY, Badsha H, et al. Proinflammatory high-density lipoprotein as a biomarker for atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006;54(8):2541-9.
170. Mehta NN, Li R, Krishnamoorthy P, Yu Y, Farver W, Rodrigues A, Raper A, et al. Abnormal lipoprotein particles and cholesterol efflux capacity in patients with psoriasis. *Atherosclerosis* 2012;224(1):218-221.
171. Liao KP, Playford MP, Frits M, Coblyn JS, Iannaccone C, Weinblatt ME, et al. The association between reduction in inflammation and changes in lipoprotein levels and HDL cholesterol efflux capacity in rheumatoid arthritis. *J Am Heart Assoc* 2015;4(2).
172. Pope JE, Nevskaya T, Barra L, Parraga G. Carotid artery atherosclerosis in patients with active rheumatoid arthritis: predictors of plaque occurrence and progression over 24 weeks. *Open Rheumatol J* 2016;10:49-59.
173. Goodson NJ, Symmons DP, Scott DG, Bunn D, Lunt M, Silman AJ. Baseline levels of C-reactive protein and prediction of death polyarthritis: a ten-year

- follow-up study of a primary care-based inception cohort. *Arthritis Rheum* 2005;32(7):2293-9.
174. González-Gay MA, González-Juanatey C, Piñeiro A, García-Porrúa A, Testa A, Llorca J. High-grade-C-reactive protein elevation correlates with accelerated atherogenesis in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2005;32(7):1219-23.
175. Ormseth MJ, Yancey PG, Solus JF, Louis Bridges Jr S, Curtis JR, Linton MF, et al. Effect of drug therapy on net cholesterol efflux capacity of high-density lipoprotein-enriched serum in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol* 2016;68(9):2099-105.
176. Rho YH, Chung CP, Oeser A, Solus JF, Gebretsadik T, Shintani A, et al. Interaction between oxidative stress and high-density lipoprotein cholesterol is associated with severity of coronary artery calcification in rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res* 2010;62(10):1473-1480.
177. Rho YH, Chung CP, Oeser A, Solus JF, Gebretsadik T, Shintani A, et al. Interaction between oxidative stress and high-density lipoprotein cholesterol is associated with severity of coronary artery calcification in rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res* 2010;62(10):1473-1480.
178. Lindhardsen J, Gislason GH, Jacobsen S, Ahlehoff O, Schjerning Olsen AM, Rintek Madsen O, et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: a nationwide cohort study. *Ann Rheum Dis* 2014;73(8):1515-1521.
179. Roubille C, Richer V, Starnino T, McCourt C, McFarlane A, Fleming P, et al. The effects of tumour necrosis factor inhibitors, methotrexate, non-steroidal anti-inflammatory drugs and corticosteroids on cardiovascular events in rheumatoid arthritis, psoriasis and psoriatic arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis* 2015;74(3):480-9.

180. Aviña-Zubieta JA, Abrahamowicz M, De Vera MA, Choi HK, Sayre EC, Rahman MM, et al. Immediate and past cumulative effects of oral glucocorticoids on the risk of acute myocardial infarction in rheumatoid arthritis: a population-based study. *Rheumatology (Oxford)* 2013;52(1):68-75.
181. Ferraz-Amaro I, González-Gay MA, García-Dopico JA, Díaz-González F. Cholesteryl ester transfer protein in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2013;40(7):1040-7.
182. Tomasson G, Aspelund T, Jonsson T, Valdimarsson H, Felson DT, Gudnason V. Effect of rheumatoid factor on mortality and coronary heart disease. *Ann Rheum Dis* 2010;69(9):1649-54.
183. Majka DS, Vu THT, Pope RM, Teodorescu M, Karlson EW, Liu K, et al. Association of Rheumatoid Factors with subclinical and clinical atherosclerosis in African American Women: The Multiethnic Study of Atherosclerosis. *Arthritis Care Res* 2017;69(2): 166-174.
184. López-Longo FJ, Oliver-Miñaro D, de la Torre I, González-Díaz de Rábago E, Sánchez-Ramón S, et al. Association between anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and ischemic heart disease in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009;61(4):419-24.
185. Sokolove J, Brennan MJ, Sharpe O, Lahey LJ, Kao AH, Krishnan E, et al. Brief Report: citrullination within the atherosclerotic plaque: a potential target for the anti-citrullinated protein antibody response in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2013;65(7):1719-24.
186. Hejblum BP, Cui J, Lahey LJ, Cagan A, Sparks JA, Sokolove J, et al. Association between Anti-citrullinated fibrinogen antibodies and coronary artery disease in rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res*;70(7):1113-1117.
187. Annema W, Dijkers A, de Boer JF, van Greenvenbroek MM, van der Kallen CJ, Schalkwijk CG, et al. Impaired HDL cholesterol efflux in metabolic syndrome

- is unrelated to glucose tolerance status: the CODAM study. *Sci Rep* 2016;6:27367.
188. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM Jr, Kastelein JJ, et al. JUPITER Study Group. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med*. 2008; 359:2195–2207.
189. Khera AV, Demler OV, Adelman SJ, Collins HL, Glynn RJ, Ridker PM, et al. Cholesterol Efflux Capacity, HDL Particle Number, and Incident Cardiovascular Events: An Analysis From the JUPITER Trial (Justification for the Use of Statins in Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin). *Circulation* 2017; 135 (25): 2494-2504.
190. Hackshaw A, Morris JK, Boniface S, Tang J-L, Milenković D. Low cigarette consumption and risk of coronary heart disease and stroke: a meta-analysis of 141 cohort studies in 55 study reports. *BMJ*;360:J5855.
191. Nacvi TZ, Lee MS. Carotid intima-media thickness and plaque in cardiovascular risk assessment. *JACC Cardiovasc Imaging* 2014;7(10):1025-38.
192. Dessein PH, Semb AG. Could cardiovascular disease risk stratification and management in rheumatoid arthritis be enhanced? *Ann Rheum Dis* 2013;72(11):743-6.

Anexos

12. Anexos

12.1. Relación de figuras

Figura 1. Papel de las adipocinas en la inflamación y el RCV en la AR

Figura 2. Resumen de los mecanismos implicados en el desarrollo de RCV en la AR

Figura 3. Factores implicados en la relación entre la inflamación sistémica y el RCV en la AR

Figura 4. Mecanismo del flujo reverso de colesterol

Figura 5. Ecografía carotídea de la arteria carótida común de un paciente control

Figura 6. Diagrama de cajas que evalúa la CEC y su relación con el cIMT y la placa carotídea

12.2. Relación de tablas

Tabla 1. Variables demográficas y clínicas incluidas en el cuestionario

Tabla 2. Valores de la normalidad de parámetros recogidos en bioquímica general

Tabla 3. Características de los pacientes con artritis reumatoide y los controles

Tabla 4. Relación univariante de los factores de riesgo cardiovascular tradicionales y artritis reumatoide con la capacidad aceptora del colesterol del HDL en controles y pacientes con AR

Tabla 5. Relación univariante de las características de los pacientes con AR y el cIMT y la presencia de placa carotídea

Tabla 6. Capacidad aceptora del colesterol y su relación con el cIMT y la placa carotídea


12.3. Artículo publicado en la revista indexada *Arthritis Research & Therapy*

RESEARCH ARTICLE

Open Access



HDL cholesterol efflux capacity in rheumatoid arthritis patients: contributing factors and relationship with subclinical atherosclerosis

Beatriz Tejera-Segura¹, María Macía-Díaz¹, José David Machado², Antonia de Vera-González³, Jose A. García-Dopico³, José M. Olmos⁴, José L. Hernández⁴, Federico Díaz-González^{1,5}, Miguel A. González-Gay^{6,7,8†} and Iván Ferraz-Amaro^{1*†} 

Abstract

Background: Lipid profiles appear to be altered in rheumatoid arthritis (RA) patients because of disease activity and inflammation. Cholesterol efflux capacity (CEC), which is the ability of high-density lipoprotein cholesterol to accept cholesterol from macrophages, has been linked not only to cardiovascular events in the general population but also to being impaired in patients with RA. The aim of this study was to establish whether CEC is related to subclinical carotid atherosclerosis in patients with RA.

Methods: We conducted a cross-sectional study that encompassed 401 individuals, including 178 patients with RA and 223 sex-matched control subjects. CEC, using an in vitro assay, lipoprotein serum concentrations, and standard lipid profile, was assessed in patients and control subjects. Carotid intima-media thickness (CIMT) and carotid plaques were assessed in patients with RA. A multivariable analysis was performed to evaluate the relationship of CEC with RA-related data, lipid profile, and subclinical carotid atherosclerosis.

Results: Mean (SD) CEC was not significantly different between patients with RA ($18.9 \pm 9.0\%$) and control subjects ($16.9 \pm 10.4\%$) ($p = 0.11$). Patients with RA with low (β coefficient -5.2 [-10.0 to 0.3], $p = 0.039$) and moderate disease activity (β coefficient -4.6 [-8.5 to 0.7], $p = 0.020$) were associated with lower levels of CEC than patients in remission. Although no association with CIMT was found, higher CEC was independently associated with a lower risk for the presence of carotid plaque in patients with RA (odds ratio 0.94 [95% CI 0.89 – 0.98], $p = 0.015$).

Conclusions: CEC is independently associated with carotid plaque in patients with RA.

Keywords: Rheumatoid arthritis, Cholesterol efflux capacity, Carotid intima-media thickness, Cardiovascular disease

Background

Patients with rheumatoid arthritis (RA) have higher rates of morbidity and mortality than the general population, which has been widely attributed to these patients' increased risk of cardiovascular disease [1]. Besides a genetic component and the influence of traditional cardiovascular risk factors [2], chronic inflammation seems to play a

pivotal role in the process of accelerated atherogenesis observed in RA [3]. Several studies support the notion that RA leads to a more atherogenic lipid profile, which correlates with disease activity and improves after treatment with antirheumatic medications [4]. Paradoxically, these lipid changes generally account for a decrease in total cholesterol and low-density lipoprotein (LDL) cholesterol [5, 6]. The exact mechanism that leads to this paradoxical lipid profile in patients with RA and the implications regarding cardiovascular risk are still being studied.

High-density lipoprotein (HDL) cholesterol efflux capacity (CEC), which is the ability of HDL to accept

* Correspondence: iferrazamaro@hotmail.com

†Equal contributors

¹Division of Rheumatology, Hospital Universitario de Canarias, 38320 Santa Cruz de Tenerife, Spain

Full list of author information is available at the end of the article

cholesterol from macrophages, is a key step in reverse cholesterol transport. It has been shown to be inversely associated, independent of HDL cholesterol levels, with both carotid intima-media thickness (CIMT) and the likelihood of angiographic coronary artery disease [7], as well as with a higher incidence of cardiovascular events, in population-based cohorts [8]. It is known that CEC is impaired in patients with RA and that this correlates with systemic inflammation and HDL's antioxidant capacity [9, 10]. However, the implications of this impaired CEC in the development of subclinical atherosclerosis in patients with RA have not yet been studied.

The aim of this study was to analyze whether CEC is related to subclinical atherosclerosis as determined by the presence of carotid plaque or increased levels of CIMT in patients with RA. Secondly, we aimed to describe the disease-contributing factors that are related to CEC as an expression of the abnormalities in the lipid profile associated with the disease. If CEC is related to subclinical atherosclerosis in patients with RA, this effect would shed light on the complex connections between inflammation, lipid abnormalities, and subclinical atherosclerosis in RA.

Methods

Study participants

This was a cross-sectional study that included 401 individuals, 223 patients with RA, and 178 sex-matched control subjects. All patients with RA were 18 years old or older and fulfilled the 2010 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism diagnostic criteria for RA [11]. They had been diagnosed by rheumatologists and were periodically followed at rheumatology outpatient clinics. For the purpose of inclusion in the present study, RA disease duration was required to be ≥ 1 year. Although anti-tumor necrosis factor- α (anti-TNF- α) treatment has been associated with changes in lipid profiles [12], patients with RA undergoing TNF- α antagonist or other biologic therapies were not excluded from the present study. The control group consisted of patients recruited from the Spanish Camargo Cohort Study [13, 14]. This cohort was set up between February 2006 and February 2011, and individuals included in this cohort have been followed ever since. The original aim of using this cohort was to evaluate the prevalence and incidence of metabolic bone diseases and mineral metabolism disorders. Control subjects included in the present study were sex-matched subjects without any known condition or drug treatment history that could influence lipids and who were not taking any lipid-lowering medications other than statins. None of the control subjects were receiving glucocorticoids. However, because prednisone is often used in the management of RA, patients taking prednisone or an

equivalent dose ≤ 10 mg/day were not excluded. As previously mentioned, both patients and control subjects receiving statin treatment were allowed to participate in the study. Patients and control subjects were excluded if they had a history of myocardial infarction, angina, stroke, a glomerular filtration rate < 60 ml/minute/ 1.73 m², a history of cancer or any other chronic disease, or evidence of active infection. The study protocol was approved by the institutional review committees at Hospital Universitario de Canarias and Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (both in Spain), and all subjects provided written informed consent.

Data collection

The subjects, both control subjects and patients, completed a cardiovascular risk factor and medication use questionnaire and underwent a physical examination. Weight, height, body mass index, waist-to-hip ratio, and systolic and diastolic blood pressure (measured with the participant in a supine position) were assessed under standardized conditions. Information regarding smoking status (current smoker versus nonsmoker), diabetes, and hypertension was obtained from the questionnaire. Medical records were reviewed to ascertain specific diagnoses and medications. Dyslipidemia was defined as present if one of the following was measured: total cholesterol > 200 mg/dl, triglycerides > 150 mg/dl, HDL cholesterol < 40 in men or < 50 mg/dl in women, or LDL cholesterol > 130 mg/dl. Disease activity in patients with RA was measured using the Disease Activity Score in 28 joints (DAS28) [15], the Clinical Disease Activity Index (CDAI) [16], and the Simplified Disease Activity Index [17]. Patients with RA were defined as being in clinical remission (DAS28 < 2.6) or having low (DAS28 in the range of 2.6–3.2), moderate (DAS28 > 3.2 –5.1), or high (DAS28 > 5.1) disease activity as previously described [18].

Lipids and cholesterol efflux assessments

Fasting serum samples were collected and frozen at -80 °C until analysis of circulating lipids. Cholesterol, triglycerides, and HDL cholesterol were measured using an enzymatic colorimetric assay (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, USA). Cholesterol levels ranged from 0.08 to 20.7 mmol/L (intra-assay coefficient of variation 0.3%); triglyceride levels ranged from 4 to 1.000 mg/dl (intra-assay coefficient of variation 1.8%); and HDL cholesterol levels ranged from 3 to 120 mg/dl (intra-assay variation coefficient 0.9%). LDL cholesterol was calculated using the Friedewald formula [19]. A standard technique was used to measure the erythrocyte sedimentation rate (ESR) and high-sensitivity C-reactive protein (CRP) level.

Macrophage-specific CEC was measured using boron-dipyrromethene (BODIPY) cholesterol as previously

described [8]. Briefly, J774 macrophages were seeded into a 96-well plate at 7×10^4 cells per well. The following day, the cells were incubated for 1 h with BODIPY-tagged cholesterol (25 μ M; Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL, USA), 0.2% bovine serum albumin (BSA), and 2 μ g/ml acetyl-coenzyme A acetyltransferase (ACAT) inhibitor (Sandoz; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) in RPMI 1640 medium plus 1% FBS. Following a washing step with minimal essential medium (MEM)-HEPES, cells were incubated overnight in serum-free RPMI 1640 medium containing 0.3 mM cyclic adenosine monophosphate (cAMP), 0.2% BSA, and 2 μ g/ml ACAT inhibitor. Apolipoprotein B-depleted study subject plasma was prepared using polyethylene glycol precipitation. After a washing step with MEM-HEPES, the BODIPY cholesterol-labeled cells were incubated with 2.8% apolipoprotein B-depleted plasma in MEM-HEPES buffer, 0.15 mM cAMP, and 2 μ g/ml ACAT inhibitor for 4 h at 37 °C. The resulting quantity of BODIPY cholesterol in the media was measured directly using a spectrofluorometric plate reader (Tecan Trading AG, Männedorf, Switzerland) with an excitation wavelength of 485 nm and emission detection at 530 nm. The CEC was calculated as the amount of BODIPY cholesterol efflux expressed as a fraction of the initial cell content of BODIPY cholesterol. Each assay was performed in triplicate, and when the percentage of variation of every sample was >7%, the sample was reassessed.

Carotid ultrasound assessment

A carotid ultrasound examination was used to assess CIMT in the common carotid arterial wall and to detect focal plaques in the extracranial carotid tree in patients with RA. A commercially available scanner, the MyLab 70 (Esaote, Genoa, Italy), equipped with a 7- to 12-MHz linear transducer and using an automated software-guided radiofrequency technique called *quality intima-media thickness in real time* was used for this purpose. As previously reported [20], on the basis of the Mannheim consensus, plaque criteria in the accessible extracranial carotid tree (common carotid artery, bulb, and internal carotid artery) were defined as follows: a focal protrusion in the lumen measuring CIMT ≥ 1.5 mm, a protrusion $\geq 50\%$ greater than the surrounding CIMT, or arterial lumen encroaching >0.5 mm [21].

Statistical analysis

In terms of study power, we found a correlation between HDL cholesterol and CIMT ($r = -0.161$, $p = 0.034$). We expected to find a similar relation between CEC and CIMT. To achieve power of 80% to detect differences in the contrast of the null hypothesis, based on assuming a significance bilateral level of 0.05 and by means of analysis of variance in the context of a multiple linear regression model with an expected final determination

coefficient of 0.05, it was necessary to include 152 subjects in the study. Demographic and clinical characteristics shown in Table 1 were compared between patients with RA and control subjects using χ^2 tests for categorical variables or Student's t test for continuous variables (data expressed as mean \pm SD). For noncontinuous variables, either the Mann-Whitney U test was performed or a logarithmic transformation was performed, and data are expressed as median and IQR. Univariate linear and logistic regression analyses were performed to establish the relationship of demographics, traditional cardiovascular risk factors, lipid profiles, RA-related data, and CEC with both CIMT and the presence of carotid plaque. The relation of CEC with carotid assessments was determined through multivariate linear and logistic regression analysis, adjusting for confounding factors. For the purpose of this study, confounding variables were those with a statistical p value <0.20 in the association analysis vis-à-vis both carotid assessment and CEC. For all analyses, we used a 5% two-sided significance level, and all analyses were performed using IBM SPSS Statistics version 21 software (IBM, Armonk, NY, USA) and Stata version 13/SE software (StataCorp, College Station, TX, USA). A p value <0.05 was considered statistically significant.

Results

Demographic, laboratory, and disease-related data

A total of 401 sex-matched participants, 178 patients with RA, and 223 control subjects were included in this study. Demographic and disease-related characteristics of the participants are shown in Table 1. There were no differences between patients and control subjects with regard to body mass index. However, abdominal circumference and the presence of hypertension, dyslipidemia, or diabetes were more common in patients with RA. Similarly, statin intake was more frequently observed in patients with RA than in control subjects (34% versus 10%, $p = 0.000$). Patients with RA had moderately active disease, as shown by the mean DAS28 (3.74 ± 1.19). More than one-third (35%) were taking prednisone (median dose of the 62 patients on prednisone was 5 [IQR 3–6] mg/day at the time of the study). As expected, ESR values were statistically significantly higher in patients than in control subjects. One hundred nineteen (67%) patients had positive test results for rheumatoid factor, 153 (86%) were taking disease-modifying antirheumatic drugs, and 23 (13%) were receiving anti-TNF- α therapy.

The mean CEC of HDL was not significantly different between patients with RA ($18.9 \pm 9.0\%$) and control subjects ($16.9 \pm 10.4\%$) ($p = 0.11$). This difference remained nonsignificant after adjusting for HDL cholesterol levels, age, sex, and statin use (data not shown).

Table 1 Characteristics of patients with rheumatoid arthritis and control subjects

	Control subjects (n = 223)	Patients with RA (n = 178)	<i>p</i> Value
Age, years	59 ± 9	55 ± 11	<i>0.000</i>
Female sex, <i>n</i> (%)	155 (70)	140 (79)	0.063
Body mass index, kg/m ²	28 ± 5	28 ± 5	0.74
Abdominal circumference, cm	93 ± 14	97 ± 13	<i>0.006</i>
Systolic blood pressure, mmHg	133 ± 15	137 ± 19	<i>0.018</i>
Diastolic blood pressure, mmHg	82 ± 10	83 ± 12	0.36
Cardiovascular comorbidity			
Smoking, <i>n</i> (%)	45 (20)	29 (16)	0.29
Diabetes, <i>n</i> (%)	10 (4)	27 (15)	<i>0.000</i>
Hypertension, <i>n</i> (%)	64 (29)	62 (35)	0.22
Dyslipidemia, <i>n</i> (%)	41 (18)	71 (40)	<i>0.000</i>
Antihypertensive treatment, <i>n</i> (%)	38 (17)	63 (35)	<i>0.000</i>
Statins, <i>n</i> (%)	22 (10)	60 (34)	<i>0.000</i>
Hormone replacement therapy, <i>n</i> (%)	7 (3)	0 (0)	<i>0.018</i>
Laboratory examinations, including lipid profile			
ESR, mm/h	10 ± 8	35 ± 22	<i>0.000</i>
CRP, mg/dl	1.0 (1.0–3.0)	3.3 (1.6–6.1)	0.34
Cholesterol, mg/dl	218 ± 39	206 ± 37	<i>0.001</i>
Triglycerides, mg/dl	105 ± 52	151 ± 92	<i>0.000</i>
HDL cholesterol, mg/dl	63 ± 17	56 ± 16	<i>0.000</i>
LDL cholesterol, mg/dl	134 ± 36	120 ± 33	<i>0.000</i>
Lipoprotein A, mg/dl	16 (9–35)	33 (10–121)	<i>0.000</i>
Apolipoprotein A, mg/dl	191 ± 35	170 ± 28	<i>0.000</i>
Apolipoprotein B, mg/dl	102 ± 24	109 ± 59	0.13
ApoB/ApoA ratio	0.55 ± 0.16	0.65 ± 0.29	<i>0.000</i>
Atherogenic index	3.72 ± 1.14	4.02 ± 1.51	<i>0.036</i>
Cholesterol efflux capacity, %	16.9 ± 10.4	18.9 ± 9.0	0.11
Rheumatoid arthritis-related data			
Disease duration, years		7 (4–15)	
Age at onset, years		45 ± 13	
DAS28		3.74 ± 1.19	
Remission, <i>n</i> (%)		38 (21)	
Low activity, <i>n</i> (%)		29 (16)	
Moderate activity, <i>n</i> (%)		84 (47)	
High activity, <i>n</i> (%)		27 (15)	
DAS28-CRP		2.94 ± 0.99	
SDAI		14 (8–21)	
CDAI		82 (40–112)	
Rheumatoid factor, <i>n</i> (%)		119 (67)	

Table 1 Characteristics of patients with rheumatoid arthritis and control subjects (*Continued*)

ACPA, <i>n</i> (%)	98 (55)
Prednisone intake, <i>n</i> (%)	62 (35)
Prednisone dose, mg/day	5 (3–6)
NSAIDs, <i>n</i> (%)	78 (44)
DMARDs, <i>n</i> (%)	153 (86)
Methotrexate, <i>n</i> (%)	135 (76)
Leflunomide, <i>n</i> (%)	19 (11)
Biologic therapy, <i>n</i> (%)	41 (23)
Anti-TNF- α therapy, <i>n</i> (%)	23 (13)
Tocilizumab, <i>n</i> (%)	11 (6)
Rituximab, <i>n</i> (%)	5 (3)
Abatacept, <i>n</i> (%)	2 (1)
Carotid assessments	
CIMT, mm	0.671 ± 0.143
Carotid plaque, <i>n</i> (%)	66 (37)

Data represent mean (SD) or median (IQR) when data were not normally distributed

Abbreviations: CRP C-reactive protein, LDL Low-density lipoprotein, NSAID Non-steroidal anti-inflammatory drug, DMARD Disease-modifying antirheumatic drug, ESR Erythrocyte sedimentation rate, DAS28 Disease Activity Score in 28 joints, HDL High-density lipoprotein, SDAI Simplified Disease Activity Index, CDAI Clinical Disease Activity Index, TNF- α Tumor necrosis factor- α , ACPA Anticitrullinated protein antibody, CIMT Carotid intima-media thickness. Significant 'p' values are highlighted in italics

Relationship of CEC with demographic, traditional cardiovascular risk factors, and disease-related data in patients and control subjects

Demographic variables were not associated with CEC, except for a correlation with male sex that was found only in patients with RA and not in control subjects. Systolic blood pressure was inversely correlated with CEC in control subjects (β coefficient -0.1 [-0.2 to 0.0], $p = 0.025$). In patients with RA, a similar trend was found, although a statistically significant difference was not reached. Neither the traditional cardiovascular risk factors nor the cardiovascular comorbidity-related data were associated with CEC. Similarly, the lipid profile did not show any relationship with CEC in patients or control subjects (Table 2).

Disease activity, when considered continuous, was not associated with lower levels of CEC (β coefficient -1.1 [-2.3 to 0.2], $p = 0.086$). Nevertheless, when patients were stratified according to the degree of disease activity, some differences were seen. With respect to this, the patient subgroup that exhibited low (β coefficient -5.2 [-10.0 to 0.3], $p = 0.039$) and moderate (β coefficient -4.6 [-8.5 to 0.7], $p = 0.020$) disease activity was associated with statistically significant lower levels of CEC than those in clinical remission. Although no association was found when patients with RA with high disease activity were compared with those in remission (β

Table 2 Univariate relationship of traditional cardiovascular risk factors and rheumatoid arthritis-related data with high-density lipoprotein cholesterol efflux capacity in control subjects and patients with rheumatoid arthritis

	Control subjects		Patients with RA	
	Percent efflux β coefficient (95% CI)	<i>p</i> Value	Percent efflux β coefficient (95% CI)	<i>p</i> Value
Age, years	-0.9 (-0.4 to 0.2)	0.50	-0.2 (-0.2 to 0.1)	0.78
Male sex	-0.9 (-4.6 to 2.8)	0.62	-6.1 (-9.4 to 2.8)	0.000
Body mass index	-0.2 (-0.6 to 0.1)	0.20	0.2 (-0.1 to 0.5)	0.21
Abdominal circumference	-0.1 (-0.2 to 0.0)	0.058	0.0 (-0.1 to 0.2)	0.42
Systolic blood pressure	-0.1 (-0.2 to 0.0)	0.025	0.1 (-0.0 to 0.2)	0.11
Diastolic blood pressure	-0.0 (-0.1 to 0.0)	0.29	0.01 (-0.0 to 0.2)	0.15
Cardiovascular comorbidities				
Smoking	1.8 (-2.4 to 6.0)	0.40	-0.3 (-4.5 to 3.9)	0.89
Diabetes	1.2 (-5.9 to 8.3)	0.74	2.9 (-1.3 to 7.2)	0.17
Hypertension	-2.4 (-6.0 to 1.1)	0.17	0.1 (-3.0 to 3.2)	0.95
Dyslipidemia	-1.1 (-5.2 to 3.1)	0.61	-0.3 (-3.4 to 2.8)	0.85
Antihypertensive treatment	0.7 (-3.6 to 5.0)	0.75	0.4 (-2.7 to 3.5)	0.80
Statins	-2.1 (-7.4 to 3.2)	0.44	0.6 (-2.6 to 3.8)	0.70
Laboratory examinations, including lipid profile				
ESR	-0.2 (-0.1 to 0.1)	0.23	-0.1 (-0.1 to 0.0)	0.12
CRP	-0.3 (-0.6 to 0.0)	0.092	-0.0 (-0.1 to 0.1)	0.83
Cholesterol	0.0 (-0.0 to 0.1)	0.11	0.00 (-0.0 to 0.00)	0.69
Triglycerides	-0.0 (-0.1 to 0.0)	0.19	0.0 (-0.0 to 0.0)	0.30
HDL cholesterol	0.1 (-0.0 to 0.2)	0.092	0.0 (-0.1 to 0.1)	0.48
LDL cholesterol	0.0 (-0.0 to 0.1)	0.32	-0.0 (-0.1 to 0.0)	0.62
Lipoprotein A	0.1 (-0.0 to 0.1)	0.059	-0.0 (-0.0 to 0.0)	0.35
Apolipoprotein A	0.0 (-0.0 to 0.1)	0.089	-0.0 (-0.1 to 0.0)	0.84
Apolipoprotein B	0.0 (-0.1 to 0.1)	0.77	0.00 (-0.0 to 0.0)	0.99
ApoB/ApoA ratio	-5.8 (-16.8 to 5.4)	0.31	0.8 (-4.1 to 5.7)	0.76
Atherogenic index	0.7 (-2.4 to 1.0)	0.41	0.0 (-1 to 1)	0.99
Rheumatoid arthritis-related data				
Disease duration			0.1 (-0.0 to 0.3)	0.12
DAS28			-1.1 (-2.3 to 0.2)	0.086
Remission			-	
Low disease activity			-5.2 (-10.0 to 0.3)	0.039
Moderate disease activity			-4.6 (-8.5 to 0.7)	0.020
High disease activity			-3.2 (-8.1 to 1.7)	0.19
Moderate and high disease activity			-4.2 (-7.9 to 0.6)	0.024
DAS28-CRP			-1.1 (-2.7 to 0.4)	0.14
SDAI			-0.0 (-0.1 to 0.1)	0.54
CDAI			-0.0 (-0.0 to 0.0)	0.31
Rheumatoid factor			-0.4 (-3.8 to 2.9)	0.81
ACPA			0.4 (-2.7 to 3.6)	0.78
Prednisone intake			-0.3 (-3.4 to 2.9)	0.88
Prednisone dose			-0.3 (-3.4 to 2.9)	0.88
NSAIDs			4.6 (1.5 to 7.6)	0.004
DMARDs			-0.2 (-4.6 to 4.2)	0.93

Table 2 Univariate relationship of traditional cardiovascular risk factors and rheumatoid arthritis-related data with high-density lipoprotein cholesterol efflux capacity in control subjects and patients with rheumatoid arthritis (*Continued*)

Methotrexate	0.5 (−2.9 to 4.0)	0.77
Leflunomide	−1.3 (−5.9 to 3.3)	0.58
Biologic therapy	3.57 (−0.0 to 7.2)	0.052
Anti-TNF- α therapy	0.7 (−4.0 to 5.5)	0.76
Tocilizumab	8.0 (2.3 to 13.7)	<i>0.007</i>
Rituximab	1.3 (−9.1 to 11.7)	0.81
Abatacept	−1.4 (−14.1 to 11.4)	0.83

DAS28 relation with cholesterol efflux capability was studied using remission category as the reference category

Abbreviations: CRP C-reactive protein, LDL Low-density lipoprotein, NSAID Nonsteroidal anti-inflammatory drug; DMARD Disease-modifying antirheumatic drug, ESR Erythrocyte sedimentation rate, DAS28 Disease Activity Score in 28 joints, HDL High-density lipoprotein, SDAI Simplified Disease Activity Index, CDAI Clinical Disease Activity Index, TNF- α Tumor necrosis factor- α , ACPA Anticitrullinated protein antibody, CIMT Carotid intima-media thickness, ApoA Apolipoprotein A, ApoB Apolipoprotein B. Significant 'p' values are highlighted in italics

coefficient -3.2 [-8.1 to 1.7], $p = 0.19$), this association was maintained when moderate and high disease activity groups were considered as a single group (β coefficient -4.2 [-7.9 to 0.6], $p = 0.024$).

Neither rheumatoid factor- nor anticitrullinated protein antibody (ACPA)-positive status was associated with CEC. Apart from those patients who underwent tocilizumab treatment (11 patients), in whom the use of this anti-interleukin-6 biologic agent led to higher CEC levels (β coefficient 8.0 [2.3 – 13.7], $p = 0.007$), as well as a correlation linking nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) intake and a higher CEC index (β coefficient 4.6 [1.5 – 7.6], $p = 0.004$), no association between RA therapy and CEC was found (Table 2).

Relationship of RA patient characteristics with CIMT and carotid plaques

Age, male sex, waist circumference, and traditional cardiovascular risk factors (hypertension, diabetes, and dyslipidemia), except for smoking, positively correlated with either the presence of carotid plaque or CIMT. With respect to laboratory data, lipoprotein A (OR 1.00 [95% CI 1.00 – 1.01], $p = 0.043$) was associated with the presence of carotid plaque. Whereas triglycerides ($p = 0.034$) and atherogenic index ($p = 0.023$) correlated with higher levels of CIMT, HDL cholesterol showed a negative association with CIMT (β coefficient -0.01 [-0.03 to 0.00], $p = 0.034$). Levels of ESR were positively associated with both carotid plaque and CIMT.

Regarding RA-related data, disease activity as assessed by DAS28 (OR 1.36 [95% CI 1.05 – 1.77], $p = 0.022$) or CDAI (OR 1.01 [95% CI 1.00 – 1.01], $p = 0.055$) was associated with a higher risk of carotid plaque involvement. Rheumatoid factor was negatively and marginally related to a lower level of CIMT, though no association of carotid plaque or CIMT with ACPA status was found. NSAID intake was negatively associated with both carotid plaque (OR 0.40 [95% CI 0.21 – 0.76], $p = 0.005$) and CIMT (β coefficient -0.6 [-1.0 to 0.2], $p = 0.005$) (Table 3). However,

no association between prednisone intake or prednisone dose and carotid plaque or CIMT was found (Table 3).

CEC's association with carotid subclinical atherosclerosis in patients with RA

Higher CEC was associated with a protective effect against the presence of carotid plaque in patients with RA. This association (OR 0.94 [95% CI 0.89 – 0.98], $p = 0.015$) was maintained even after multivariate analysis (adjusted for age, sex, systolic blood pressure, diabetes, ESR, disease duration, DAS28, and tocilizumab use). In contrast, CEC was not found to be associated with CIMT in patients with RA (Table 4).

Discussion

In the present study, we show, for the first time to our knowledge, that CEC is independently associated with carotid plaque in patients with RA. Additionally, CEC was shown to be inversely proportional to disease activity, with CEC being lower in patients with low or moderate activity than in patients in remission.

In our study, we did not observe a difference in CEC between patients and control subjects, a finding that is in agreement with previous reports. In fact, using an assay similar to that of our own study, Charles-Schoeman et al found no significant difference between 40 patients with RA and 40 age- and sex-matched healthy control subjects [9]. Ronda et al. [10] studied CEC through 4 different and specifically CEC pathways in 30 patients with RA and 30 healthy control subjects. They did not discover any significant differences in scavenger receptor class B member 1 (SR-BI)-mediated efflux, ATP-binding cassette A1 (ABCA1)-mediated efflux, and aqueous diffusion (AD) CEC pathways. Only ATP-binding cassette G1 (ABCG1)-mediated efflux was found to be impaired when patients with RA were compared with healthy control subjects.

Regarding the relationship of disease activity with CEC, our findings are also in agreement with other

Table 3 Univariate relationship of characteristics of patients with rheumatoid arthritis with carotid intima-media thickness and carotid plaques

Patients with RA (n = 178)	Carotid plaque		CIMT (x10 mm)	
	OR (95% CI)	p Value	β Coefficient (95% CI)	p Value
Age	1.15 (1.10–1.20)	0.000	0.08 (0.01–0.01)	0.000
Male sex	3.00 (1.44–6.26)	0.003	1.1 (0.6–1.6)	0.000
Body mass index	1.00 (0.95–1.06)	0.92	0.03 (0.02–0.07)	0.23
Abdominal circumference	1.01 (0.99–1.04)	0.31	0.02 (0.00–0.03)	0.021
Systolic blood pressure	1.04 (1.02–1.06)	0.000	0.04 (0.03–0.05)	0.000
Diastolic blood pressure	1.02 (0.997–1.05)	0.078	0.02 (0.01–0.04)	0.009
Cardiovascular comorbidity				
Smoking	1.04 (0.46–2.37)	0.92	−0.1 (0.7 to 0.4)	0.63
Diabetes	3.54 (1.51–8.30)	0.004	1.0 (0.4 to 1.6)	0.001
Hypertension	2.57 (1.36–4.87)	0.004	0.6 (0.2 to 1.1)	0.005
Dyslipidemia	3.61 (1.91–6.84)	0.000	0.4 (−0.01 to 0.8)	0.082
Antihypertensive treatment	2.73 (1.44–5.18)	0.002	0.7 (0.2 to 1.1)	0.002
Statins	3.93 (2.04–7.58)	0.000	0.5 (0.0 to 0.9)	0.036
Laboratory including lipid profile				
ESR	1.02 (1.01–1.04)	0.003	0.01 (0.00 to 0.02)	0.041
CRP	0.45 (0.96–1.02)	0.45	0.00 (−0.01 to 0.01)	0.947
Cholesterol	1.00 (0.99–1.01)	0.83	0.00 (0.00 to 0.01)	0.16
Triglycerides	1.00 (0.99–1.01)	0.13	0.00 (0.00 to 0.00)	0.034
HDL cholesterol	0.99 (0.98–1.01)	0.51	−0.01 (−0.03 to 0.00)	0.034
LDL cholesterol	0.99 (0.99–1.01)	0.77	0.00 (0.00 to 0.01)	0.14
Lipoprotein A	1.00 (1.00–1.01)	0.043	0.00 (0.00 to 0.00)	0.76
Apolipoprotein A	1.01 (0.99–1.02)	0.37	0.00 (−0.01 to 0.01)	0.80
Apolipoprotein B	0.99 (0.99–1.01)	0.73	0.00 (0.00 to 0.00)	0.48
ApoB/ApoA ratio	0.70 (0.21–2.33)	0.56	0.4 (0.4 to 1.1)	0.36
Atherogenic index	1.06 (0.87–1.29)	0.57	0.2 (0.0 to 0.3)	0.029
Rheumatoid arthritis-related data				
Disease duration	1.02 (0.99–1.06)	0.17	0.01 (−0.01 to 0.03)	0.41
DAS28	1.36 (1.05–1.77)	0.022	0.12 (−0.06 to 0.30)	0.18
DAS28-CRP	1.19 (0.88–1.63)	0.26	0.08 (−0.14 to 0.29)	0.47
SDAI	0.99 (0.98–1.02)	0.85	0.00 (−0.01 to 0.01)	0.76
CDAI	1.01 (1.00–1.01)	0.055	0.00 (0.00 to 0.01)	0.16
Rheumatoid factor	0.87 (0.45–1.71)	0.69	−0.5 (−1.0 to 0.0)	0.043
ACPA	0.87 (0.46–1.63)	0.66	−0.3 (−0.8 to 0.1)	0.14
Prednisone intake	1.11 (0.59–2.10)	0.74	0.0 (−0.4 to 0.5)	0.90
Prednisone doses	0.99 (0.89–1.09)	0.81	−0.04 (−0.1 to 0.2)	0.20
NSAIDs	0.40 (0.21–0.76)	0.005	−0.6 (−1.0 to 0.2)	0.005
DMARDs	2.04 (0.77–5.41)	0.15	0.3 (−0.4 to 0.9)	0.43
Methotrexate	0.77 (0.38–1.54)	0.46	−0.3 (−0.8 to 0.2)	0.25
Leflunomide	2.04 (0.78–5.32)	0.14	0.9 (0.2 to 1.6)	0.010
Biologic therapy	0.51 (0.23–1.13)	0.098	−0.2 (−0.8 to 0.3)	0.35
Anti-TNF-α therapy	0.89 (0.36–2.23)	0.81	0.4 (−0.3 to 1.0)	0.23
Tocilizumab	0.16 (0.02–1.26)	0.081	−0.7 (−1.6 to 0.1)	0.085

Table 3 Univariate relationship of characteristics of patients with rheumatoid arthritis with carotid intima-media thickness and carotid plaques (*Continued*)

Rituximab	0.42 (0.05–3.80)	0.44	–1.1 (–2.4 to 0.1)	0.81
Abatacept	1.71 (0.11–27.8)	0.71	0.6 (–1.4 to 2.6)	0.55

Abbreviations: CRP C-reactive protein, LDL Low-density lipoprotein, NSAID Nonsteroidal anti-inflammatory drug; DMARD Disease-modifying antirheumatic drug, ESR Erythrocyte sedimentation rate, DAS28 Disease Activity Score in 28 joints, HDL High-density lipoprotein, SDAI Simplified Disease Activity Index, CDAI Clinical Disease Activity Index, TNF- α Tumor necrosis factor- α , ACPA Anticitrullinated protein antibody, CIMT Carotid intima-media thickness, ApoA Apolipoprotein A, ApoB Apolipoprotein B. Significant 'p' values are highlighted in italics

previous reports [9, 10]. In our study, DAS28, on a continuous basis, showed a trend toward being inversely related with CEC. Interestingly, patients with low and moderate disease activity had statistically significant lower CEC than those in remission. However, CEC was not significantly different in patients with high disease activity when compared with those in remission. A lack of statistical power when comparing the high disease activity group with patients in remission may be the reason for this result because low and moderate disease activity levels were linked to lower levels of CEC. Additionally, when patients with moderate and high disease activity were included in a single group and compared with those in remission, the statistically significant association was maintained. For this reason, we believe that the association between disease activity and CEC found in our study is robust enough to be considered real. In keeping with our findings, Charles-Schoeman et al. [9] and Ronda et al. [10] both described a relationship between disease activity and CEC in their studies. In the former, significant differences were noted between patients with RA with low disease activity/clinical remission and patients with RA with high disease activity [9]. Significant correlations were also found between CEC and RA disease activity and systemic inflammation as measured by ESR [9]. In the latter study [10], a significant inverse correlation was found between ABCG1-mediated CEC values and DAS28 in patients with RA.

No other RA-related data different from the disease activity findings were found to be associated with CEC in our study. Only tocilizumab and NSAIDs showed a relationship with CEC. The fact that tocilizumab treatment was associated with increased levels of CEC is in agreement with two recent reports that described a beneficial effect of tocilizumab on CEC over time [22, 23]. However, the association of tocilizumab found in our study should be interpreted with caution, given the small

number of patients included in our series. In our study, NSAIDs were also associated with a protective effect for CIMT and carotid plaque, as well as with higher levels of CEC. This is in agreement with previous reports supporting the notion that in patients with inflammatory arthritis, the anti-inflammatory effect of NSAIDs may compensate for the potentially increased risk of cardiovascular disease associated with these drugs [24, 25]. To the best of our knowledge, the beneficial effects of NSAIDs over CEC have not previously been described. However, we did not find an association of prednisone intake with carotid subclinical atherosclerosis. On one hand, we believe that this is due to the fact that the risk of corticosteroids over cardiovascular disease is dose-dependent and may be lower or absent in patients receiving low-dose glucocorticoid therapy [26]. On the other hand, we do not have an explanation for the marginal protective effect of rheumatoid factor over CIMT found in our series of white patients with RA. It could be the result of a spurious correlation that needs to be replicated in further studies. Nevertheless, a recent study has shown an association between RA-related autoantibodies with subclinical and clinical atherosclerosis in African American women but not in white women or men [27].

The absence of any association between traditional cardiovascular risk factors or lipid profile with CEC in both patients and control subjects is in agreement with previous reports. In this sense, traditional risk factors reportedly explain only 3% of the variance observed in CEC [8]. Moreover, glucose tolerance status does not appear to impact CEC [28], and CEC cannot be explained by HDL cholesterol or apolipoprotein A-I levels [29]. Similarly, we did not find any association of statins with CEC in patients and control subjects. This finding supports the claim that statins most likely exert therapeutic benefit by means of a mechanism that is different from the promotion of cholesterol efflux [7]. Smoking has also

Table 4 Cholesterol efflux capacity relationship with carotid intima-media thickness and carotid plaque

Cholesterol efflux capacity	Carotid plaque		CIMT ($\times 10$ mm)	
	OR (95% CI)	<i>p</i>	β Coefficient (95% CI)	<i>p</i>
Unadjusted	0.95 (0.92–0.99)	0.023	0.01 (–0.02 to 0.03)	0.67
Adjusted	0.94 (0.89–0.98)	0.015	0.01 (–0.02 to 0.03)	0.54

Adjusted for age, sex, systolic blood pressure, diabetes, ESR, disease duration, DAS28 and tocilizumab use
CIMT Carotid intima-media thickness

been found to be a significant inverse predictor of CEC in previous studies [7]. However, we did not find this association in our study. On one hand, we think it could be due to our study design because we included only current smokers. On the other hand, only 16% of the patients with RA included in our series were current smokers at the time of the assessment. Nevertheless, we feel that CEC impairment in RA may be predominantly the result of an inflammation-related disturbance rather than the effect of traditional cardiovascular risk factors.

CEC was associated with carotid plaque in our study. However, this was not the case for CIMT. We believe that the relationship of CEC with CIMT is probably not linear; thus, linear regression may have failed to detect this association. Nevertheless, carotid plaque is considered to be a better predictor of cardiovascular disease than CIMT [30]. It is also known that whereas plaque reflects advanced atherosclerosis and associates closely with dyslipidemia, increased CIMT represents mostly high blood pressure-mediated arterial medial hypertrophy and relates more strongly to left ventricular hypertrophy and stroke [31]. For this reason, we think that the association with carotid plaque and not with CIMT found in our study is consistent with previous knowledge regarding the etiopathogenesis of atherosclerotic disease.

We acknowledge several limitations in our study. First, carotid assessments were not available for healthy control subjects. Although CEC has been widely associated with CIMT and cardiovascular events in the general population, the availability of carotid assessments in control subjects would have allowed us to study a different effect or statistical interaction between these two populations. Second, as previously mentioned, CEC pathways are diverse, and some other molecules may be implicated in CEC. Finally, although there are other ways of assessing cholesterol efflux *in vitro*, most research done in population-based cohorts has been carried out using the same assay as the one described in our study. This assay integrates the pathways known to mediate cholesterol efflux from macrophages (i.e., ABCA1, ABCG1, SR-BI, and AD).

Conclusions

Our study, which includes the largest series of patients with RA ever assessed for CEC, reveals for the first time, to our knowledge, that CEC is related to subclinical atherosclerosis in patients with RA. The fact that CEC is also associated with disease activity reinforces the idea that CEC may be a mediator between disease activity and subclinical atherosclerosis. We emphasize the potential role of checking CEC in patients with RA because it may be a complementary approach to the assessment of atherosclerotic disease in these patients. We feel that

our findings herald a new opportunity for research in this area in which future investigations are warranted.

Abbreviations

ABCA1: ATP-binding cassette A1; ABCG1: ATP-binding cassette G1; ACAT: Acetyl-coenzyme A acetyltransferase; ACPA: Anticardiolipin antibody; AD: Aqueous diffusion; ApoA: Apolipoprotein A; ApoB: Apolipoprotein B; BODIPY: Boron-dipyrromethene; BSA: Bovine serum albumin; cAMP: Cyclic adenosine monophosphate; CDAI: Clinical Disease Activity Index; CEC: Cholesterol efflux capacity; CRP: C-reactive protein; CIMT: Carotid intima-media thickness; DAS28: Disease Activity Score in 28 joints; DMARD: Disease-modifying antirheumatic drug; ESR: Erythrocyte sedimentation rate; HDL: High-density lipoprotein; LDL: Low-density lipoprotein; MEM: Minimal essential medium; NSAID: Nonsteroidal anti-inflammatory drug; RA: Rheumatoid arthritis; SDAI: Simplified Disease Activity Index; SR-BI: Scavenger receptor class B member 1; TNF- α : Tumor necrosis factor- α

Acknowledgements

Not applicable.

Funding

This work was supported by a grant to from the Spanish Ministry of Health, Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación, Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación 2013–2016 (to IFA), as well as by the Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER; Fondo de Investigaciones Sanitarias [FIS] PI14/00394, PI15/00521).

Availability of data and materials

The datasets used and/or analyzed during the present study are available from the corresponding author on reasonable request.

Authors' contributions

IFA had full access to all of the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis. IFA, MAGG, and FDG conceived of and designed the study. BTS, MMD, JDM, AdVG, JAGD, JMO, JLH, and IFA acquired data. BTS, MMD, JDM, AdVG, JAGD, JMO, JLH, FDG, MAGG, and IFA analyzed and interpreted data. All authors were involved in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content. All authors read and approved the final manuscript.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Consent for publication

Not applicable.

Ethics approval and consent to participate

The study protocol was approved by the institutional review committees at Hospital Universitario de Canarias and Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (both in Spain), and all subjects provided written informed consent.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Author details

¹Division of Rheumatology, Hospital Universitario de Canarias, 38320 Santa Cruz de Tenerife, Spain. ²Department of Pharmacology, Facultad de Medicina, Universidad de La Laguna, Tenerife, Spain. ³Central Laboratory Division, Hospital Universitario de Canarias, Tenerife, Spain. ⁴Division of Internal Medicine, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla- Instituto de Investigación Marqués de Valdecilla (IDIVAL), Universidad de Cantabria, Santander, Spain. ⁵Department of Internal Medicine, Facultad de Medicina, Universidad de La Laguna, La Laguna, Spain. ⁶Division of Rheumatology, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Universidad de Cantabria, Santander, Spain. ⁷Epidemiology, Genetics and Atherosclerosis Research Group on Systemic Inflammatory Diseases, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Instituto de Investigación Marqués de Valdecilla (IDIVAL), Santander, Spain. ⁸Cardiovascular Pathophysiology and Genomics Research

Unit, School of Physiology, Faculty of Health Sciences, University of the Witwatersrand, Johannesburg, South Africa.

Received: 22 December 2016 Accepted: 2 May 2017

Published online: 31 May 2017

References

- Aviña-Zubieta JA, Choi HK, Sadatsafavi M, Etminan M, Esdaile JM, Laccaille D. Risk of cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Arthritis Rheum.* 2008;59(12):1690–7.
- López-Mejías R, Castañeda S, González-Juanatey C, Corrales A, Ferraz-Amaro I, Genre F, et al. Cardiovascular risk assessment in patients with rheumatoid arthritis: The relevance of clinical, genetic and serological markers. *Autoimmun Rev.* 2016;15(11):1013–30.
- Rho YH, Chung CP, Oeser A, Solus J, Asanuma Y, Sokka T, et al. Inflammatory mediators and premature coronary atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2009;61(11):1580–5.
- Myasoedova E, Crowson CS, Kremers HM, Roger VL, Fitz-Gibbon PD, Therneau TM, et al. Lipid paradox in rheumatoid arthritis: the impact of serum lipid measures and systemic inflammation on the risk of cardiovascular disease. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(3):482–7.
- Choy E, Sattar N. Interpreting lipid levels in the context of high-grade inflammatory states with a focus on rheumatoid arthritis: a challenge to conventional cardiovascular risk actions. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(4):460–9.
- González-Gay MA, González-Juanatey C. Inflammation and lipid profile in rheumatoid arthritis: bridging an apparent paradox. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(7):1281–3.
- Khera AV, Cuchel M, de la Llera-Moya M, Rodrigues A, Burke MF, Jafri K, et al. Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis. *N Engl J Med.* 2011;364(2):127–35.
- Rohatgi A, Khera A, Berry JD, Givens EG, Ayers CR, Wedin KE, et al. HDL cholesterol efflux capacity and incident cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2014;371(25):2383–93.
- Charles-Schoeman C, Lee YY, Grijalva V, Amjadi S, FitzGerald J, Ranganath VK, et al. Cholesterol efflux by high density lipoproteins is impaired in patients with active rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(7):1157–62.
- Ronda N, Favari E, Borghi MO, Ingegnoli F, Gerosa M, Chighizola C, et al. Impaired serum cholesterol efflux capacity in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(3):609–15.
- Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham 3rd CO, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(9):1580–8.
- Daien CI, Dony Y, Barnette T, Daures JP, Combe B, Morel J. Effect of TNF inhibitors on lipid profile in rheumatoid arthritis: a systematic review with meta-analysis. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(6):862–8.
- Hernández JL, Olmos JM, Pariente E, Martínez J, Valero C, García-Velasco P, et al. Metabolic syndrome and bone metabolism: the Camargo Cohort study. *Menopause.* 2010;17(5):955–61.
- Olmos JM, Hernández JL, Martínez J, Castillo J, Valero C, Pérez Pajares I, Nan D, Gonzalez-Macias J. Bone turnover markers and bone mineral density in hypertensive postmenopausal women on treatment. *Maturitas.* 2010;65(4):396–402.
- Prevoo ML, vant Hof MA, Kuper HH, van Leeuwen MA, van de Putte LB, van Riel PL. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts: development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1995;38(1):44–8.
- Aletaha D, Smolen J. The Simplified Disease Activity Index (SDAI) and the Clinical Disease Activity Index (CDAI): a review of their usefulness and validity in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2005;23(5 Suppl 39):S100–8.
- Smolen JS, Breedveld FC, Schiff MH, Kalden JR, Emery P, Eberl G, et al. A simplified disease activity index for rheumatoid arthritis for use in clinical practice. *Rheumatology (Oxford).* 2003;42(2):244–57.
- Aletaha D, Ward MM, Machold KP, Nell VP, Stamm T, Smolen JS. Remission and active disease in rheumatoid arthritis: defining criteria for disease activity states. *Arthritis Rheum.* 2005;52(9):2625–36.
- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18(6):499–502.
- Corrales A, González-Juanatey C, Peiró ME, Blanco R, Llorca J, González-Gay MA. Carotid ultrasound is useful for the cardiovascular risk stratification of patients with rheumatoid arthritis: results of a population-based study. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(4):722–7.
- Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, et al. Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004–2006): an update on behalf of the Advisory Board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium, 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. *Cerebrovasc Dis.* 2007;23(1):75–80.
- Liao KP, Playford MP, Frits M, Coblyn JS, Iannaccone C, Weinblatt ME, et al. The association between reduction in inflammation and changes in lipoprotein levels and HDL cholesterol efflux capacity in rheumatoid arthritis. *J Am Heart Assoc.* 2015;4(2):e001588.
- Ormseth MJ, Yancey PG, Solus JF, Louis Bridges Jr S, Curtis JR, Linton MF, et al. Effect of drug therapy on net cholesterol efflux capacity of high-density lipoprotein-enriched serum in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2016;68(9):2099–105.
- Lindhardsen J, Gislason GH, Jacobsen S, Ahlehoff O, Olsen AM, Madsen OR, et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: a nationwide cohort study. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(8):1515–21.
- Goodson NJ, Brookhart AM, Symmons DP, Silman AJ, Solomon DH. Non-steroidal anti-inflammatory drug use does not appear to be associated with increased cardiovascular mortality in patients with inflammatory polyarthritis: results from a primary care based inception cohort of patients. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(3):367–72.
- Wei L, MacDonald TM, Walker BR. Taking glucocorticoids by prescription is associated with subsequent cardiovascular disease. *Ann Intern Med.* 2004;141(10):764–70.
- Majka DS, Vu TT, Pope RM, Teodorescu M, Karlson EW, Liu K, et al. Association of rheumatoid factors with subclinical and clinical atherosclerosis in African American women: the Multiethnic Study of Atherosclerosis. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2017;69(2):166–74.
- Annema W, Dikkers A, de Boer JF, van Greevenbroek MM, van der Kallen CJ, Schalkwijk CG, et al. Impaired HDL cholesterol efflux in metabolic syndrome is unrelated to glucose tolerance status: the CODAM study. *Sci Rep.* 2016;6:27367.
- Bhatt A, Rohatgi A. HDL cholesterol efflux capacity: cardiovascular risk factor and potential therapeutic target. *Curr Atheroscler Rep.* 2016;18(1):2.
- Naqvi TZ, Lee MS. Carotid intima-media thickness and plaque in cardiovascular risk assessment. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2014;7(10):1025–38.
- Dessein PH, Semb AG. Could cardiovascular disease risk stratification and management in rheumatoid arthritis be enhanced? *Ann Rheum Dis.* 2013;72(11):1743–6.

Submit your next manuscript to BioMed Central and we will help you at every step:

- We accept pre-submission inquiries
- Our selector tool helps you to find the most relevant journal
- We provide round the clock customer support
- Convenient online submission
- Thorough peer review
- Inclusion in PubMed and all major indexing services
- Maximum visibility for your research

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit

