

CARLOS EWERTON MAIA RODRIGUES

**Adipocitocinas na síndrome antifosfolípide primária:
potenciais marcadores de inflamação, resistência insulínica e
síndrome metabólica**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de Ciências Médicas
Área de concentração: Processos
Imunes e Infeciosos
Orientador: Prof. Dr. Jozélio Freire de
Carvalho

São Paulo
2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Rodrigues, Carlos Ewerton Maia

Adipocitocinas na síndrome antifosfolípide primária : potenciais
marcadores de inflamação, resistência insulínica e síndrome metabólica /
Carlos Ewerton Maia Rodrigues. -- São Paulo, 2011.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências Médicas. Área de concentração: Processos Imunes e
Infecciosos.

Orientador: Jozélio Freire de Carvalho.

Descritores: 1.Síndrome antifosfolípídica 2.Adipocitocinas
3.Resistência à insulina 4.Inflamação 5.Síndrome X metabólica

USP/FM/DBD-134/11

DEDICATÓRIA

À minha família,
pelo amor e apoio em todos os momentos

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Jozélio, que, desde os primeiros momentos do doutorado, me incentivou e me ajudou na busca do meu sonho. Sua simplicidade e competência foram fundamentais para a realização deste projeto de vida. Além de orientador, tornou-se um amigo que irei levar para a minha vida como um legado construído durante esta longa trajetória.

À Profa. Eloísa Bonfá, que viabilizou este sonho com muita delicadeza e sempre muito atenciosa. Seus ensinamentos e sua experiência contribuíram de modo singular para a elaboração deste trabalho.

À Dra Teresa Caleiro, que sempre esteve disposta a me ajudar e me orientar. Sua experiência e maneira extremamente humana de tratar os pacientes muito contribui para me tornar um médico mais maduro.

Aos amigos Daniele, Karin e Rodrigo. A ajuda de vocês foi muito importante. Sem o companheirismo e a atenção de vocês, nada disso seria possível.

Às secretárias da Reumatologia (Cláudia, Iná, Martha e Fátima), à Cristina, Margarete e Cleonice Bueno, todas sempre dispostas a me ajudar.

Sumário

Resumo

Summary

1. Introdução.....	01
2. Objetivos.....	04
3. Métodos.....	06
3.1. Pacientes.....	07
3.2. Exames laboratoriais.....	10
3.3. Critério para Síndrome Metabólica.....	13
3.4. Análise estatística.....	14
4. Resultados.....	15
5. Discussão.....	24
6. Conclusões.....	29
7. Anexos.....	31
7.1 Anexo 1- Protocolo de coleta de dados do ambulatório.....	32
7.2 Anexo 3- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	34
8. Referências.....	38

Apêndice

RESUMO

Rodrigues CEM. Adipocitocinas na síndrome antifosfolípide primária: potenciais marcadores de inflamação, resistência insulínica e síndrome Metabólica [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2011.

INTRODUÇÃO: Síndrome antifosfolípide está associada com aterosclerose acelerada. Embora adipocitocinas exerçam um papel fundamental na interface entre obesidade, inflamação, resistência insulínica e aterosclerose, a exata natureza e relativa contribuição das adipocitocinas, como potenciais marcadores, requer investigação na síndrome antifosfolípide primária (SAFP).

OBJETIVO: Este estudo foi desenvolvido para avaliar a possível associação das adipocitocinas com síndrome metabólica (SM), inflamação e outros fatores de risco cardiovascular na SAFP. **MÉTODOS:** 56 pacientes com SAFP e 72 controles saudáveis pareados por sexo e idade foram incluídos. Adiponectina, leptina, visfatina, resistina, inibidor do ativador de plasminogênio-1 (PAI-1), lipoproteína (a), glicemia, insulina, VHS, PCR, ácido úrico e perfil lipídico foram dosados. SM foi definida de acordo com os critérios da Federação Internacional de Diabetes (IDF) e resistência insulínica foi estabelecida pelo índice de *homeostasis model assessment* (HOMA). **RESULTADOS:** Leptina [21,5 (12,9-45,7) vs 12,1 (6,9-26,8) ng/mL, $P=0.001$] foi maior em SAFP do que em controles. Adiponectina ($P=0,10$), resistina ($P=0,23$), visfatina ($P=0,68$) and

PAI-1 ($P=0,77$) não diferiu entre os grupos. Em SAFF, leptina e PAI-1 foram positivamente correlacionada com IMC ($r=0,61$ and $0,29$), HOMA-IR ($r=0,71$ and $0,28$) and CRP ($r=0,32$ and $0,36$). Adiponectina foi negativamente correlacionada com IMC ($r=-0,28$), triglicérides ($r=-0,43$), HOMA-IR ($r=-0,36$) e positivamente correlacionada com HDL ($r=0,37$), aCL IgG ($r=0,41$), anti- β 2GPI IgG ($r=0,31$) e anti- β 2GPI IgM ($r=0,38$). A análise de pacientes com e sem SM revelou uma associação positiva com leptina ($P=0,002$) e PAI-1 ($P=0,03$) e uma associação negativa com adiponectina ($P=0,042$). No modelo de regressão linear múltipla, observamos que as variáveis que independentemente influenciam a adiponectina foram triglicérides ($P<0,001$), VLDL-c ($P=0,002$) e anti- β 2GPI IgG ($P=0,042$), leptina foram IMC ($P<0,001$), glicemia ($P=0,046$), HOMA-IR ($P<0,001$) e VHS ($P=0,006$) e PAI-1 foram PCR ($P=0,013$) e SM ($P=0,048$). **CONCLUSÕES:** O presente estudo demonstra que as adipocitocinas podem estar envolvidas com inflamação, resistência insulínica e SM em pacientes com SAFF.

Descritores: Síndrome antifosfolipídica, adipocitocinas, resistência à insulina, inflamação, síndrome X metabólica

SUMMARY

Rodrigues CEM. Adipocytokines in primary antiphospholipid syndrome: potential markers of inflammation, insulin resistance and metabolic syndrome [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2011.

INTRODUCTION: Antiphospholipid syndrome is associated with accelerated atherosclerosis. Although adipocytokines play a key role in the interface between obesity, inflammation, insulin resistance and atherosclerosis, the exact nature and relative contribution of adipocytokines as potential markers warrant further investigation in primary antiphospholipid syndrome (PAPS).

OBJECTIVE: This study was undertaken to evaluate a possible association of adipocytokines with metabolic syndrome (MetS), inflammation and other cardiovascular risk factors in PAPS. **METHODS:** Fifty-six PAPS patients and 72 age- and gender-matched healthy controls were included. Sera samples were tested for adiponectin, leptin, visfatin, resistin, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), lipoprotein (a), glucose, insulin, ESR, CRP, uric acid and lipid profiles. MetS was defined according to the guidelines of the International Diabetes Federation (IDF) and insulin resistance was established using the homeostasis model assessment (HOMA) index. **RESULTS:** Concentrations of leptin [21.5 (12.1-45.7) vs 12.1 (6.9-26.8) ng/mL, $P=0.001$] were higher in PAPS than in controls. Concentrations of adiponectin ($P=0.10$), resistin ($P=0.23$), visfatin ($P=0.68$) and PAI-1 ($P=0.77$) did not differ between patients and controls. In PAPS, leptin and PAI-1 levels were positively correlated with BMI ($r=0.61$ and

0.29), HOMA-IR ($r=0.71$ and 0.28) and CRP ($r=0.32$ and 0.36). Adiponectin was negatively correlated with BMI ($r=-0.28$), triglycerides ($r=-0.43$) and HOMA-IR index ($r=-0.36$) and positively correlated with HDL ($r=0.37$), aCL IgG ($r=0.41$), anti- β 2GPI IgG ($r=0.31$) and anti- β 2GPI IgM ($r=0.38$). Further analysis of patients with and without MetS revealed a positive association of the syndrome with leptin ($P=0.002$) and PAI-1 ($P=0.03$) and a negative association with adiponectin ($P=0.042$). In the multiple linear regression model, we observed that the variables that independently influence the adiponectin were triglycerides ($P<0.001$), VLDL-C ($P=0.002$) and anti- β 2GPI IgG ($P=0.042$), leptin were BMI ($P<0.001$), glucose ($P=0.046$), HOMA-IR ($P <0.001$) and ESR ($P=0.006$) and PAI-1 were CRP ($P=0.013$) and MetS ($P=0.048$).

CONCLUSION: The findings of the present study provide evidence that adipocytokines may be involved in inflammation, insulin resistance and metabolic syndrome of PAPS patients.

Descriptors: Antiphospholipid syndrome, adipocytokines, insulin resistance, inflammation, metabolic X syndrome

1. INTRODUÇÃO

Síndrome antifosfolípide (SAF) é uma condição trombofílica autoimune caracterizada por trombooses venosas e/ou arteriais associada ou não a complicações gestacionais na presença de anticorpos antifosfolípidos (aFL).¹ SAF está associada com altas taxas de doença cardiovascular (DCV), em parte devido à aterosclerose acelerada.² Este fenômeno é o resultado de fatores de risco cardiovascular tradicionais. Entretanto, a contribuição do processo inflamatório e autoimune tem sido reconhecida.^{3,4} Em relação a isso, Sacré et al.⁵ mostrou que a prevalência de isquemia oculta do miocárdio foi mais que sete vezes maior em pacientes com SAF em comparação aos controles, apesar do baixo risco de eventos cardiovasculares, quando calculado pelo escore de risco de Framingham.

Entre os fatores emergentes, o tecido adiposo tem funções endócrinas e é a principal origem de vários mediadores chamados adipocitocinas. Estas substâncias têm sido reconhecidas como reguladores chave de sensibilidade insulínica e são poderosos preditores para o desenvolvimento de síndrome metabólica (SM)^{6,7} devido à sua participação ativa na regulação do processo patológico e fisiológico, incluindo imunidade e inflamação.⁸ Embora adipocitocinas exerçam um papel fundamental na interface entre obesidade, inflamação, resistência insulínica e aterosclerose, a exata natureza e a relativa contribuição das adipocitocinas, como potenciais marcadores, requer investigação na síndrome antifosfolípide primária (SAFP). Leptina, resistina, visfatina e inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1) têm propriedades pró-inflamatórias e aterogênicas e são associados com resistência insulínica (IR).^{9,10} Por outro lado, a adiponectina possui efeitos anti-diabético, anti-inflamatório e anti-aterogênico.^{11,12}

Recentemente, um estudo observou que os pacientes com lúpus eritematoso sistêmico têm concentrações aumentadas de leptina, adiponectina e visfatina.¹³ Além disso, menores concentrações de adiponectina e maiores concentrações de leptina estão associadas com IR, índice de massa corporal (IMC) e proteína C-reativa (PCR).¹³ Em pacientes com artrite reumatóide (AR), a leptina está associada com resistência à insulina, mas, paradoxalmente, atenua os efeitos da RI na calcificação coronariana.¹⁴

Não existem estudos sobre a associação entre adipocitocinas em pacientes com SAFP, apesar do recente trabalho que evidenciou uma alta prevalência de síndrome metabólica nesses pacientes.²

2. OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi, portanto, examinar a hipótese de que os níveis de adipocitocinas estão alterados em pacientes com SAFP comparados com controles saudáveis e também avaliar uma possível associação de adipocitocinas com inflamação, síndrome metabólica, características SAFP e outros fatores de risco cardiovascular.

3. MÉTODOS

3.1. Pacientes

Um estudo caso-controle foi conduzido incluindo 56 pacientes adultos com SAF (Critérios de Sapporo)¹⁵ seguidos no ambulatório de SAF do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP). Os critérios de exclusão foram a presença de SAF secundária, pacientes menores de 18 anos de idade e/ou uso de medicamentos que pudessem interferir nos níveis de adipocitocinas como as estatinas, insulina e glitazonas. Vinte e seis pacientes foram excluídos do estudo (15 pacientes estavam em uso de estatinas, 2 tinham SAF pediátrico, 8 não quiseram participar e 1 paciente faleceu). O período de coleta dos dados foi de agosto 2009 a julho de 2010. Setenta e dois indivíduos saudáveis, pareados por idade e sexo, formaram o grupo controle (Figura 1). Todos os participantes foram submetidos à avaliação clínica com entrevista padronizada e todos os prontuários foram revisados. Uma amostra de sangue, após um período de jejum de 12 horas, também foi coletada no momento do estudo. Os seguintes parâmetros clínicos foram avaliados: trombose venosa profunda (TVP) e/ou embolia pulmonar, trombose arterial (acidente vascular cerebral (AVC), ataque isquêmico transitório, angina ou infarto agudo do miocárdio), livedo reticular, trombocitopenia (<100.000 plaquetas), abortos espontâneos recorrentes e perda fetal. O IMC foi calculado com base na seguinte fórmula: peso/altura^2 (kg/m^2) e circunferência abdominal foi medida. Obesidade foi definida pelo $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$.¹⁶ Pressão arterial foi determinada como a média de duas aferições com intervalo de 5 minutos após repouso na posição supina por 10 minutos.¹⁶ História familiar de doença arterial coronariana (DAC) foi definida como um parente de primeiro grau com histórico de infarto do

miocárdio antes de 55 anos nos homens e 65 anos nas mulheres.¹⁶ Escore de Framingham foi aplicado para estimar o risco DAC no período de 10 anos e expresso em percentagem.¹⁶ Dislipidemia foi definida como níveis plasmáticos de lipoproteínas de alta densidade (HDL-c) <40mg/dL, colesterol total > 200 mg / dL, lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c) > 130mg/dL, triglicérides > 150 mg/dl ou tratamento com drogas antilipemiantes.¹⁶ Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) e todos os sujeitos assinaram um termo de consentimento informado.



Figura 1. Processo de seleção dos pacientes com síndrome antifosfolípide primária (SAFP) de acordo com o critério de Sapporo.

3.2. Exames laboratoriais

Amostra de sangue foi obtida de todos os pacientes depois de um jejum de 12 horas. Análise bioquímica e imunológica foi performada na mesma amostra de soro. Glicemia, ácido úrico, TSH, T4 livre e insulina foram também mensurados. Insulina foi mensurada pelo método imunofluorométrico e reportada como $\mu\text{U/mL}$.

Lipoproteína (a). Lp (a) foi measurada pelo método imunoturbidimétrico, usando um kit comercial (DiaSorin, Sallugia, Itália). A calibração do instrumento foi performada utilizando calibradores fornecidos pelo kit. Os níveis alterados foram aqueles maiores que 30 mg/dL.

Adipocitocinas. Foram mensuradas através de um painel personalizado onde 4 analitos foram dosados (leptina, adiponectina, resistina and inibidor do ativador do plasminogênio-1) utilizando a plataforma de tecnologia (Luminex® Multi-Analyte Profiling x MAP®, Massachusetts, USA). Visfatina foi analisada separadamente por ELISA, utilizando o kit *Visfatin C-terminal (Human) EIA* (Phoenix Pharmaceuticals, Inc. USA), seguindo as instruções do manufaturado. Variação intra-ensaio foi <10% e variação inter-ensaio <15%.

Análise imunológica. Anticorpos anticardiolipina (aCL) foram detectados utilizando um kit comercialmente disponível (*Enzyme Immunoassay Kit, BINDAZYME™*, Birmingham, UK). Os valores de corte foram baseados na análise de 102 amostras foram 11 GPL U/mL e 11 MGL U/mL. Os valores de corte foram: <11 GPL/MPL U/mL negativo, ≥ 11 and <20 GPL/MPL U/mL

indeterminado e ≥ 20 positivo.¹⁷ Anticoagulante lúpico (ACL) foi detectado utilizando tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPA-Diagnostica Stago, França) e tempo de veneno de víbora de Russel diluído (dRVVT-Trinity Biotech, Wiclow, Ireland, UK) de acordo com os *guidelines* internacionais.¹⁸ Os níveis de anti-beta-2-glicoproteína I (anti- β 2-GPI) IgM e IgG foram dosados por ELISA (ORG 521 Anti-beta-2-Glycoprotein I IgG/IgM Mainz, Alemanha), com valores de corte de 8 U/mL para IgM e para IgG, com variação intra-ensaio: 2.1-3.8% e variação inter-ensaio: 4.1-6.3 para IgM e variação intra-ensaio: 2.1-5.0% e variação inter-ensaio: 2.6-7.95 para IgG.

Perfil lipídico. Colesterol total (CT) e triglicérides (TG) foram medidos nas amostras de soro enzimaticamente (Boehringer-Mannheim, Argentina e Merck, Alemanha, respectivamente) num aparelho RA 1000 Analyser (Technicon Instruments Tarrytown, NY).^{19,20} O colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-c) foi obtido após precipitação do colesterol da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-c) do soro e do colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) através do ácido fosfotúngstico e cloreto de magnésio²¹ e níveis no soro foram determinados pelo método colorimétrico (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha). VLDL-c e LDL-c foram estimados, desde que todas as amostras tivessem níveis de triglicérides menores do que 400 mg/dL.²² Os níveis de VLDL-c foram determinados usando a relação dos níveis de triglicérides/5 (TG/5) e os níveis de LDL-c calculados usando a seguinte equação (22): $CT = HDL-c + TG/5 + LDL-c$.

Marcadores inflamatórios. PCR ultra sensível de todos os pacientes foram determinadas por nefelometria e resultados foram expressos em mg/L. Velocidade de hemossedimentação (VHS) foi avaliada utilizando o método de *Westergren* modificado e resultados foram expressados como mm/1^a hora.

3.3. Critério para síndrome metabólica

Pacientes com SAFP e controles foram classificados como tendo síndrome metabólica baseado no *International Diabetes Federation* (IDF).²³ O IDF definiu a SM, em 2005, como obesidade central definida como circunferência abdominal com valores específicos para etnia (circunferência abdominal >80 cm em mulheres e >90 em homens) mais dois dos quatro seguintes fatores: (1) glicemia em jejum >100 mg/dL ou diagnóstico prévio de diabetes tipo 2; (2) TG > 150 mg/d ou tratamento específico para esta anormalidade lipídica; (3) HDL <40 mg/dL em homens e <50 mg/dL em mulheres ou tratamento específico para esta anormalidade lipídica; (4) pressão arterial sistólica \geq 130 mm Hg e/ou diastólica \geq 85 mm Hg ou tratamento de hipertensão.²³ Com base no estudo *Inherited Risk of Coronary Atherosclerosis* (SIRCA), a presença de resistência insulínica foi definida pelo índice de HOMA-IR (*homeostasis model assessment*) > 2,114, que é representativo do topo do quartil superior de uma população não-diabética.²⁴

3.4. Análise estatística

Características clínicas e demográficas foram expressas como média \pm desvio padrão (DP) para variáveis contínuas ou como frequências e porcentagens para variáveis categóricas. Mediana (intervalo interquartis) foram calculados para variáveis contínuas não normalmente distribuídas. Comparações entre pacientes e controles, e também entre pacientes com e sem síndrome, foram avaliadas utilizando teste t de Student ou teste de Mann-Whitney para variáveis contínuas. Teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher para variáveis categóricas.

Correlações de Spearman foram utilizadas para avaliar a correlação entre adipocitocinas, fatores de risco cardiovascular e marcadores de inflamação.

Para determinar quais fatores foram independentemente associados com cada adipocitocina, as variáveis que apresentaram significância estatística na análise univariada foram incluídas num modelo de regressão linear multivariada. Foi realizada a verificação dos ajustes dos modelos pela análise de resíduos. Valores de *P* menores do que 0,05 foram considerados significantes. Todas as análises foram desenvolvidas com software estatístico (SPSS15.0, Chicago, USA).

4. RESULTADOS

Comparação entre pacientes e controles

Pacientes com SAFP e controles tinham similar idade ($39,8 \pm 10,9$ vs. $38,4 \pm 11,6$) anos, $P=0,50$), sexo feminino (82,1 vs. 82,0%, $P=0,94$) e raça branca (87,5 vs. 86,3%, $P=0,82$), respectivamente. Pacientes com SAFP apresentavam duração média da doença de 87,4 meses. Trombose arterial foi observada em 48,2% dos pacientes, AVC em 33,9%, trombose venosa em 67,9%, TVP em 53,6%, tromboembolismo pulmonar em 26,8%, eventos obstétricos em 39,3%, livedo reticular em 39,3%, trombocitopenia em 16,1% e angina 7,1% dos casos. Anticoagulante lúpico foi positivo em 78,6%, anticardiolipina IgG em 40,7%, anticardiolipina IgM em 16,7%, anti- β 2-GPI IgG em 33,9% e anti- β 2-GPI IgM em 16,1% (tabela 1). Maior frequência dos seguintes fatores de risco cardiovascular foi detectada em pacientes comparado aos controles: história familiar de DAC (30,4 vs. 2,8%, $P<0,001$), escore de Framingham [3 (1-5,8) vs. 1 (1-3) %, $P=0,007$], diabetes (7,1% vs. 0, $P=0,03$), hipertensão arterial sistêmica (32,1% vs. 0, $P<0,001$), IMC ($28,2 \pm 6,9$ vs. $23,7 \pm 3,0$ kg/m², $P<0,001$) e níveis mais baixo de HDL-c [48 (40-61) vs. 61 (49-69), $P<0,001$], respectivamente. TSH e T4 livre não diferiram entre pacientes e controles ($p>0,05$). Circunferência abdominal foi mais alta em pacientes com SAFP do que em controles ($91,4 \pm 16,3$ vs. $80,9 \pm 8,6$, $P<0,001$) assim como índice de HOMA-IR [1,6 (0,8-2,7) vs. 1,0 (0,7-1,5), $P=0,007$] e glicemia [82,0 (69,3-91,8) vs. 75,5 (67,0-82,8) mg/dL, $P=0,02$]. A prevalência de SM (IDF) foi significativamente mais alta em pacientes com SAFP do que no grupo controle (26,8 vs. 6,8%, $P=0,002$). Marcadores inflamatório como PCR [3,5 (0,9-7,4) vs. 2,5 (1,0-3,1) mg/L, $P=0,03$] e VHS [8,0 (5,0-14,0) vs. 6,0 (3,0-

8,0) mm/1^a hora), $P=0,002$] foram significativamente mais altos em SAFP em comparação aos controles (Tabela 2).

Tabela 1. Características clínicas e laboratoriais dos pacientes com SAFP

Características (%)	Pacientes com SAFP (n=56)
Manifestações Venosas	38 (67,9)
TVP	30 (53,6)
Embolia Pulmonar	15 (26,8)
Manifestações Arteriais	27 (48,2)
AVC	19 (33,9)
Oclusão Periférica	5 (8,9)
Angina	4 (7,1)
Livedo reticular	22 (39,3)
Trombocitopenia	9 (16,1)
Eventos Obstétricos	22 (39,3)
Anticorpos antifosfolípidos	
Anticoagulante lúpico	44 (78,6)
Anticardiolipina IgM	9 (16,7)
Anticardiolipina IgG	22 (39,3)
Anti- β 2-glicoproteína I IgM	9 (16,1)
Anti- β 2-glicoproteína I IgG	19 (33,9)

SAFP: síndrome antifosfolípide primária, TVP: trombose venosa profunda
AVC: acidente vascular cerebral, IAM: infarto agudo do miocárdio

Tabela 2. Características demográficas, fatores de risco cardiovascular, perfil lipídico, marcadores inflamatórios e adipocitocinas em pacientes com SAFP e controles

Características	Pacientes com SAFP (n=56)	Controles (n=72)	P
Características Demográficas			
Idade, anos	39,8 ±10,9	38,4 (11,6)	0,50
Sexo, n. (%feminino)	46 (82,1)	59 (82)	0,97
Raça branca, n. (%)	49 (87,5)	59 (86,3)	0,82
Duração da doença (meses)	87,41 ± 67,03		
Fatores de risco cardiovascular			
História de diabetes n. (%)	4 (7,1)	0	0,03
História de hipertensão n. (%)	18 (32,1)	0	<0,001
Obesidade n. (%)	16 (28,6)	3 (5,3)	<0,001
Dislipidemia n. (%)	25 (44,6)	33 (45,8)	0,89
Fumo n. (%)	7 (12,5)	9 (12,5)	1,00
IMC(kg/m ²)	28,2 ± 6,9	23,9 ± 3,18	<0,001
Circunferência abdominal (cm)	91,4 ± 16,3	80,9 ± 8,6	<0,001
HOMA-IR	1,6 (0,8-2,7)	1,0 (0,7-1,5)	0,01
Insulina (uU/mL)	8,3 (5-11,7)	5,3 (4,2-8,2)	0,02
Glicemia (mg/dL)	82 (69,3-91,8)	75,5 (67-82,8)	0,02
Ácido úrico (mg/dL)	4,6 (3,7-5,7)	4,3 (3,7-5)	0,28
SM (IDF) n. (%)	15 (26,8)	5 (6,8)	0,002
Perfil lipídico			
Triglicérides (mg/dL)	122,8 (72- 155,5)	89 (61,5-121,8)	0,06
Colesterol total (mg/dL)	185 (164,3-212,8)	190 (167,3-215,8)	0,39
HDL colesterol (mg/dL)	48 (40-61)	61 (49-69)	<0,001
LDL colesterol (mg/dL)	112 (90,5-140,8)	107,5 (86,3-137,5)	0,79
VLDL colesterol (mg/dL)	21 (14-31)	18 (12,5-23,5)	0,05
Lipoproteína (a) (mg/dL)	25(10-47)	14 (6,8-42,8)	0,28
Adipocitocinas			
Adiponectina (ug/mL)	17,6 (9,2-23,4)	13,5 (7,0-18,0)	0,10
Resistina (ng/mL)	16,0 (12,6-20,4)	14,5 (10,7-19,9)	0,23
Leptina (ng/mL)	21,5 (12,9-45,7)	12,1 (6,9-26,8)	0,001
Visfatina (ng/mL)	6,5 (5,5-7,4)	6,0 (5,0-8,5)	0,69
PAI-1 (ng/mL)	16,7 (13,2-21,3)	17,5 (12,7-20,8)	0,77
Marcadores inflamatórios			
PCR (mg/L)	3,5 (0,9-7,4)	2,5 (1,0-3,1)	0,03
VHS (mm/1st hora)	8,0 (5,0-14,0)	6,0 (3,0-8,0)	0,002

SAFP: síndrome antifosfolípide primária;IMC: índice de massa corporal;DAC: doença arterial coronariana, *Dentro dos próximos 10 anos, calculado utilizando a equação de risco de Framingham; HOMA-IR: homeostasis model assesment índice; SM:síndrome metabólica;IDF: Federação Internacional de Diabetes. HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade VLDL: lipoprotéina de muito baixa densidade; PCR:proteína C-reativa ; VHS: velocidade de hemossedimentação
Estudo apresentado como média ± desvio padrão ou porcentagens ou mediana (intervalo interquartil).

Adipocitocinas em pacientes com SAFP e controles

Concentrações de leptina [21,5 (12,9-45,7) vs. 12,1 (6,9-26,8) ng/mL], $P=0,001$] foram mais altas em pacientes com SAFP em relação aos controles. Nenhuma diferença significativa foi encontrada com as concentrações de adiponectina ($P=0,10$), resistina ($P=0,23$), visfatina ($P=0,69$) and PAI-1 ($P=0,77$) em ambos os grupos.

Correlação entre adipocitocinas, fatores de risco cardiovascular, inflamação e anticorpos antifosfolípides em SAFP

Níveis de adiponectina foram inversamente correlacionados ao IMC (0,28, $P=0,041$), VLDL-c ($r=-0,41$, $P=0,003$), triglicérides ($r=-0,43$, $P=0,001$) e HOMA-IR ($r=-0,36$, $P=0,010$), mas positivamente correlacionado ao HDL-c ($r=0,37$, $P=0,006$), aCL IgG ($r=0,41$, $P=0,002$), anti- β 2-GPI IgG ($r=0,31$, $P=0,02$) e anti- β 2-GPI IgM ($r=0,38$, $P=0,005$). Níveis de leptina foram positivamente correlacionado ao IMC ($r=0,61$, $P<0,001$), circunferência abdominal ($r=0,53$, $P<0,001$), glicemia ($r=0,50$, $P<0,001$), HOMA-IR ($r=0,71$, $P<0,001$), PAI-1 ($r=0,38$, $P=0,004$), PCR ($r=0,32$, $P=0,020$) e VHS ($r=0,28$, $P=0,041$). Níveis de PAI-1 foram positivamente correlacionados ao PCR ($r=0,32$, $P=0,0020$) e IMC ($r=0,29$, $P<0,05$), tendência com HOMA-IR ($r=0,28$, $P=0,050$) e negativamente correlacionado com aCL IgG ($r=-0,53$, $P<0,001$) e anti- β 2-GPI IgG ($r=-0,45$, $P<0,001$). Níveis de resistina foram inversamente correlacionados com lipoproteína (a) ($r=-0,44$, $P=0,001$) e os níveis de visfatina não foram correlacionados com nenhuma das variáveis metabólicas (Tabela 3 e figura 2).

Tabela 3. Correlação entre adipocitocinas, fatores de risco cardiovascular, marcadores inflamatórios e anticorpos antifosfolípides em pacientes com SAFP

	Adiponectina	Resistina	Leptina	Visfatina	PAI-1
Idade	-0,08	0,72	0,07	0,06	-0,03
Duração da doença (meses)	0,10	0,14	0,09	0,06	-0,16
IMC	-0,28‡	0,08	0,61†	-0,05	0,29‡
Circunferência abdominal	-0,22	0,16	0,53†	0,1	0,2
Pressão arterial sistólica	-0,15	0,07	0,17	0,0	-0,1
Pressão arterial diastólica	-0,04	0,11	0,00	0,18	-0,08
Glicemia (mg/dL)	-0,19	0,10	0,50‡	0,17	0,10
Colesterol total (mg/dL)	-0,17	-0,20	0,20	0,01	0,10
HDL-c (mg/dL)	0,37‡	-0,02	-0,08	-0,10	-0,16
LDL-c (mg/dL)	-0,22	-0,21	0,16	-0,01	0,10
VLDL-c (mg/dL)	-0,41‡	-0,07	0,20	0,06	0,25
Lipoproteína (a) (mg/dL)	-0,08	-0,44‡	0,00	-0,11	-0,05
Triglicérides (mg/dL)	-0,43 ‡	-0,13	0,21	0,10	0,26
Ácido úrico (mg/dL)	-0,16	-0,03	0,17	0,01	-0,11
Escore de Framingham	-0,18	-0,20	-0,03	0,11	-0,02
ESR (mm/1st hour)	0,10	0,10	0,28‡	0,12	0,08
PCR (mg/L)	-0,17	0,14	0,32‡	0,05	0,36‡
aCL IgG, GPL (U/mL)	0,41‡	0,19	-0,13	0,25	-0,53†
aCL IgM, MPL (U/mL)	0,16	0,13	-0,05	0,03	-0,13
Anti-β2GPI IgG (U/mL)	0,31‡	0,24	-0,19	0,14	-0,45†
Anti-β2GPI IgM (U/mL)	0,38‡	0,01	-0,15	-0,09	-0,08

IMC:Índice de massa corporal, HDL: lipoproteína de alta densidade, LDL: lipoproteína de baixa densidade, VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade, aCL: anticorpo anticardiolipina, Anti-β2GPI: anticorpo anti-beta-2-Glicoproteína I
†P<0,001
‡P<0,05

Síndrome Metabólica e adipocitocinas em SAFP

Mais baixas concentrações de adiponectina foram significativamente associada com a frequência de SM [16,0 (10,2-14,0) vs 25,1 (14,1-39,0), $P<0,042$], e mais altas concentrações de leptina e PAI-1 foram significativamente associadas com SM [45,1 (29,7-76,6) vs 17,0 (10,0-40,3), $P=0,002$] e [20,5 (16,2-23,8) vs 16,5 (11,4-20,5), $P= 0,030$], respectivamente (Tabela 4).

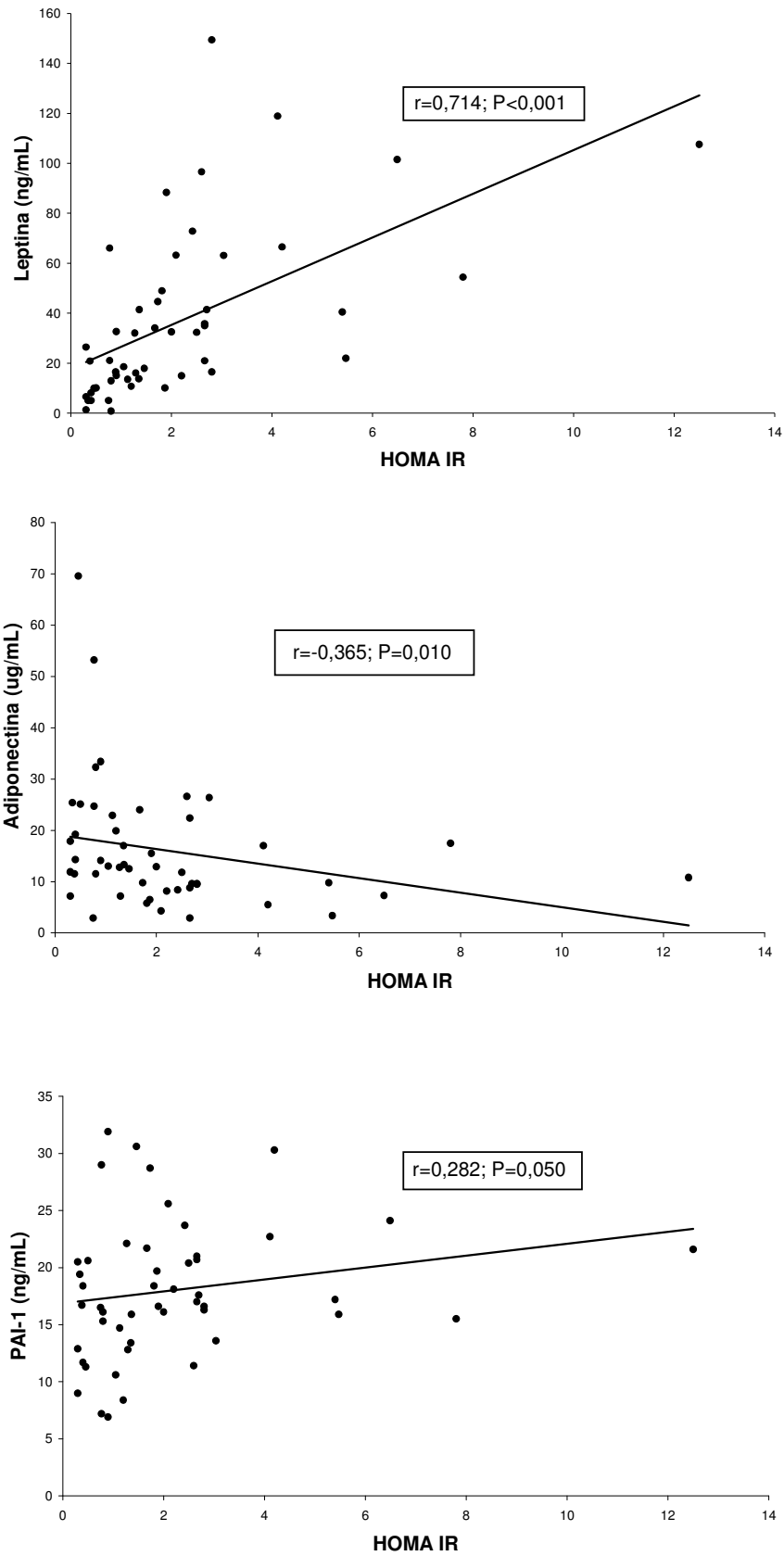


Figura 2. Correlação entre adipocitocinas e HOMA-IR índice em pacientes com SAPP.

Tabela 4. Associação entre adipocitocinas e pacientes com e sem síndrome metabólica

	Síndrome Metabólica		<i>P</i>
	Presente (n=15)	Ausente (n=41)	
Adiponectina (ug/mL)	10,2 (6,8-16,0)	14,1 (9,8-25,1)	0,042
Resistina (ng/mL)	13,9 (12,6-23,3)	16,0 (12,4-19,3)	0,928
Leptina (ng/mL)	45,1 (29,7-76,7)	17,0 (10,0-40,3)	0,002
Visfatina (ng/mL)	6,5 (5,5-7,5)	6,5 (5,5-7,2)	0,682
PAI-1 (ng/mL)	20,5 (16,5-23,8)	16,5 (11,4-20,5)	0,030

Teste de Mann-Whitney

Estudo apresentado como mediana (intervalo interquartis),

Associação entre eventos arteriais e adipocitocinas em pacientes com SAFP

Nenhuma diferença significativa foi encontrada em relação às concentrações de adiponectina ($P=0,09$), leptina ($P=0,11$), resistina ($P=0,23$), visfatina ($P=0,60$) e PAI-1 ($P=0,51$) em pacientes com e sem eventos arteriais (Tabela 5).

Tabela 5. Associação entre adipocitocinas e eventos arteriais em pacientes com SAFP.

	Síndrome Antifosfolípide Primária		<i>P</i>
	Eventos Arteriais (+) (n=27)	Eventos Arteriais (-) (n=29)	
Adiponectina (ug/mL)	17,5 (9,7-24,4)	11,7 (7,5-16,6)	0,09
Resistina (ng/mL)	16,3 (13,6-20,4)	13,7 (12,3-20,9)	0,23
Leptina (ng/mL)	33,3 (14,6-66,1)	20,9 (10,2-41,2)	0,11
Visfatina (ng/mL)	6,5 (5,5-7,5)	6,5 (5,5-7)	0,6
PAI-1 (ng/mL)	17 (13,1-23,1)	16,7 (13-20,3)	0,51

Estudo apresentado em mediana (intervalo interquartis)

Resistência insulínica, inflamação, síndrome metabólica, anticorpos antifosfolípides, dislipidemia e adipocitocinas em pacientes com SAFP.

No modelo de regressão linear multivariada, observamos que as variáveis que independentemente influenciam a adiponectina foram triglicérides (coeficiente=2,12, erro padrão=0,64, valor $t=3,33$, $P=0,002$), VLDL-c (coeficiente=-10,87, erro padrão=3,16, valor $t=0,001$) e anti- β 2GPI IgG (coeficiente=0,14, erro padrão=0,07, valor $t=2,09$, $P=0,042$). As variáveis que influenciam a leptina foram IMC (coeficiente=2,93, erro padrão=0,58, valor $t=5,05$, $P<0,001$), glicemia (coeficiente=-0,40, erro padrão=0,19, valor $t=-2,05$, $P=0,046$), HOMA-IR (coeficiente=7,43, erro padrão=1,79, valor $t=4,16$, $P<0,001$) e VHS (coeficiente=0,78, erro padrão=0,27, valor $t=2,89$, $P=0,006$) e as variáveis que influenciam PAI-1 foram PCR (coeficiente=0,39, erro padrão=0,15, valor $t=2,59$, $P=0,013$) e SM (coeficiente=3,46, erro padrão=1,74, valor $t=1,99$, $P=0,048$).

5. DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo a destacar a relação entre adipocitocinas e síndrome metabólica em pacientes com SAFP e sua associação com resistência insulínica e inflamação.

A inclusão de controles saudáveis, pareados por idade e sexo, foi uma condição necessária para uma acurada análise dos níveis das adipocitocinas visto que os níveis normais não são bem estabelecidos para esses hormônios⁹ e seus níveis parecem ser influenciados pelo sexo e idade.²⁵ Além disso, o estudo incluiu apenas pacientes com SAFP, devido ao fato de que o lúpus, por si só, pode estar associado a alterações nos níveis das adipocitocinas e esse fato dificultaria a interpretação dos resultados.^{13,26} A avaliação global, pela primeira vez em SAFP, de fatores de risco cardiovascular tradicionais e não-tradicionais, concomitantemente com cinco adipocitocinas, permitiu estabelecer uma distinção mais precisa do papel de cada um desses hormônios nas complicações metabólicas em pacientes com PAPS.

Outro fato relevante foi a constatação que as estatinas melhoram a função endotelial através da diminuição dos níveis de PAI-1 e de leptina²⁷⁻²⁹ e as glitazonas aumentam os níveis de adiponectina em pacientes diabéticos tipo 2³⁰, portanto, a exclusão de pacientes com estas terapias foi uma condição necessária para a adequada avaliação desses peptídeos bioativos.

Este estudo confirmou que pacientes com SAFP têm fatores de risco aumentado para DCV e traz uma nova observação que os níveis de leptina estão elevados em comparação aos controles. Em relação ao fato de este hormônio estar diretamente associado com propriedades aterogênicas e os níveis de leptina estarem relacionados com eventos cardiovasculares³¹, o

nosso achado confirma a noção de que esta adipocitocina pode ser um marcador adicional para DCV em SAFP. A associação observada entre a leptina, o IMC e a circunferência abdominal é provavelmente explicada pela resistência à leptina, condição que prejudica a saciedade, aumenta a capacidade de armazenar gordura e diminui a sua oxidação.³¹ Também se demonstrou que pacientes com SAFP são mais inflamados do que os controles e esse fato pode contribuir para a resistência à leptina aumentada nesses pacientes. Neste sentido, estudos recentes observaram que a PCR inibe diretamente a ligação da leptina ao seu receptor, alterando a sinalização celular e levando à resistência à leptina.^{31,32} A possível interface entre metabolismo e inflamação na patogênese das doenças cardiometabólicas é também salientada pelas evidências experimentais de que a leptina aumenta a expressão de PCR e a esta, por sua vez, pode antagonizar a ação da leptina.³¹ No lúpus eritematoso sistêmico (LES), a leptina está aumentada e fortemente associada com eventos coronarianos e com marcadores inflamatórios elevados.¹³ Além disso, os níveis de leptina têm sido relatados como diretamente correlacionados com marcadores inflamatórios e atividade da doença em pacientes com artrite reumatóide.³³

A leptina pode ser pró-trombótica, promovendo agregação plaquetária e, conseqüentemente, trombose arterial.³¹ Entretanto, mais altos níveis deste hormônio nos pacientes com eventos arteriais não alcançou significância estatística. Uma provável justificativa para essa discrepância foi a evidência de eventos arteriais pregressos ao momento da dosagem desse hormônio. Entretanto, demonstrou-se uma correlação positiva entre a leptina e PAI-1 como mecanismo possível para trombose mediada pela leptina.³¹ Reforçando

estes achados, os níveis de leptina são positivamente correlacionados com o PAI-1³⁴, fibrinogênio³⁵ e fator de von Willebrand³⁵ e negativamente correlacionados com ativador do plasminogênio tecidual.³⁶

A avaliação dos pacientes com SAFP com e sem SM revelou aumento dos níveis de leptina no grupo com SM. Glicemia, IMC e HOMA-IR foram fatores independentes associados a essa citocina, reforçando a observação de que esses fatores de risco para DAC podem elevar o risco trombótico específico associado a SAF e isso sugere que pacientes com SAFP e SM apresentam morbidade cardiovascular adicional, que é maior do que o risco associado com cada componente individual.³⁷

Os anticorpos antifosfolípides estão associados com manifestações cardiovasculares, incluindo aterosclerose acelerada.^{38,39} Exercem efeitos pró-inflamatórios e pró-coagulantes diretamente nas células endoteliais, e os componentes imunes e inflamatórios da trombose auto-anticorpo mediada pode jogar um papel indireto na aterogênese.³⁹ Em nosso estudo, observamos correlação entre os valores dos aFL e adipocitocinas. Apesar da adiponectina ser anti-aterogênica e vasculoprotetora, os anticorpos antifosfolípides como a anti-β2GPI IgG foram fatores independentes associados com a adiponectina, sugerindo que fatores adicionais relacionam com o envolvimento vascular mediado por autoanticorpos ou alteram a relação entre adipocitocinas e aFL na SAFP.

A adiponectina atua como um agente sensibilizador de insulina⁹ e baixas concentrações de adiponectina favorecem o desenvolvimento de diabetes mellitus, hipertensão e dislipidemia, e isso predispõe a aterosclerose. No presente estudo, a adiponectina apresenta correlação inversa com o IMC,

VLDL-c, triglicérides e índice de HOMA e correlação positiva com o HDL-c, achado semelhante ao observado na população de alto risco cardiovascular^{40,41} e em pacientes com LES.^{13,26} Sustentando esta noção, baixos níveis de adiponectina foram encontrado em pacientes com SM.

O presente estudo demonstrou maiores níveis de PAI-1 em pacientes com SM e também observou correlação positiva entre a PAI-1 e inflamação, IMC e resistência insulínica. A obesidade é o motor central da SM, que também inclui redução da fibrinólise.⁴² Por isso, níveis aumentados de PAI-1, o principal inibidor da serina protease, que inibe a fibrinólise, pode ser um componente da síndrome metabólica. Reforçando esses achados, SM foi independentemente associada ao PAI-1. Curiosamente, recentes estudos *in vitro* e *in vivo* mostraram que, além de seu papel na aterotrombose, PAI-1 também está envolvido no desenvolvimento do tecido adiposo e no controle da sinalização da insulina nos adipócitos.⁴² Estes resultados sugerem que os inibidores de PAI-1 podem ser um biomarcador substituto para doença de risco cardiometabólico.⁴³

6. CONCLUSÃO

Essa nova descoberta de níveis alterados das adipocitocinas associadas com SM, obesidade, inflamação e resistência insulínica em pacientes com SAFP oferece uma link adicional para uma melhor compreensão desta doença vascular aterotrombótica autoimune-mediada. Futuros estudos serão necessários para avaliar se essas citocinas serão marcadores úteis para determinar essas complicações metabólicas na prática clínica.

7. ANEXOS

AVALIAÇÃO DE SÍNDROME METABÓLICA EM PACIENTES COM SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPÍDE PRIMÁRIA

Ambulatório de Reumatologia
Hospital das Clínicas
Faculdade de Medicina
Universidade de São Paulo

Etiqueta

Idade: _____ Telefone: _____

Tempo de Doença(meses): _____

Cor: Branca. Preta. Amarela. Outra.

Sexo: Masculino. Feminino.

Medidas Antropométricas:

Peso: _____ Altura: _____ IMC: _____

Cintura abdominal: _____ Circunferência cervical: _____

Exame Físico:

PA: _____ AC: _____ AP: _____

Exames laboratoriais:

FAN: Sim. Não. padrão: _____ Anti-dsDNA: Sim. Não. Título: _____

Anti-Ro/SS-A: Sim. Não. Anti-La/SS-B: Sim. Não.

Anti-Sm: Sim. Não. Anti-U1RNP: Sim. Não.

Anti-coagulante lúpico: Sim. Não.

Anticardiolipina (aCL): Sim. Não. IgG: _____ IgM: _____

Glicemia de jejum: _____ Ácido úrico: _____

Triglicérides: _____

Colesterol total: _____ HDL: _____ LDL: _____ VLDL: _____

Lipoproteína (a): _____ Homocisteína: _____ Insulina: _____

B2-Glicoproteína-1: _____ Leptina: _____

Adiponectina: _____ PAI-1: _____

PCR: _____ VHS: _____

Dados Clínicos:

Plaquetopenia: Sim. Não.

Evento Arterial: Sim. Não.

Evento Venoso: Sim. Não.

Evento Obstétrico: Sim. Não.

Livedo Reticular: Sim. Não.

AVC Sim. Não.

Síndrome de Sneddon Sim. Não.

TVP Sim. Não.

TEP Sim. Não.

Angina Sim. Não.

IAM Sim. Não.

Isquemia de extremidades Sim. Não.

Co-morbidades:

HAS

Tireoideopatia

DM

Sedentarismo

Tabagismo atual .Tempo? _____

Tabagista pregresso. Tempo? _____

Medicação:

Uso atual de corticóide: Sim. Não

Dosagem: _____

Uso prévio de corticóide: Sim. Não

Dosagem: _____

Uso de cloroquina: Sim. Não

Uso atual de ácido acetilsalicílico: Sim. Não

Uso de anti-hipertensivos: Sim. Não

Uso de marevan(warfarin): Sim. Não

Dosagem: _____

Uso de heparina(enoxaparina): Sim. Não

Uso de estatinas: Sim. Não

Uso de fibratos: Sim. Não

Outras drogas: _____

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. **NOME:**

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº

APTO:

BAIRRO: **CIDADE**

CEP:..... **TELEFONE:** DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

.....
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....**SEXO:** M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº **APTO:**

BAIRRO: **CIDADE:**

CEP: **TELEFONE:** DDD(.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA . **AVALIAÇÃO DE SÍNDROME
METABÓLICA(SM) EM PACIENTES COM SÍNDROME
ANTIFOSFOLÍPIDE(SAF) PRIMÁRIA**

PESQUISADOR : .. Dr. Carlos Ewerton Maia Rodrigues e Dr. Jozélio Freire de Carvalho
.....

CARGO/FUNÇÃO: ...médicos assistentes..... **INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº** ..8544 (CEMR)
e 91788 (JFC).....

UNIDADE DO HCFMUSP: Departamento de Clínica Médica : Reumatologia – FMUSP

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO X

RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO

RISCO MAIOR

4.DURAÇÃO DA PESQUISA : ...DOIS ANOS.....

1 – Desenho do estudo e objetivo(s) “essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que visa pesquisar a prevalência de síndrome metabólica, que é caracterizada pelo aumento da cintura adominal e pressão arterial associada a glicemia de jejum alterada e aumento de triglicérides e HDL colesterol, em pacientes com síndrome antifosfolípide primária.

2 – Descrição dos procedimentos que serão realizados, com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros; será coletada uma amostra de sangue de 5 mL do seu braço para a pesquisa de exames bioquímicos, imunológicos e endocrinológicos que incluem(perfil lipídico,glicemia em jejum , ácido úrico, insulina basal, leptina, adiponectina, homocisteína, lipoproteína a, anticardiolipina, anticoagulante lúpico, anticorpo antinuclear(FAN), anti-DNA ,anti-Ro(SSA), anti-La(SSB), VHS e PCR) que será realizada no Laboratório de Imunologia Humoral (LINM 17) da Reumatologia do HC-FMUSP.

3 – Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados – coleta de sangue por punção periférica da veia do antebraço, para o exame acima descrito. Avaliação global de cada paciente que constará da avaliação do peso, pressão arterial em repouso, altura, cintura abdominal e índice de massa corporal .

4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3; dor e arroxamento eventuais no local da punção para coleta do exame de sangue.

5 – Benefícios para o participante : Não há benefício direto para o participante, pois trata-se de estudo clínico-laboratorial testando a prevalência de síndrome metabólica em pacientes com síndrome antifosfolípide primária acompanhados no Ambulatório de Síndrome Antifosfolípide da Disciplina de Reumatologia da Universidade de São Paulo.

6 – Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar; não há.

7 – Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr Carlos Ewerton Maia Rodrigues e Dr Jozélio Freire Carvalho. que pode ser encontrado no endereço (rua dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155, 5 andar, blocos 4B-Ambulatório de Reumatologia) Telefone(s) .3069-6384 Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato

com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

8 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

09 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;

10 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

11 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

12 - Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo”.....”
Eu discuti com os Drs. Carlos Ewerton Maia Rodrigues e Dr. Jozélio Freire de Carvalho. sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal

Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha

Data ____ / ____ / ____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data ____ / ____ / ____

8. REFERÊNCIAS

1. de Groot PG, Derksen RH, de Laat B. Twenty-two years of failure to set up undisputed assays to detect patients with the antiphospholipid syndrome. *Semin Thromb Hemost* 2008;**34**:347-55.
2. Medina G, Gutiérrez-Moreno AL, Vera-Lastra O, Saavedra MA, Jará LJ. Prevalence of metabolic syndrome in primary antiphospholipid syndrome patients. *Autoimmun Rev* 2011;**10**:214-7
3. Shoenfeld Y, Gerli R, Doria A, Matsuura E, Cerinic MM, Ronda N, et al. Accelerated atherosclerosis in autoimmune rheumatic diseases. *Circulation* 2005;**112**:3337-47.
4. Medina G, Casaos D, Jara LJ, Vera-Lastra O, Fuentes M, Barile L, et al. Increased carotid artery intima-media thickness may be associated with stroke in primary antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis* 2003;**62**:607-10.
5. Sacré K, Brihaye B, Hyafil F, Serfaty JM, Escoubet B, Zennaro MC, et al. Asymptomatic myocardial ischemic disease in antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum* 2010;**62**:2093-100 .
6. Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, Shimomura I. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arteriocler Thromb Vasc Biol* 2004;**24**:29-33.
7. Whitehead JP, Richards AA, Hickman IJ, Macdonald GA, Prins JB. Adiponectin- a key adipokine in the metabolic syndrome. *Diabetes Obes Metab* 2006;**8**:264-80.
8. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2004;**23**:416-20.

9. Guzik TJ, Mangalat D, Korbust R. Adipocytokines – novel link between inflammation and vascular function. *J Physiol Pharmacol* 2006; **57**: 505–28.
10. Lago F, Dieguez C, Gomez-Reino J, Gualillo O. The emerging role of adipokines as mediators of inflammation and immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev* 2007; **18**: 313–25.
11. Chung CP, Avalos I, Oeser A, Gebretsadik T, Shintani A, Raggi P, et al. High prevalence of the metabolic syndrome in patients with systemic lupus erythematosus: association with disease characteristics and cardiovascular risk factors. *Ann Rheum Dis* 2007; **66**:208-14.
12. Maahs DM, Ogden LG, Kinney GL, Wadwa P, Snell-Bergeon JK, Dabelea D, et al. Low plasma adiponectin levels predict progression of coronary artery calcification. *Circulation* 2005; **111**:747–53.
13. Chung CP, Long AG, Solus JF, Rho YH, Oeser A, P Raggi P, et al. Adipocytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to inflammation, insulin resistance and coronary atherosclerosis. *Lupus* 2009; **18**:799–806.
14. Rho YH, Chung CP, Solus JF, Raggi P, Oeser A, G Tebeb, et al. Adipocytokines, insulin resistance, and coronary atherosclerosis in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2010; **62**:1259-64.
15. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum* 1999; **42**:1309-11

16. National Cholesterol Education Program. Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001;**285**:2486-97.
17. Haris EN, Pierangeli S, Birch D. Cardiolipin Wet Workshop report. *Am J Clin Path* 1994, **101**:616-24
18. Wisloff F, Jacobsen EM, Liestol S. Laboratory diagnosis of the antiphospholipid syndrome. *Thromb Res* 2002;**108**:263-71.
19. Siedel J, Hagele EO, Ziegenhorn J, Wahlefeld AW. Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency. *Clin Chem* 1983;**29**:1075–80.
20. Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem* 1982;**28**:2077–80.
21. Warnick GR, Cheung NC, Albers JJ. Comparison of current methods for high density lipoprotein cholesterol quantification. *Clin Chem* 1979;**25**:596–604.
22. Friedwald 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**:499–502.
23. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A consensus statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 2006;**23**:469–80
24. Reilly MP, Wolfe ML, Rhodes T, Girman C, Mehta N, Rader DJ. Measures of insulin resistance add incremental value to the clinical diagnosis of metabolic

- syndrome in association with coronary atherosclerosis. *Circulation* 2004;**110**:803–9.
25. Cicero AF, Magni P, Lentini P, Ruscica M, Dozio E, Strollo F, et al. Sex hormones and adipokines in healthy pre-menopausal, post-menopausal and elderly women, and in age-matched men: data from the Brisighella Heart Study. *J Endocrinol Invest*. 2010 Dec 15. [Epub ahead of print].
26. Sada KE, Yamasaki Y, Maruyama M, Sugiyama H, Yamamura M, Maeshima Y, et al. Altered levels of adipocytokines in association with insulin resistance in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2006; **33**: 1545–52.
27. Laumen H, Skurk T, Hauner H. The HMG-CoA reductase inhibitor rosuvastatin inhibits plasminogen activator inhibitor–1 expression and secretion in human adipocytes. *Atherosclerosis* 2008; **196**:565-73
28. Katera ALA, Batista MC, Ferreira SRG. Improved endothelial function with simvastatin but unchanged insulin sensitivity with simvastatin or ezetimibe. *Metabolism Clinical and Experimental* 2010;**59**: 921–26.40.
29. Sun YM, Li J, Luan Y, Wang LF. Effect of statin therapy on leptin levels in patients with coronary heart disease. *Peptides* 2010;**31**:1205-7.
30. Miyazaki Y, DeFronzo RA. Rosiglitazone and pioglitazone similarly improve insulin sensitivity and secretion, glucose tolerance and adipocytokines in type 2 diabetic patients. *Diabetes obes Metab* 2008;**10**:1204-11.

31. Martin SS, Qasim A, Reilly MP. Leptin resistance- a possible interface of inflammation and metabolism in obesity-related cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2008;**52** :1201-10.
32. Chen K, Li F, Li J, Cai H, Strom S, Bisello A, et al. Induction of leptin resistance through direct interaction of C-reactive protein with leptin. *Nat Med* 2006; **12**: 425– 32.
33. Bokarewa M, Bokarew D, Hultgren O, Tarkowski A. Leptin consumption in the inflamed joints of patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003;**62**:952-6.
34. De Mitrio V, De Pergola G, Vettor R, Marino R, Sciaraffia M, Pagano C, et al. Plasma plasminogen activator inhibitor-I is associated with plasma leptin irrespective of body mass index, body fat mass, and plasma insulin and metabolic parameters in premenopausal women. *Metabolism* 1999;**48**:960–4.
35. Chu NF, Spiegelman D, Hotamisligil GS, Rifai N, Stampfer M, Rimm EB. Plasma insulin, leptin, and soluble TNF receptors levels in relation to obesity-related atherogenic and thrombogenic cardiovascular disease risk factors among men. *Atherosclerosis* 2001;**157**: 495–503.
36. Skurk T, van Harmelen V, Lee YM, Wirth A, Hauner H. Relationship between IL-6, leptin and adiponectin and variables of fibrinolysis in overweight and obese hypertensive patients. *Horm Metab Res* 2002;**34**:659–63.
37. Reilly MP, Rader DJ. The metabolic syndrome: more than the sum of its parts? *Circulation* 2003;**108**:1546-51.

38. Kaplan SD, Chatash EK, Pizzarello RA, Furie RA. Cardiac manifestations of the antiphospholipid syndrome. *Am Heart J* 1992;**124**:1331-8.
39. Shoenfeld Y, Harats D, George J. Atherosclerosis and the antiphospholipid syndrome: a link unravelled? *Lupus* 1998;**7**:140-3.
40. Stenholm S, Koster A, Alley DE, Visser M, Maggio M, Harris TB, et al. Adipocytokines and the metabolic syndrome among older persons with and without obesity: the InCHIANTI study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010;**73**:55-65.
41. Cnop M, Havel PJ, Utzschneider K M, Carr DB, Sinha MK, Boyko EJ, et al. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia* 2003;**46**:459–69.
42. Schalkwijk CG, Stehouwer CD. PAI-1 inhibition in obesity and the metabolic syndrome: a promising therapeutic strategy. *Thromb Haemost* 2006; **96**: 698–9.
43. Alessi MC, Juhan-Vague I. PAI-1 and the metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*.2006;**26**:2200-7.

APÊNDICE

Adipocytokines in primary antiphospholipid syndrome: potential markers of inflammation, insulin resistance and metabolic syndrome

Carlos Ewerton Maia Rodrigues, Margarete B Vendramini, Cleonice Bueno, Eloisa Bonfá, Jozélio Freire de Carvalho

Rheumatology Division, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, Brazil

E Bonfa and JF Carvalho received grants from the Federico Foundation, FAPESP (2009/14784-8) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ #300665/2009-1 to JFC and #301411/2009-3 to EB)

Address for correspondence:

Dr. Jozélio Freire de Carvalho

Disciplina de Reumatologia da FMUSP

Av. Dr. Arnaldo, 455, 3º andar, sala 3190, São Paulo – SP, Brazil

01246-903

Tel/Fax: 5511-3061-7490

E-mail: jotafc@gmail.com

ABSTRACT

Objective: Primary antiphospholipid syndrome (PAPS) is associated with accelerated atherosclerosis. This study was undertaken to evaluate a possible association of adipocytokines with metabolic syndrome (MetS), inflammation and other cardiovascular risk factors in PAPS. **Methods:** Fifty-six PAPS patients and 72 age- and gender-matched healthy controls were included. Sera samples were tested for adiponectin, leptin, visfatin, resistin, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), lipoprotein (a), glucose, insulin, ESR, CRP, uric acid and lipid profiles. MetS was defined according to the guidelines of the International Diabetes Federation (IDF), and insulin resistance was established using the homeostasis model assessment (HOMA) index. **Results:** Concentrations of leptin [21.5 (12.9-45.7) vs. 12.1 (6.9-26.8) ng/mL, $P=0.001$] were higher in PAPS than in controls. In PAPS, leptin and PAI-1 levels were positively correlated with BMI ($r=0.61$ and 0.29), HOMA-IR ($r=0.71$ and 0.28) and CRP ($r=0.32$ and 0.36). Adiponectin was negatively correlated with BMI ($r=-0.28$), triglycerides ($r=-0.43$) and HOMA-IR index ($r=-0.36$) and positively correlated with HDL ($r=0.37$) and anti- β 2GPI IgG ($r=0.31$). Further analysis of patients with and without MetS revealed a positive association of the syndrome with leptin ($P=0.002$) and PAI-1 ($P=0.03$) and a negative association with adiponectin ($P=0.042$). In the multivariate linear regression model, the variables that independently influence the adiponectin were triglycerides ($P<0.001$), VLDL-c ($P=0.002$) and anti- β 2GPI IgG ($P=0.042$), leptin were BMI ($P<0.001$), glucose ($P=0.046$), HOMA-IR index ($P<0.001$) and ESR ($P=0.006$) and PAI-1 were CRP ($P=0.013$) and MetS ($P=0.048$). **Conclusion:** The findings of the

present study provide evidence that adipocytokines may be involved in inflammation, insulin resistance and MetS in PAPS patients.

INTRODUCTION

Antiphospholipid syndrome (APS) is an autoimmune thrombophilic condition characterized by venous and/or arterial thromboses associated or not with pregnancy complications in the presence of antiphospholipid antibodies (aPL) (1). APS is associated with higher rates of cardiovascular disease (CVD), in part due to accelerated atherosclerosis (2). This phenomenon is the result of traditional cardiovascular risk factors but the contribution of autoimmune and inflammatory processes have been increasingly recognized (3,4). In this regard, Sacré et al. (5) showed that the prevalence of occult myocardial ischemia was more than 7 times higher in patients with APS compared to controls, despite the low cardiovascular risk events, as calculated using the Framingham risk equation.

Among these emergent factors, adipose tissue has endocrine functions and is the main source of several mediators, named adipocytokines. These substances have been recognized as a key regulators of insulin sensitivity and are powerful predictors for the development of metabolic syndrome (MetS) (6,7) due to their active participation in the regulation of physiologic and pathologic processes, including immunity and inflammation (8). Although adipocytokines play a key role in the interface between obesity, inflammation, insulin resistance and atherosclerosis, the exact nature and relative contribution of adipocytokines as potential markers warrants investigation in primary antiphospholipid syndrome (PAPS). In fact, leptin, resistin, visfatin and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) have pro-inflammatory and atherogenic properties and are associated with insulin resistance (IR) (9, 10).

On the other hand, adiponectin has anti-diabetic, anti-inflammatory and anti-atherogenic effects (11,12).

Recently, a study observed that patients with systemic lupus erythematosus have increased levels of adiponectin, leptin and visfatin and also lower concentrations of adiponectin and higher concentrations of leptin are associated with IR, body mass index (BMI) and C-reactive protein (CRP) (13). In patients with rheumatoid arthritis (RA), leptin is associated with insulin resistance but paradoxically attenuates the effects of insulin resistance on coronary calcification (14).

No current data are available regarding the association between adipocytokines in patients with PAPS in spite of the recent report of a high prevalence of MetS in these patients (2).

The objective of this study was therefore to examine the hypothesis that adipocytokines levels are altered in patients with PAPS compared to healthy controls and to evaluate a possible association of adipocytokines with inflammation, MetS, PAPS characteristics and other cardiovascular risk factors.

PATIENTS AND METHODS

Patients. A cross-sectional study was conducted including fifty-six adults patients with PAPS (Sapporo criteria) (15) followed-up at Antiphospholipid Outpatient Clinic of the Rheumatology Division of Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo from August 2009 to July 2010. Seventy-two age- and sex-matched healthy individuals from the community composed the control group (Figure 1). All participants underwent clinical evaluation with standardized interviews and all medical charts were extensively reviewed. A blood sample after a 12-hour fasting period was also collected at the time of the study. Exclusion criteria were the presence of secondary APS, age under 18 years and/or the use of drugs that may interfere with adipocytokine levels such as statins, insulin and glitazones. The following clinical parameters were evaluated: venous thrombosis (documented deep vein thrombosis and/or pulmonary embolism); arterial thrombosis (clinically documented stroke, transient ischaemic attacks or acute myocardial infarction); livedo reticularis; thrombocytopenia (< 100,000 platelets on at least in two distinct occasions); recurrent spontaneous abortions; and "in uterus" fetal loss. BMI was calculated based in the following formula: weight/height^2 (kg/m^2) and waist circumference was also measured. Obesity was defined by $\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ (16). Blood pressure was determined as the average of two measurements that was recorded 5 min apart after subjects had rested in a supine position for 10 min. Family history of premature coronary artery disease (CAD) was defined as a first-degree relative with a history of myocardial infarction before the age of 55 years in

men or 65 years in women (16). Framingham risk score was applied in order to estimate the 10-year risk for CAD and was expressed as percentage (16). Dyslipidemia was defined as plasma high-density lipoprotein cholesterol < 40mg/dL, total cholesterol > 200 mg/dL, low-density cholesterol > 130mg/dL, triglycerides > 150 mg/dL or drug treatment for elevated LDL or TG (16). This study was approved by the Ethics Committee and all subjects signed an informed consent.

Laboratory evaluation. Immunological and biochemical analysis were performed using the same serum samples. Glucose, uric acid, TSH, free T4 and insulin were also measured. Insulin levels were measured using an immunofluorometric assay and reported as $\mu\text{U/mL}$.

Lipoprotein (a). Lp (a) was measured by immunoturbidimetric technique, using a commercial kit (DiaSorin, Sallugia, Italy). The instrument calibration was performed using calibrators supplied by the kit. The levels of change were defined as those greater than 30 mg/dL.

Adipocytokines. Adipocytokines were measured through a personalized panel where four analytes were assayed (leptin, adiponectin, resistin and plasminogen activator inhibitor-1) using a multiplexed biomarker immunoassay technology (Luminex[®] Multi-Analyte Profiling x MAP[®], Massachusetts, USA). Visfatin was analyzed separately by enzyme immunoassay, using the Visfatin C-terminal (Human) EIA kit (Phoenix Pharmaceuticals, Inc. USA) following the manufacturer's instructions. Intra-assay variation was <10% and inter-assay variation was <15%.

Serum immunologic analysis. Anticardiolipin antibodies were detected using ELISA with a commercially available kit (Enzyme Immunoassay Kit, BINDAZYME™, Birmingham, UK). The normal cutoffs based on an assay of 102 samples have been determined to be 11 GPL U/mL and 11 MGL U/mL. The cutoff values were as follows: <11 GPL/MPL U/mL negative, ≥11 and <20 GPL/MPL U/mL indeterminate and ≥20 GPL/MPL U/mL positive (17). Lupus anticoagulant (LAC) was detected using activated partial thromboplastin time (APTT-Diagnostica Stago, France) and diluted Russel's viper venom time (dRVVT-Trinity Biotech, Wiclow, Ireland, UK) according to international guidelines (18). Serum IgG and IgM anti-beta-2-glycoprotein I were detected using the ELISA technique (ORG 521 Anti-beta-2-Glycoprotein I IgG/IgM Mainz, Germany) with cutoff values of 8 U/mL for IgM and for IgG with intra-assay variation: 2.1-5.0%; inter-assay variation: 2.6-7.95 to IgG and intra-assay variation: 2.1-3.8%; inter-assay variation: 4.1-6.3 to IgM .

Lipid profiles. Total cholesterol and triglycerides in serum samples were measured enzymatically (Boehringer Mannheim, Buenos Aires, Argentina, and Merck, Hohenbrunn, Germany, respectively) on a Technicon RA 1000 Analyzer (Technicon Instruments, Tarrytown, NY) (19,20). HDL cholesterol was obtained after precipitation of VLDL cholesterol from the serum, LDL cholesterol was isolated using phosphotungstic acid and magnesium chloride (21) and serum levels were determined using the colorimetric method (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Levels of VLDL cholesterol and LDL cholesterol were estimated, because all samples had a triglyceride level of

<400 mg/dl (24). VLDL cholesterol levels were determined using the triglyceride level/5 ratio (TG/5) (22), and LDL cholesterol levels were estimated using the following equation (22): total cholesterol = HDL + TG/5 + LDL.

Inflammation markers. High-sensitive CRP levels of all patients were determined by nephelometry and the results were expressed in mg/L. Erythrocyte sedimentation rates (ESR) were evaluated using the modified Westergren method, and results were expressed as mm/1st hour.

Metabolic syndrome definitions. Patients with PAPS and controls were classified as having the metabolic syndrome based on the criteria of the International Diabetes Federation (IDF) (23). The IDF definition defined the MS in 2005 as follows: central obesity, defined as a waist circumference with ethnicity-specific values (waist circumference > 80 cm in women and >90 cm in men) plus any two of the following four factors: (1) fasting glucose >100 mg/dL or previously diagnosed type 2 diabetes; (2) fasting TG > 150 mg/d or specific treatment for this dyslipidemia; (3) HDL <40 mg/dL in men and <50 mg/dL in women or a specific treatment for this dyslipidemia; or (4) systolic blood pressure (BP) \geq 130 mm Hg and/or diastolic BP \geq 85 mm Hg or treatment for previously diagnosed hypertension (23). Based on the study of Inherited Risk of Coronary Atherosclerosis (SIRCA) data (24), the presence of insulin resistance was defined by homeostasis model assessment (HOMA) index > 2.114 that is representative of the top quartile of a non-diabetic population.

Statistical analysis

Demographics and clinical characteristics are expressed as mean \pm standard deviation (SD) for continuous variables or as frequencies and percentages for categorical variables. Median (interquartile range) was calculated for continuous variables not normally distributed. Comparisons between patients and controls as well as patients with and without MetS were made using Student's t-test or the Mann–Whitney test for continuous variables. Pearson's chi-squared test or Fisher's exact test were used for categorical variables.

We used Spearman correlations to examine the association between adipocytokines, cardiovascular risk factors and markers of inflammation. To determine which factors were independently associated with each adipocytokine, the variables that were significant in the univariate analysis were included in the multivariate linear regression model. It was performed to check the adjustments of the models using the residual analysis. *P* values less than 0.05 were considered significant. All analyses were performed using statistics software (SPSS15.0, Chicago, USA).

Results

Comparison between patients and controls

Patients with PAPS and control subjects were comparable in terms of age (39.8 ± 10.9 vs. 38.4 ± 11.6 years, $P=0.50$), sex (82.1 vs. 82.0% female, $P=0.97$) and race (87.5 vs. 86.3% Caucasian, $P=0.82$), respectively. Arterial thrombosis was observed in 48.2% of the patients, stroke in 33.9%, venous thrombosis in 67.9%, deep venous thrombosis in 53.6%, pulmonary thromboembolism in 26.8%, obstetric events in 39.3%, livedo reticularis in 39.3%, thrombocytopenia in 16.1% and angina 7.1% of the cases. LAC positivity was observed in 78.6% of patients, IgG anticardiolipin in 40.7%, IgM anticardiolipin in 16.7%, IgG anti- $\beta 2$ -GPI in 33.9% and IgM anti- $\beta 2$ -GPI in 16.1%.

Higher frequencies of the following cardiovascular risk factors were detected more often in patients compared to controls: family history of CAD (30.4 vs. 2.8%, $P<0.001$), Framingham score [3 (1-5.8) vs. 1 (1-3) %, $P=0.007$], diabetes (7.1% vs. 0, $P=0.03$), systemic arterial hypertension (32.1% vs. 0, $P<0.001$), BMI (28.2 ± 6.9 vs. 23.9 ± 3.18) kg/m², $P<0.001$] and lower HDL-c levels [48 (40-61) vs. 61 (49-69), $P<0.001$]. Waist circumference was higher in PAPS patients than in controls (91.4 ± 16.3 vs. 80.9 ± 8.6), $P<0.001$] as well as HOMA index [1.6 (0.8-2.7) vs. 1.0 (0.7-1.5), $P=0.01$], and glucose levels [82.0 (69.3-91.8) vs. 75.5 (67.0-82.8) mg/dL, $P=0.02$]. TSH and free T4 did not differ between patients and controls ($p>0.05$). The prevalence of MetS (IDF) was significantly higher in the PAPS group than in the control group (26.8 vs. 6.8%, $P=0.02$). Inflammatory markers such as CRP [3.5 (0.9-7.4) vs. 2.5 (1.0-3.1) mg/L, $P=0.03$] and ESR [8.0 (5.0-14.0) vs. 6.0 (3.0-8.0)

mm/1st hour), $P=0.002$] were significantly higher in the PAPS group relative to the control group (Table 1).

Adipocytokines in patients with PAPS and controls

Concentrations of leptin [21.5 (12.9-45.7) vs. 12.1 (6.9-26.8) ng/mL, $P=0.001$] were higher in PAPS relative to controls. No significant differences were found in concentrations of adiponectin ($P=0.10$), resistin ($P=0.23$), visfatin ($P=0.68$) or PAI-1 ($P=0.77$) in both groups.

Correlation between adipocytokines and cardiovascular risk factors and inflammation in PAPS

Adiponectin levels were inversely correlated with BMI (-0.28 , $P=0.041$), VLDL-c ($r=-0.41$, $P=0.003$), triglycerides ($r=-0.43$, $P=0.001$) and HOMA-IR ($r=-0.36$, $P=0.010$), but positively correlated with HDL-c ($r=0.37$, $P=0.006$), aCL IgG ($r=0.41$, $P=0.02$) and anti- β 2GPI IgM ($r=0.38$, $P=0.005$). Leptin levels were positively correlated with BMI ($r=0.61$, $P<0.001$), waist circumference ($r=0.53$, $P<0.001$), glucose ($r=0.50$, $P<0.001$), HOMA-IR ($r=0.71$, $P<0.001$), PAI-1 ($r=0.38$, $P=0.004$), CRP ($r=0.32$, $P=0.020$) and VHS ($r=0.28$, $P=0.041$). PAI-1 levels were positively correlated with CRP ($r=0.32$, $P=0.0020$) and trended with HOMA-IR ($r=0.28$, $P=0.050$) and inversely correlated with aCL IgG ($r=-0.53$, $P<0.001$) and anti- β 2GPI IgG ($r=-0.45$, $P=0.001$). The resistin levels were inversely correlated with lipoprotein (a) ($r=-0.44$, $P=0.001$), and visfatin levels were not significantly correlated with any metabolic components (Table 2 and figure 2).

Metabolic syndrome and adipocytokines in PAPS

Lower concentrations of adiponectin were significantly associated with the frequency of MetS [16.0 (10.2-14.0) vs 25.1 (14.1 vs 39.0), $P<0.042$], and higher concentrations of leptin and PAI-1 were significantly associated with MetS [45.1 (29.7-76.6) vs 17.0 (10.0-40.3), $P=0.002$] and [20.5 (16.2-23.8) vs 16.5 (11.4-20.5), $P= 0.030$], respectively (Table 3).

Association between arterial events and adipocytokines in PAPS

No significant differences were found regarding adiponectin ($P=0.09$), leptin ($P=0.11$), resistin ($P=0.23$), visfatin ($P=0.60$) and PAI-1 ($P=0.51$) concentrations in patients with and without arterial events (Table 4).

Insulin resistance, inflammation, the metabolic syndrome, antiphospholipids antibodies, dyslipidemia and adipocytokines in PAPS.

In the multivariate linear regression model, the variables that independently influence the adiponectin were triglycerides (coefficient=2.12, standart error=0.64, t value=3.33, $P=0.002$), VLDL-c (coefficient=-10.87, standart error=3.16, t value=0.001, $P<0.001$) and anti- β 2GPI IgG (coefficient=0.14, standart error=0.07, t value=2.09, $P=0,042$).The variables that influence the leptin were BMI (coefficient=2.93, standart error=0.58, t value=5.05, $P<0,001$), glucose (coefficient=-0.40, standart error=0.19, t value=-2.05, $P=0.046$), HOMA-IR index (coefficient=7.43, standart error=1.79, t value=4.16, $P<0.001$) and ESR (coefficient=0.78, standart error=0.27, t value=2.89, $P=0,006$) and the variable that influence PAI-1 were CRP

(coefficient=0.39, standart error=0.15, t value=2.59, $P=0,013$) and MetS

(coefficient=3.46, standart error=1.74, t value=1.99, $P=0.048$).

Discussion

This study is the first to highlight the relationship between adipocytokines and MetS in patients with PAPS and its association with insulin resistance and inflammation.

The inclusion of an age and gender-matched healthy control group was a necessary condition for an accurate analysis of adipocytokines levels given that normal range is not well established for these hormones (9) and their levels seem to be influenced by gender and age (25). In addition, our study exclusively included primary APS in light of the fact that lupus *per se* may be associated with adipocytokines alterations that might hamper data interpretation (13,26). The overall assessment of several traditional and non-traditional cardiovascular risk factors concomitantly with five adipocytokines allowed, for the first time in PAPS, a more precise distinction of the role of each these hormones in PAPS metabolic complications.

Importantly, statin was reported to improve endothelial function by decreasing PAI-1 and leptin levels (27-29) and glitazone is known to increase adiponectin levels in type 2 diabetic patients (30); therefore, the exclusion of patients undergoing these therapies was a mandatory condition to adequately evaluate these bioactive peptides.

This study confirmed that PAPS patients have increased risk factors for CVD and yields the novel observation that leptin levels are elevated in PAPS patients compared to controls. Given that this hormone may be directly atherogenic and that leptin levels are linked with cardiovascular events (31), our finding supports the notion that this adipocytokine may be an additional marker for CVD in PAPS. The observed association of leptin with BMI and

abdominal circumference is probably explained by leptin resistance, a condition that impairs satiation, increases the ability to store fat and reduces its oxidation (31). We also demonstrated that PAPS patients have more markers of systemic inflammation than controls which may contribute to increased leptin resistance in these patients. In this regard, recent studies demonstrated that CRP inhibits leptin directly by binding to its receptor, altering cell signaling and leading to leptin resistance (31,32). The possible interface of metabolism and inflammation in the pathogenesis of cardiometabolic disease is also emphasized by the experimental evidences, that leptin enhances CRP expression and CRP, in turn, may antagonize leptin action (31). Indeed, in systemic lupus erythematosus (SLE), leptin is increased and is strongly associated with coronary events and elevated inflammatory markers (13). In addition, leptin levels have been described as directly correlated with inflammatory markers and disease activity in patients with rheumatoid arthritis (33).

Leptin may be prothrombotic, promoting platelet aggregation and consequently arterial thrombosis (31), although the higher levels in our patients with arterial events did not reach statistical significance. Probable explanation to this discrepancy was the evidence of previous arterial events to dosage of this hormone. However, we demonstrated a positive correlation between leptin and PAI-1 as possible mechanism for leptin-mediated thrombosis (31). Reinforcing this finding, leptin levels are positively correlated with PAI-1 (34), fibrinogen (35) and von Willebrand factor (35) and negatively correlated with tissue plasminogen activator (36).

The evaluation of PAPS patients with and without MetS revealed increased leptin levels in the former group. Glucose, BMI, and HOMA-IR were independent factors associated with this cytokine, reinforcing the observation that these risk factors for CAD may raise the specific thrombotic risk associated with APS and this suggests that patients with PAPS and MetS have additional cardiovascular morbidity, which is greater than the risk associated with each individual component (37).

APL are associated with cardiovascular manifestations, including accelerated atherosclerosis (38,39). It exerts proinflammatory and procoagulant effects directly on endothelial cells, and the inflammatory and immune components of autoantibody-mediated thrombosis may play an indirect role in atherogenesis (39). In our study, we observed correlations between aPL and adipocytokines. Although adiponectin is anti-atherogenic and vasculoprotective, aPL such as anti- β 2GPI antibodies were independent factors associated with adiponectin, suggesting that additional factors drive autoantibody-mediated vascular involvement or alter the relationship between adipocytokines and aPL in PAPS.

Adiponectin acts as an insulin sensitizer (9), and, low concentrations of adiponectin enhance a cluster of diabetes mellitus, hypertension and dyslipidemia, ultimately leading to atherosclerosis. In the present study, adiponectin was shown to have an inverse relationship with BMI, VLDL-c, triglycerides and HOMA index and a positive relationship with HDL, a finding similar to that observed in high-risk cardiovascular populations (40,41) and SLE patients (13,26). Supporting this notion, low adiponectin levels were found in PAPS patients with MetS.

In our study, we found higher PAI-1 levels in patients with MetS, and we observed positive correlation among PAI-1 and BMI, inflammation and insulin resistance. Obesity is the central motor of the MetS, which also includes impaired fibrinolysis (42). Therefore, increased levels of PAI-1, the main serine protease inhibitor that inhibits fibrinolysis, may be a component of the MetS. Reinforcing this findings, MetS was independently associated with PAI-1. Interestingly, recent *in vitro* and *in vivo* studies showed that besides its role in atherothrombosis, PAI-1 is also implicated in adipose tissue development and in the control of insulin signaling in adipocytes (42). These findings suggest that PAI-1 inhibitors may be a surrogate biomarker for cardiometabolic disease (43).

Our novel finding of altered adipocytokines levels in PAPS associated with MetS, inflammation, obesity and insulin resistance provides an additional link to a better understanding of this autoimmune-mediated atherothrombotic vascular disease. Future studies are necessary to evaluate whether these cytokines will be useful markers to determine these metabolic complications in clinical practice.

References

1. de Groot PG, Derksen RH, de Laat B. Twenty-two years of failure to set up undisputed assays to detect patients with the antiphospholipid syndrome. *Semin Thromb Hemost* 2008;34:347-55.
2. Medina G, Gutiérrez-Moreno AL, Vera-Lastra O, Saavedra MA, Jará LJ. Prevalence of metabolic syndrome in primary antiphospholipid syndrome patients. *Autoimmun Rev* 2011;10;214-7
3. Shoenfeld Y, Gerli R, Doria A, Matsuura E, Cerinic MM, Ronda N, et al. Accelerated atherosclerosis in autoimmune rheumatic diseases. *Circulation* 2005;112:3337–47.
4. Medina G, Casaos D, Jara LJ, Vera-Lastra O, Fuentes M, Barile L, et al. Increased carotid artery intima-media thickness may be associated with stroke in primary antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis* 2003;62:607–10.
5. Sacré K, Brihaye B, Hyafil F, Serfaty JM, Escoubet B, Zennaro MC, et al. Asymptomatic myocardial ischemic disease in antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum* 2010;62:2093-100 .
6. Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, Shimomura I. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arteriocler Thromb Vasc Biol* 2004;24:29-33.
7. Whitehead JP, Richards AA, Hickman IJ, Macdonald GA, Prins JB. Adiponectin- a key adipokine in the metabolic syndrome. *Diabetes Obes Metab* 2006;8:264-80.

8. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2004;23:416-20.
9. Guzik TJ, Mangalat D, Korbout R. Adipocytokines – novel link between inflammation and vascular function. *J Physiol Pharmacol* 2006; 57: 505–28.
10. Lago F, Dieguez C, Gomez-Reino J, Gualillo O. The emerging role of adipokines as mediators of inflammation and immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev* 2007; 18: 313–25.
11. Chung CP, Avalos I, Oeser A, Gebretsadik T, Shintani A, Raggi P, et al. High prevalence of the metabolic syndrome in patients with systemic lupus erythematosus: association with disease characteristics and cardiovascular risk factors. *Ann Rheum Dis* 2007;66:208-14.
12. Maahs DM, Ogden LG, Kinney GL, Wadwa P, Snell-Bergeon JK, Dabelea D, et al. Low plasma adiponectin levels predict progression of coronary artery calcification. *Circulation* 2005; 111: 747–53.
13. Chung CP, Long AG, Solus JF, Rho YH, Oeser A, P Raggi P, et al. Adipocytokines in systemic lupus erythematosus: relationship to inflammation, insulin resistance and coronary atherosclerosis *Lupus* 2009;18: 799–806.
14. Rho YH, Chung CP, Solus JF, Raggi P, Oeser A, G Tebeb, et al. Adipocytokines, insulin resistance, and coronary atherosclerosis in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 2010;62:1259-64.
15. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, et al. International consensus statement on preliminary classification criteria

for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop.
Arthritis Rheum 1999;42:1309-11

16. National Cholesterol Education Program. Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults(Adult Treatment Panel III). JAMA 2001;285:2486-97.

17. Haris EN, Pierangeli S, Birch D. Cardiolipin Wet Workshop report. Am J Clin Path 1994, 101:616-24

18. Wisloff F, Jacobsen EM, Liestol S. Laboratory diagnosis of the antiphospholipid syndrome. Thromb Res 2002;108:263-71.

19. Siedel J, Hagele EO, Ziegenhorn J, Wahlefeld AW. Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency. Clin Chem 1983;29:1075–80.

20. Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. Clin Chem 1982;28:2077–80.

21. Warnick GR, Cheung NC, Albers JJ. Comparison of current methods for high density lipoprotein cholesterol quantification. Clin Chem 1979;25:596–604.

22. Friedwald 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; 18:499–502.

23. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A consensus statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 2006;23:469–80
24. Reilly MP, Wolfe ML, Rhodes T, Girman C, Mehta N, Rader DJ. Measures of insulin resistance add incremental value to the clinical diagnosis of metabolic syndrome in association with coronary atherosclerosis. *Circulation* 2004;110:803–9.
25. Cicero AF, Magni P, Lentini P, Ruscica M, Dozio E, Strollo F, et al. Sex hormones and adipokines in healthy pre-menopausal, post-menopausal and elderly women, and in age-matched men: data from the Brisighella Heart Study. *J Endocrinol Invest*. 2010 Dec 15. [Epub ahead of print].
26. Sada KE, Yamasaki Y, Maruyama M, Sugiyama H, Yamamura M, Maeshima Y, et al. Altered levels of adipocytokines in association with insulin resistance in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2006; 33: 1545–52.
27. Laumen H, Skurk T, Hauner H. The HMG-CoA reductase inhibitor rosuvastatin inhibits plasminogen activator inhibitor–1 expression and secretion in human adipocytes. *Atherosclerosis* 2008; 196:565-73
28. Katera ALA, Batista MC, Ferreira SRG. Improved endothelial function with simvastatin but unchanged insulin sensitivity with simvastatin or ezetimibe. *Metabolism Clinical and Experimental* 2010;59: 921–26.40.
29. Sun YM, Li J, Luan Y, Wang LF. Effect of statin therapy on leptin levels in patients with coronary heart disease. *Peptides* 2010;31:1205-7.

30. Miyazaki Y, DeFronzo RA. Rosiglitazone and pioglitazone similarly improve insulin sensitivity and secretion, glucose tolerance and adipocytokines in type 2 diabetic patients. *Diabetes obes Metab* 2008;10:1204-11.
31. Martin SS, Qasim A, Reilly MP. Leptin resistance- a possible interface of inflammation and metabolism in obesity-related cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2008;52 :1201-10.
32. Chen K, Li F, Li J, Cai H, Strom S, Bisello A, et al. Induction of leptin resistance through direct interaction of C-reactive protein with leptin. *Nat Med* 2006; 12: 425– 32.
33. Bokarewa M, Bokarew D, Hultgren O, Tarkowski A. Leptin consumption in the inflamed joints of patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003;62:952-6.
34. De Mitrio V, De Pergola G, Vettor R, Marino R, Sciaraffia M, Pagano C, et al. Plasma plasminogen activator inhibitor-I is associated with plasma leptin irrespective of body mass index, body fat mass, and plasma insulin and metabolic parameters in premenopausal women. *Metabolism* 1999;48:960–4.
35. Chu NF, Spiegelman D, Hotamisligil GS, Rifai N, Stampfer M, Rimm EB. Plasma insulin, leptin, and soluble TNF receptors levels in relation to obesity-related atherogenic and thrombogenic cardiovascular disease risk factors among men. *Atherosclerosis* 2001;157: 495–503.
36. Skurk T, van Harmelen V, Lee YM, Wirth A, Hauner H. Relationship between IL-6, leptin and adiponectin and variables of fibrinolysis in

overweight and obese hypertensive patients. *Horm Metab Res* 2002;34:659–63.

37. Reilly MP, Rader DJ. The metabolic syndrome: more than the sum of its parts? *Circulation* 2003;108:1546-51.

38. Kaplan SD, Chatash EK, Pizzarello RA, Furie RA. Cardiac manifestations of the antiphospholipid syndrome. *Am Heart J* 1992;124(5):1331-8.

39. Shoenfeld Y, Harats D, George J. Atherosclerosis and the antiphospholipid syndrome: a link unravelled? *Lupus* 1998;7:140-3.

40. Stenholm S, Koster A, Alley DE, Visser M, Maggio M, Harris TB, et al. Adipocytokines and the metabolic syndrome among older persons with and without obesity: the InCHIANTI study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010;73:55-65.

41. Cnop M, Havel PJ, Utzschneider K M, Carr DB, Sinha MK, Boyko EJ, et al. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia* 2003;46:459–69.

42. Schalkwijk CG, Stehouwer CD. PAI-1 inhibition in obesity and the metabolic syndrome: a promising therapeutic strategy. *Thromb Haemost* 2006; 96: 698–9.

43. Alessi MC, Juhan-Vague I. PAI-1 and the metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*2006;26:2200-7.

Figure 1. Trial profile of the study patients screened for inclusion according to the Sapporo criteria for antiphospholipid syndrome (APS).

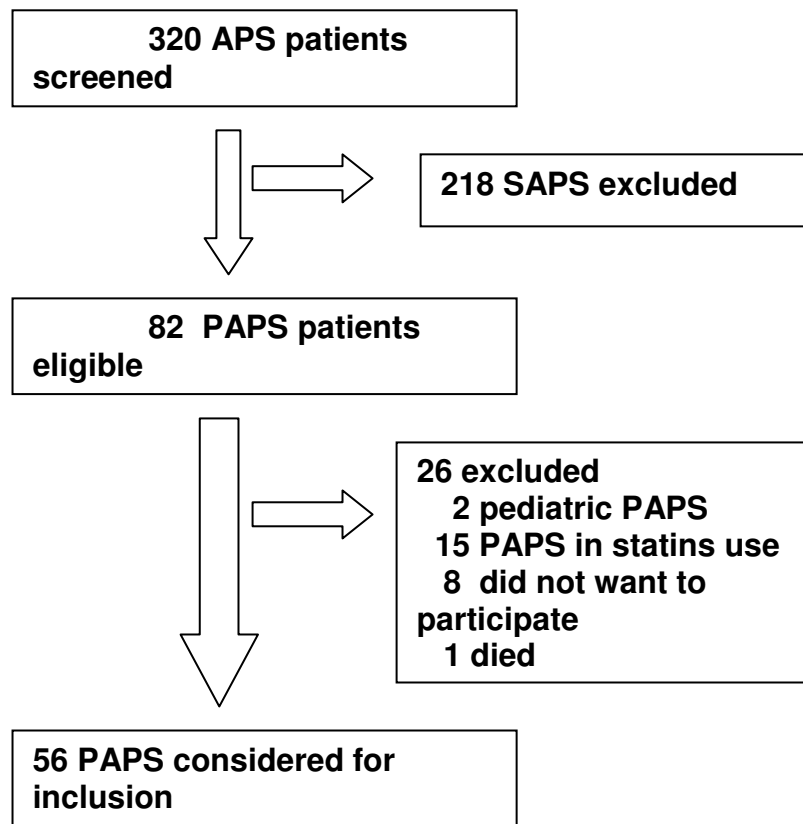


Table 1. Demographics, cardiovascular risk factors, lipid profile and adipocytokines in PAPS patients and controls

Characteristics	Patients with PAPS (n=56)	Control subjects (n=72)	P
Demographic characteristics			
Age, years	39.8 ± 10.9	38.4 ± 11.6	0.50
Sex, n. (%female)	46 (82.1)	59 (82)	0.97
Caucasian race, n. (%)	49 (87.5)	59 (86.3)	0.82
Duration of PAPS (months)	87.41±67.03		
Cardiovascular risk factors			
Family history of CAD (%)	17 (30.4)	2 (2.8)	<0.001
Framingham score (%)*	3 (1-5.8)	1(1-3)	0.007
History of diabetes n. (%)	4 (7.1)	0	0.03
History of hypertension n. (%)	18 (32.1)	0	<0.001
Dyslipidemia n. (%)	25 (44.6)	33 (45.8)	0.89
Obesity n. (%)	16 (28.6)	3 (5.3)	<0.001
Tobacco use n. (%)	7 (12.5)	9 (12.5)	1.0
BMI(kg/m ²)	28.2 ± 6.9	23.9 ± 3.18	<0.001
Waist circumference (cm)	91.4 ± 16.3	80.9 ± 8.6	<0.001
HOMA-IR index	1.6 (0.8-2.7)	1.0 (0.7-1.5)	0.01
Insulin (uU/mL)	8.3 (5.0-11.7)	5.3 (4.2-8.2)	0.02
Glucose (mg/dL)	82.0 (69.3-91.8)	75.5(67.0-82.8)	0.02
Uric acid (mg/dL)	4.6 (3.7-5.7)	4.3(3.7-5.0)	0.28
MetS (IDF) n. (%)	15 (26.8)	5 (6.8)	0.002
Lipid profile			
Tryglicerides (mg/dL)	122.0 (72.0-155.5)	89 (61.5-121.8)	0.06
Total cholesterol (mg/dL)	185.0 (164.3-212.8)	190.0 (167.3-215.8)	0.39
HDL cholesterol (mg/dL)	48.0 (40.0-61.0)	61.0 (49.0-69.0)	<0.001
LDL colessterol (mg/dL)	112.0 (90.5-140.8)	107.5 (86.3-137.5)	0.79
VLDL colessterol (mg/dL)	21.0 (14.0-31.0)	18.0 (12.5-23.5)	0.05
Lipoprotein (a) (mg/dL)	25.0 (10.0-47.0)	14.0 (6.8-42.8)	0.28
Adipocytokines			
Adiponectin (ug/mL)	17.6 (9.2-23.4)	13.5 (7.0-18.0)	0.10
Resistin (ng/mL)	16.0 (12.6-20.4)	14.5 (10.7-19.9)	0.23
Leptin (ng/mL)	21.5 (12.9-45.7)	12.1 (6.9-26.8)	0.001
Visfatin (ng/mL)	6.5 (5.5-7.4)	6.0 (5.0-8.5)	0.689
PAI-1 (ng/mL)	16.7 (13.2-21.3)	17.5 (12.7-20.8)	0.77
Inflammation markers			
CRP (mg/L)	3.5 (0.9-7.4)	2.5 (1.0-3.1)	0.03
ESR (mm/1st hour)	8.0 (5.0-14.0)	6.0 (3.0-8.0)	0.002

PAPS: primary antiphospholipid syndrome; BMI: body mass index;CAD: coronary artery disease;*Within the next 10 years

calculated using the Framingham risk equation;BMI: body mass index, HOMA-IR: homeostasis model assesment index,

MetS: metabolic syndrome; IDF: International Federation Diabetes HDL: high density lipoprotein; LDL: low densitylipoprotein;

VLDL: Very low density lipoprotein; CRP: C-reactive protein; ESR: erythrocyte sedimentation rate.

Data are presented as mean ± standart deviations or percentages (%) or median (interquartile range).

Table 2. Correlation among adipocytokines, cardiovascular risk factors and inflammation markers of patients with PAPS

	Adiponectin	Resistin	Leptin	Visfatin	PAI-1
Age	-0.08	0.72	0.07	0.06	-0.03
Duration of PAPS (months)	0.10	0.14	0.09	0.06	-0.16
Body mass index	-0.28‡	0.08	0.61†	-0.05	0.29‡
Abdominal circumference	-0.22	0.16	0.53†	0.12	0.17
Systolic blood pressure	-0.15	0.07	0.17	0.001	-0.07
Diastolic blood pressure	-0.04	0.11	0.00	0.18	-0.08
Glucose (mg/dL)	-0.19	0.10	0.50‡	0.17	0.10
Total cholesterol (mg/dL)	-0.17	-0.20	0.20	0.01	0.10
High-density lipoprotein (mg/dL)	0.37‡	-0.02	-0.08	-0.10	-0.16
Low-density lipoprotein (mg/dL)	-0.22	-0.21	0.16	-0.01	0.10
Very low-density lipoprotein (mg/dL)	-0.41‡	-0.07	0.20	0.06	0.25
Lipoprotein (a) (mg/dL)	-0.08	-0.44‡	0.00	-0.11	-0.05
Triglycerides (mg/dL)	-0.43 ‡	-0.13	0.21	0.10	0.26
Uric acid (mg/dL)	-0.16	-0.03	0.17	0.01	-0.11
Framingham score	-0.18	-0.20	-0.03	0.11	-0.02
ESR (mm/1st hour)	0.10	0.10	0.28‡	0.12	0.08
CRP (mg/L)	-0.17	0.14	0.32‡	0.05	0.36‡
aCL IgG, GPL (U/mL)	0.41 ‡	0.19	-0.13	0.25	-0.53†
aCL IgM, MPL (U/mL)	0.16	0.13	-0.05	0.03	-0.13
Anti-β2GPI IgG (U/mL)	0.31‡	0.24	-0.19	0.14	-0.45†
Anti-β2GPI IgM (U/mL)	0.38‡	0.01	-0.15	-0.09	-0.08

aCL: anticardiolipin antibodies , anti-β2GPI:anti-β2-glycoprotein I

† $P < 0.001$

‡ $P < 0.05$

Figure 2. Correlation between adipocytokines and HOMA-I index in patients with PAPS.

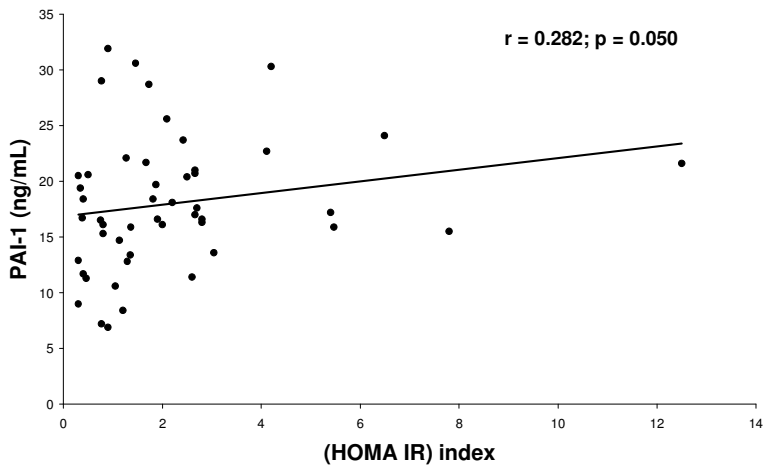
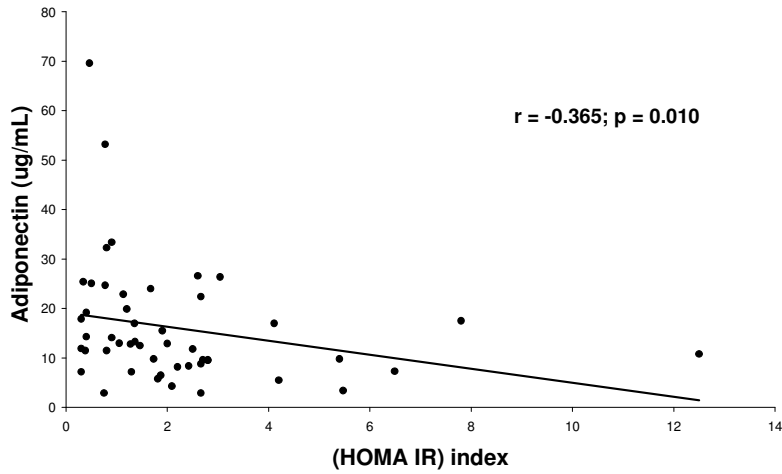
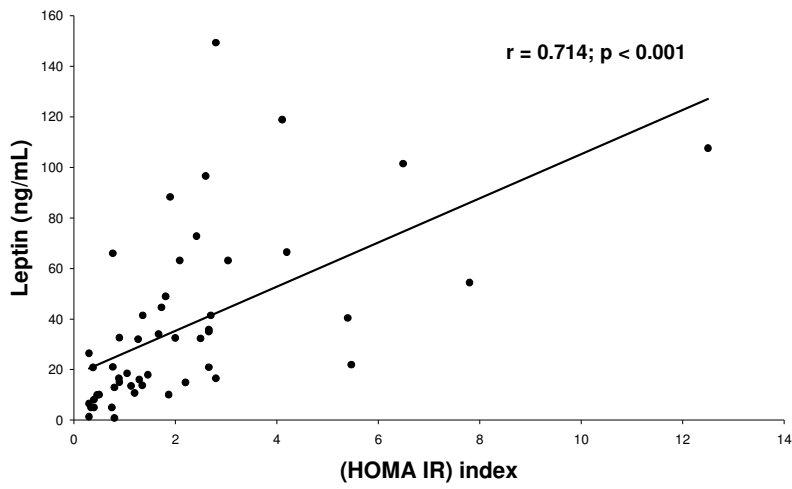


Table 3. Association between adipocytocines and PAPS patients with and without metabolic syndrome

	Metabolic Syndrome		<i>P</i>
	Present (n=15)	Absent (n=41)	
Adiponectin (ug/mL)	10.2 (6.8-16.0)	14.1 (9.8-25.1)	0.042
Resistin (ng/mL)	13.9 (12.6-23.3)	16.0 (12.4-19.3)	0.928
Leptin (ng/mL)	45.1 (29.7-76.7)	17.0 (10.0-40.3)	0.002
Visfatin (ng/mL)	6.5 (5.5-7.5)	6.5 (5.5-7.2)	0.682
PAI-1 (ng/mL)	20.5 (16.5-23.8)	16.5 (11.4-20.5)	0.030

Mann-Whitney test

Data are presented as median (interquartile range).