

**5 NOVEMBRE**



## **LA TRASDUZIONE DEL SEGNALE: IMPLICAZIONI TERAPEUTICHE**

*Moderatori: R. Cattaneo (Brescia), R. Giacomelli (L'Aquila)*

- La regolazione della funzione delle integrine: nuove opportunità terapeutiche  
*G. Serini (Torino)*
- Signaling cellulare nella sindrome da antifosfolipidi  
*P.L. Meroni (Milano)*
- Signaling cellulare nell'artrite reumatoide  
*R. Gerli (Perugia)*

## **COMUNICAZIONE**

- MIR-223 is over-expressed in T-lymphocytes of patients affected by rheumatoid arthritis  
*G. Sebastiani, M. Galeazzi, V. Fulci, G. Scappucci, C. Giannitti, D. Franceschini, F. Meloni, F. Citarella, F. Bellisai, G. Minisola, V. Barnaba, G. Macino*

---

# LA REGOLAZIONE DELLA FUNZIONE DELLE INTEGRINE: NUOVE OPPORTUNITÀ TERAPEUTICHE

G. SERINI

*Laboratorio di Traduzione del Segnale, Divisione di Biologia Vascolare e Dipartimento di Scienze Oncologiche, Istituto per la Ricerca e la Cura del Cancro, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università di Torino*

Negli organismi multicellulari, le integrine sono i principali recettori di superficie responsabili dell'adesione delle cellule alle proteine della matrice extracellulare (MEC). La regolazione della funzione delle integrine è fondamentale in molte situazioni fisiologiche e patologiche, quali l'aggregazione piastrinica, l'extravasazione leucocitaria, la corretta morfogenesi dell'apparato cardiovascolare e l'angiogenesi, cioè la formazione di nuovi vasi, tumorale (1). Le integrine possono assumere due conformazioni, attiva ed inattiva, in cui il dominio extracellulare del recettore è rispettivamente disteso o ripiegato e quindi in grado o meno di legare la MEC. Inoltre l'adesione e la migrazione cellulare sulla MEC dipendono in modo cruciale dalla continua endocitosi e riciclo in superficie delle integrine (2). Nel corso dell'ultimo decennio, abbiamo scoperto come la funzione delle integrine sia finemente regolata dal contrapporsi di vie di trasduzione del segnale attivatorie ed inibitorie innescate rispettivamente da ligandi extracellulari quali i fattori di crescita e le semaforine (SEMA) (3, 4). Studiando modelli murini transgenici di carcinogenesi del pancreas endocrino, della cute e della cervice uterina, abbiamo recentemente osservato come l'espressione delle SEMA3A dell'endotelio vascolare, particolarmente elevata nello stadio angiogenico iniziale, venga persa nelle successive fasi della progressione neoplastica, cioè quando i vasi aumentano significativamente di numero, divenendo al tempo stesso più tortuosi, meno funzionali e capaci di veicolare efficacemente farmaci anti-tumorali (5). Poiché l'espressione dei principali fattori di crescita vascolari rimane invece elevata, concludiamo che durante la progressione tumorale il bilancio tra fattori di crescita vascolare attivatori e SEMA endoteliali inibitorie si alteri in favore dei primi, promuovendo così l'attivazione delle integrine e la formazione di nuovi vasi. A questo proposito, abbiamo osservato una simile modulazione del profilo di espressione della SEMA3A endoteliale in tumori della cervice umana a diverso stadio di progressione. Reintroducendo la SEMA3A nei tumori murini tramite vettori virali adeno-associati abbiamo rilevato:

- 1) la selettiva morte per apoptosi delle cellule endoteliali dei vasi tumorali, ma non dei tessuti normali circostanti;
- 2) una significativa riduzione del numero dei vasi tumorali e la ri-normalizzazione della loro architettura;
- 3) una netta riduzione del volume tumorale associata ad un'importante estensione della sopravvivenza degli animali trattati.

La SEMA3A è dunque un inibitore endogeno dell'angiogenesi che potrebbe essere testato in combinazione con altri agenti terapeutici al fine di migliorare l'efficacia del trattamento delle malattie neoplastiche (6). Più in generale le SEMA potrebbero essere utilizzate per inibire la funzione adesiva delle integrine in differenti tipi cellulari e situazioni patologiche, quali le malattie autoimmuni ed infiammatorie.

## BIBLIOGRAFIA

1. Serini G, Valdembri D, Bussolino F. Integrins and angiogenesis: a sticky business. *Exp Cell Res* 2006; 312: 651-8.
2. Valdembri D, Caswell PT, Anderson KI, Schwarz JP, König I, Astanina E, Caccavari F, Norman JC, Humphries MJ, Bussolino F, Serini G. Neuropilin-1/GIPC1 signaling regulates alpha5beta1 integrin traffic and function in endothelial cells. *PLoS Biol* 2009; 7: e25.
3. Serini G, Valdembri D, Zanivan S, Morterra G, Burkhardt C, Caccavari F, Zammataro L, Primo L, Tamagnone L, Logan M, Tessier-Lavigne M, Taniguchi M, Püschel AW, Bussolino F. Class 3 semaphorins control vascular morphogenesis by inhibiting integrin function. *Nature* 2003; 424: 391-7.
4. Serini G, Bussolino F. Common cues in vascular and axon guidance. *Physiology (Bethesda)* 2004; 19: 348-54.
5. Maione F, Molla F, Meda C, Latini R, Zentilin L, Giacca M, Seano G, Serini G, Bussolino F, Giraud E. Semaphorin 3A is an endogenous angiogenesis inhibitor that blocks tumor growth and normalizes tumor vasculature in transgenic mouse models. *J Clin Invest* 2009; in press.
6. Serini G, Maione F, Giraud E, Bussolino F. Semaphorins and tumor angiogenesis. *Angiogenesis* 2009; 12: 187-93.

# SIGNALING CELLULARE NELLA SINDROME DA ANTIFOSFOLIPIDI

P.L. MERONI<sup>1,2</sup>, M.O. BORGHI<sup>1,2</sup>, E. RASCHI<sup>2</sup>, V. BROGGINI<sup>1,2</sup>, C. GROSSI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Cattedra di Reumatologia, Dipartimento di Medicina Interna, Milano;

<sup>2</sup>Università di Milano e Istituto Auxologico Italiano, Milano

## INTRODUZIONE

La sindrome da anticorpi antifosfolipidi (APS) è definita dalla presenza persistente di anticorpi anti-fosfolipidi (aPL) e dalla comparsa di trombosi venose ed arteriose e perdite fetali ricorrenti (1). Gli aPL rappresentano mezzi diagnostici formali ma al tempo stesso sono autoanticorpi patogenetici in grado di mediare le manifestazioni cliniche della sindrome (2, 3). La maggior parte degli aPL ad attività patogenetica è caratterizzata dalla specificità antigenica nei confronti di una proteina plasmatica: la beta2 glicoproteina I ( $\beta$ 2GPI). La Tabella I riporta i principali meccanismi patogenetici responsabili sia delle manifestazioni vascolari sia di quelle ostetriche. In particolare viene segnalato il ruolo accertato degli aPL con specificità per la  $\beta$ 2GPI (o aPL- $\beta$ 2GPI dipendenti) (3). L'azione patogenetica degli aPL è in parte da ricondurre alla loro interferenza con meccanismi an-

ticoagulanti naturali (proteina C, antitrombina III) e con la fibrinolisi (2, 3). Tuttavia è ormai ampiamente accettato che altri meccanismi entrino in gioco ed in particolare la capacità degli aPL di interagire direttamente con tipi cellulari diversi coinvolti nella cascata della coagulazione: endotelio, piastrine, monociti. Anche le manifestazioni ostetriche sembrano essere in parte legate ad un'azione degli aPL a livello del trofoblasto e delle cellule deciduali più che alle conseguenze di eventi trombotici (2, 3).

### *aPL e cellule della cascata coagulativa*

È accertato che gli aPL sono in grado di reagire con cellule endoteliali (EC) di diversi distretti anatomici determinandone un'attivazione (perturbazione) con induzione di un fenotipo pro-infiammatorio e pro-coagulante sia in modelli sperimentali in vitro sia in vivo (3). Dati recenti sembrano suggerire che un simile effetto possa essere evidenziato anche in vivo nei pazienti con APS (4). La perturbazione endoteliale indotta da aPL sarebbe responsabile almeno in parte dello stato trombofilico caratteristico della APS.

Gli aPL sono anche in grado di reagire con monociti circolanti, legandosi alla loro superficie ed attivandoli. In particolare è stata dimostrata un'aumentata espressione di membrana di Tissue Factor (TF) sia in vitro sia in vivo. Anche questo meccanismo giocherebbe un ruolo nel determinare lo stato trombofilico dei pazienti (2, 3).

Infine vi sono dati che suggeriscono un'attivazione delle piastrine nei pazienti con APS (2, 3). Studi in vitro hanno documentato un legame degli aPL alle piastrine attivate ma non a quelle *resting* ed una capacità degli anticorpi di aumentare un'attivazione piastrinica già indotta da altri agonisti (2, 3).

### *Interazione degli aPL con trofoblasto e cellule deciduali*

Le perdite fetali ricorrenti associate alla presenza persistente di aPL sono solo in minima parte spie-

Tabella I - Principali meccanismi patogenetici in corso di APS.

<p><b>Manifestazioni trombotiche:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Interferenza con anticoagulanti naturali<ul style="list-style-type: none"><li>Antitrombina III</li><li>Attivazione Proteina C*</li><li>Annexin V*</li></ul></li><li>- Inibizione della fibrinolisi</li><li>- Interferenza con cellule della cascata della coagulazione<ul style="list-style-type: none"><li>Perturbazione endoteliale*</li><li>Attivazione dei monociti (Tissue Factor expression)</li><li>Attivazione delle piastrine*</li></ul></li><li>- Attivazione del complemento*</li></ul> <p><b>Manifestazioni ostetriche:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Trombosi placentare*</li><li>- Inibizione della differenziazione del sinciziotrofoblasto*</li><li>- Cellule deciduali (induzione di un fenotipo pro-infiammatorio)*</li><li>- Apoptosi embrionale o placentare</li><li>- Attivazione del complemento*</li></ul> <p>*Indica un ruolo attivo degli aPL-<math>\beta</math>2GPI dipendenti.</p>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

gabili sulla base della formazione di eventi trombotici a livello dei tessuti placentari. Anche in questo caso è stata dimostrata un'azione diretta degli autoanticorpi nei confronti di cellule della parte materna e fetale della placenta: trofoblasto e decidua (2, 3)

Vi è una solida evidenza che il legame degli aPL ai diversi tipi cellulari menzionati precedentemente sia mediato dall'espressione della  $\beta$ 2GPI sulla membrana cellulare. Gli aPL reagirebbero in altre parole con lo stesso bersaglio antigenico presente su strutture cellulari differenti (2, 3).

Una volta legati gli autoanticorpi sarebbero in grado di indurre una perturbazione di membrana responsabile di un *signalling* in grado a sua volta di modificare le risposte/assetto fenotipico delle cellule interessate (5).

### **Recettori cellulari per la $\beta$ 2GPI**

Studi in vitro hanno dimostrato che la  $\beta$ 2GPI - in quanto proteina cationica - è in grado di legarsi a strutture anioniche di membrana: ad esempio l'eparansolfato a livello endoteliale. Tuttavia questo legame è in grado di spiegare solo in parte l'interazione e numerosi recettori candidati sono stati presi in considerazione.

A livello endoteliale l'Annexin A2 e il Toll Like Receptor 4 (TLR-4) sono stati suggeriti come recettori candidati.

L'Annexin A2 è un recettore per il tissue plasminogen activator (tPA) e il plasminogeno. Esperimenti con EC transfettate hanno dimostrato che Annexin A2 si comporta da recettore per la  $\beta$ 2GPI che tuttavia non possiede una "coda" intracitoplasmatica e come tale non è in grado di indurre un *signalling*. Utilizzerebbe a questo scopo una "adaptor" protein (o co-recettore) (2, 3). Anticorpi anti-Annexin A2 inibiscono l'attivazione di EC indotta da aPL in vitro e topi Annexin A2 *-/-* sono meno sensibili all'effetto trombofilico indotto da aPL infusi passivamente (6)

Vi è un'evidenza solida in modelli sperimentali in vitro ed in vivo che TLR-4 sia coinvolto nel mediare gli effetti di attivazione/perturbazione endoteliale da aPL  $\beta$ 2GPI dipendenti (7). Sorice et al. hanno recentemente dimostrato che TLR-4 è coinvolto anche nell'attivazione di monociti umani in vitro mediate da aPL  $\beta$ 2GPI dipendenti (8).

Più recentemente anche TLR-2 è stato descritto essere coinvolto nell'attivazione di fibroblasti anti- $\beta$ 2GPI-mediata via MyD88-dependent *pathway* (9). Dal momento che TLR-2 è anche espresso sulle EC e sulle piastrine ed ha in comune con TLR-

4 diversi ligandi e *pathway* di attivazione è verosimile che entrambi i TLR siano coinvolti (7).

Dati preliminari indicano che TLR-4 è in grado di legarsi a  $\beta$ 2GPI in fase solida ed il trattamento con anticorpi bloccanti il TLR-4 inibisce significativamente la quantità di  $\beta$ 2GPI sulla superficie di cellule transfettate con TLR-4 (10, *Raschi personal communication*). Nell'insieme questi dati suggerirebbero che TLR-4 si comporti come un vero e proprio recettore per la  $\beta$ 2GPI, tuttavia manca una dimostrazione definitiva di questa possibilità.

L'Apolipoprotein E Receptor 2 (ApoER2') è un recettore della Low Density Lipoprotein (LDL) *family* espresso in diverse cellule. È stata riportata una sua funzione come recettore per la  $\beta$ 2GPI sulle piastrine e sarebbe coinvolto nella loro attivazione mediata da aPL (11). ApoER2' è anche espresso sull'endotelio ed il suo blocco da anticorpi specifici inibisce il legame di aPL- $\beta$ 2GPI dipendenti (Raschi et al., manuscript in preparation). Gli anticorpi anti- $\beta$ 2GPI potenzierebbero l'aggregazione piastrinica reagendo inoltre con la  $\beta$ 2GPI legata al GPIIb/IIIa receptor. L'attivazione conseguente è stata dimostrata sia come produzione di thromboxane B2 sia come attivazione di phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/glycogen synthase kinase 3 (12).

La  $\beta$ 2GPI è espressa sul trofoblasto (in particolare sul sinciziotrofoblasto). In parte la molecola si lega per interazione elettrostatica tra la fosfatidilserina espressa sulla membrana delle cellule sinciziali ed il PL-binding site del V° dominio a carica positiva (13).

Sia l'Annexin A2 che il TLR-4 ed in parte anche il TLR-2 sono stati descritti a livello delle membrane del trofoblasto (14-17). È verosimile che possano fungere da recettori per la  $\beta$ 2GPI anche in queste cellule, tuttavia vi è solo evidenza della loro presenza e del coinvolgimento del *pathway* MyD88 in trofoblasti attivati con aPL (17).

Più recentemente il nostro gruppo ha dimostrato il legame di aPL  $\beta$ 2GPI dipendenti a cellule umane stromali deciduali suggerendo che la  $\beta$ 2GPI possa fungere da bersaglio antigenico per gli aPL. Tuttavia, la natura dei possibili recettori è ancora materia di ricerca. Utilizzando anticorpi bloccanti specifici per TLR-4, Annexin A2 ed ApoER2', abbiamo dimostrato una parziale inibizione del legame degli aPL e dell'attivazione indotta nelle cellule (18).

In altre parole è verosimile che più molecole e recettori della membrana cellulare siano coinvolti nell'interazione con la  $\beta$ 2GPI piuttosto che una

**Tabella II** - Interazione della  $\beta_2$ GPI con tipi cellulari differenti.

Interazione della $\beta_2$ GPI con cellule	
Tipi cellulari	Recettori candidati
<b>Cellule coinvolte nella coagulazione</b> Cellule Endoteliali Monociti Piastrine	HS, Annexin A2, TLR-4, ApoER2' Annexin A2, TLR-4 GPIIb/IIIa/ApoER2'
<b>Cellule dei tessuti placentari</b> Trofoblasto Cellule deciduali stromali	Annexin A2, TLR-2, TLR-4 TLR-4, Annexin A2, ApoER2'
<b>Altri tipi cellulari</b> Cellule epiteliali renali Fibroblasti	Megalina TLR-2

Schema dei recettori candidati per  $\beta_2$ GPI e delle vie di *signalling* attivate da aPL  $\beta_2$ GPI dipendenti in EC.

singola molecola. La Tabella II riporta le molecole che sono state riportate comportarsi da recettori in strutture cellulari diverse.

**Signalling indotto da aPL  $\beta_2$ GPI dipendenti**

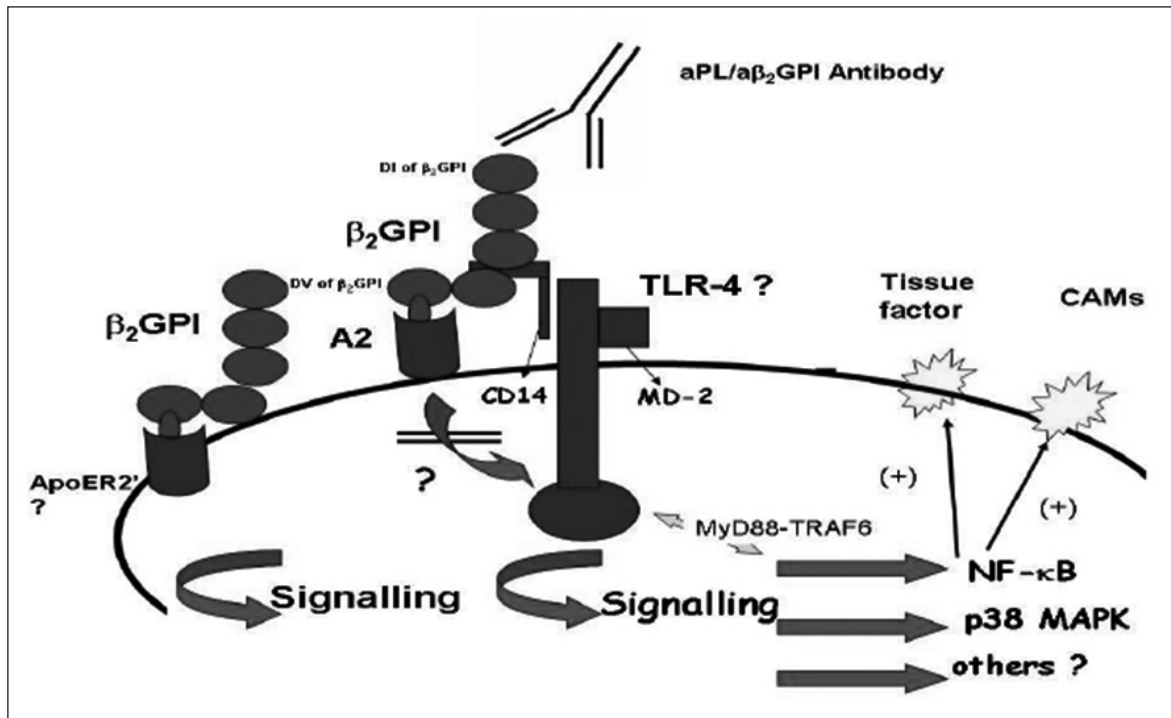
L'attivazione delle EC da parte degli aPL è stata più dettagliatamente studiata. La Figura 1 riporta uno schema di quanto è attualmente noto in merito. Una

volta legati gli aPL sarebbero in grado di perturbare la membrana e di inviare un *signalling* che esita nella traslocazione di NF- $\kappa$ B e nella fosforilazione di p38 MAPK. Vi è una forte evidenza che sia attivata una via MyD88 dipendente in grado poi di indurre la trascrizione di geni per molecole infiammatorie e per TF (2, 19).

I meccanismi proposti per l'attivazione dei monociti periferici da parte degli aPL sono sovrapponibili in quanto è stato ipotizzato che l'attivazione avvenga tramite fosforilazione di IL-1 *receptor-associated kinase* (IRAK) e traslocazione di NF- $\kappa$ B. (8).

L'attivazione delle piastrine e l'induzione della produzione di trombossano A2 richiederebbe l'innescò della *phosphoinositide-3 kinase/Akt* e la fosforilazione della p38 MAK/phospholipase A2 (20). In seguito al coinvolgimento di GPIIb/IIIa vi sarebbe la fosforilazione di phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/glycogen synthase kinase 3 (12).

Vi è evidenza che inibitori specifici di p38MAPK (SB203580 - (4-(4 fluorophenyl)-2 (4methylsulfanylphenyl)-(4pyridyl) 1 imidazole) o di NF- $\kappa$ B (MG132 - (carbobenzoxy-leucinyll leucinylleucinal) sono in grado di inibire l'espressione di TF indotta da aPL in EC in vitro (21). Gli studi di inibizione hanno per altro dimostrato che sia la fosforilazione di p38MAPK sia la traslocazione di NF-



**Figura 1** - Schema dei recettori candidati per  $\beta_2$ GPI e delle vie di *signalling* attivate da aPL  $\beta_2$ GPI dipendenti in EC.

$\kappa$ B sono necessarie per l'attivazione cellulare. Risultati simili sono stati riportati anche in monociti umani stimolati da aPL (22).

L'inibizione dell'attivazione endoteliale da parte delle statine agisce anch'essa tramite blocco della traslocazione di NF- $\kappa$ B (23).

Recentemente è stato riportato che una via TLR-4/MyD88 mediata è utilizzata da monoclonali murini ad attività anti- $\kappa$ 2GPI umana per indurre un fenotipo infiammatorio a livello del trofoblasto (17).

## BIBLIOGRAFIA

- Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006; 4: 295-306.
- Pierangeli SS, Chen PP, Raschi E, et al. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome: pathogenetic mechanisms. *Semin Tromb Hemost* 2008; 34: 236-50.
- Raschi E, Broggin V, Grossi C, Borghi MO, Pierangeli SS, Meroni PL. Mechanisms of action of antiphospholipid antibodies in antiphospholipid syndrome in systemic autoimmune diseases. Cervera R, Reverter JC, Khamashta MA eds. Elsevier, Amsterdam 2009; 55.
- Cugno M, Borghi MO, Lonati LM, et al. Patients with antiphospholipid syndrome display endothelial perturbation. *J Autoimmun* 2009 Aug [Epub ahead of print]
- Meroni PL. Pathogenesis of the antiphospholipid syndrome: an additional example of the mosaic of autoimmunity. *J Autoimmun* 2008; 30: 99-103.
- Romay-Penabad Z, Montiel-Manzano MG, Shilagard T, et al. Annexin A2 is involved in antiphospholipid antibody-mediated pathogenic effects in vitro and in vivo. *Blood* 2009; 23 [Epub ahead of print].
- Raschi E, Borghi MO, Grossi C, Broggin V, Pierangeli S, Meroni PL. Toll-like receptors: another player in the pathogenesis of the anti-phospholipid syndrome. *Lupus* 2008; 17: 937-42.
- Sorice M, Longo A, Capozzi A, et al. Anti-beta2glycoprotein I antibodies induce monocyte release of tumor necrosis factor alpha and tissue factor by signal transduction pathways involving lipid rafts. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 2687-97.
- Satta N, Dunoyer-Geindre S, Reber G, et al. The role of TLR2 in the inflammatory activation of mouse fibroblasts by human antiphospholipid antibodies. *Blood* 2007; 109: 1507-14.
- Zhang J, Lieske K, McCrae B, McCrae K. Activation of endothelial cells by  $\beta$ 2glycoprotein I ( $\beta$ 2GPI) antibodies is mediated by Annexin II cross linking and may involve TLR4. *Blood* 2004; 104: 83 (abstract).
- Lutters BC, Derksen RH, Tekelenburg WL, et al. Dimers of beta 2-glycoprotein I increase platelet deposition to collagen via interaction with phospholipids and the apolipoprotein E receptor 2'. *J Biol Chem* 2003; 278: 33831-8.
- Shi T, Giannakopoulos B, Yan X, et al. Antibeta2-glycoprotein I antibodies in complex with beta2-glycoprotein I can activate platelets in a dysregulated manner via glycoprotein Ib-IX-V. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2558-67.
- Di Simone N, Meroni PL, D'Asta M, Di Nicuolo F, D'Alessio M C, Caruso A. Pathogenic role of anti-beta2-glycoprotein I antibodies on human placenta: functional effects related to implantation and roles of heparin. *Hum Reprod Update* 2007; 13: 189-96.
- Bogic LV, Ohira RH, Yamamoto SY, Okazaki KJ, Millar K, Bryant-Greenwood GD. Tissue plasminogen activator and its receptor in the human amnion, chorion, and decidua at preterm and term. *Biol Reprod* 1999; 60: 1006-12.
- Abrahams VM, Mor G. Toll-like receptors and their role in the trophoblast. *Placenta* 2005; 26: 540-7.
- Ma Y, Krikun G, Abrahams VM, Mor G, Guller S. Cell type-specific expression and function of toll-like receptors 2 and 4 in human placenta: implications in fetal infection placenta. 2007; 28: 1024-31.
- Mulla MJ, Brosens JJ, Chamley LW, et al. Antiphospholipid antibodies induce a pro-inflammatory response in first trimester trophoblast via the TLR4/MyD88 pathway. *Am J Reprod Immunol* 2009; 62: 96-111.
- Borghi MO, Raschi E, Scurati S, Grossi C, Pierangeli SS, Meroni PL. Effects of a toll-like receptor antagonist and anti-annexin A2 antibodies on binding and activation of decidual cells by anti- $\beta$ 2glycoprotein I antibodies. *Clin Exp Rheumatol* 2007; 2: 35 Abstract.
- Raschi E, Testoni C, Bosisio D, et al. Role of the MyD88 transduction signalling pathway in endothelial activation by antiphospholipid antibodies. *Blood* 2003; 101: 3495-500.
- Lutters BC, Derksen RH, Tekelenburg WL, Lenting PJ, Arnout J, de Groot PG. Dimers of beta 2-glycoprotein I increase platelet deposition to collagen via interaction with phospholipids and the apolipoprotein E receptor 2'. *J Bio Chem* 2003; 278: 33831-8.
- Vega-Ostertag ME, Pierangeli SS. Mechanisms of aPL-mediated thrombosis: effects of aPL on endothelium and platelets. *Curr Rheumatol Rep* 2007; 9: 190-7.
- Bohgaki M, Atsumi T, Yamashita Y, et al. The p38 mitogen-activated protein kinase MAPK) pathway mediates induction of the tissue factor gene in monocytes stimulated with human monoclonal anti2glycoprotein I antibodies. *Int Immunol* 2004; 16: 1632-41.
- Meroni PL, Raschi E, Testoni C, et al. Statins prevent endothelial cell activation induced by antiphospholipid (anti-beta2-glycoprotein I) antibodies: effect on the proadhesive and proinflammatory phenotype. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2870-8.

---

# SIGNALING CELLULARE NELL'ARTRITE REUMATOIDE

E. BARTOLONI, A. ALUNNO, O. BISTONI, R. GERLI

*Struttura di Reumatologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Perugia*

## INTRODUZIONE

Il sistema immunitario si è evoluto come meccanismo di protezione degli organismi dalle infezioni da organismi patogeni e altri agenti pericolosi ed è in grado, in termini generali, di riconoscere sia infezioni di patogeni o di loro prodotti che provengono dall'ambiente esterno che segnali endogeni pericolosi per l'organismo (1).

Tale riconoscimento determina l'inizio di una risposta immune che, in condizioni di normalità, consentirà l'eliminazione dell'agente aggressore senza ulteriore danno per l'ospite. Tuttavia, è noto che difetti di regolazione del processo infiammatorio possono condurre ad una eccessiva risposta nei confronti dell'agente infettivo, come accade nelle malattie infiammatorie croniche autoimmunitarie quali ad esempio l'artrite reumatoide (AR). Per quanto concerne proprio questa malattia, diversi meccanismi e segnali cellulari sono alla base della flogosi cronica osservata nella sinovite reumatoidea, con coinvolgimento dei sistemi immunitari sia innato che acquisito (o adattativo). La rilevanza della risposta immunitaria adattativa nella patogenesi dell'AR è supportata da modelli murini della malattia che sono principalmente sostenuti da attivazione di cellule Th1 e/o Th17 (2). Inoltre, la patologia murina non si sviluppa in topi mancanti di IL-23 (3) e cellule Th17 esprimenti in superficie il CCR6 sono preferenzialmente drenate verso l'articolazione infiammata (4). Nell'uomo, l'efficacia terapeutica nell'AR del rituximab e dell'abatacept, anticorpi monoclonali rivolti rispettivamente verso il CD20 ed il *cytotoxic T lymphocyte antigen 4* (CTLA-4), si pone a dimostrazione del ruolo patogenetico delle cellule B e T attivate nella malattia (5, 6). Inoltre, la stretta associazione dell'AR con l'HLA-DR rappresenta ulteriore sostegno all'idea di un importante ruolo funzionale della cellula T (7).

Nella progressione della malattia reumatoidea, la distruzione di cartilagine ed osso è determinata

dall'abbondante produzione di citochine, chemochine e metalloproteinasi di matrice da parte di cellule dell'immunità innata. Allo stato attuale, gli agenti terapeutici impiegati con maggior successo sono l'infliximab, l'etanercept e l'adalimumab, tutti bloccanti del tumor necrosis factor (TNF) $\alpha$ , di derivazione prevalentemente macrofagica e con fondamentale ruolo nella patogenesi della malattia come anche dimostrato in modelli murini (8).

Il brillante successo degli anti-TNF $\alpha$  ha destato grande interesse nel tentare di chiarire vie e meccanismi di produzione di questa citochina, come d'altra parte anche di altri mediatori dell'infiammazione della sinovite reumatoidea, sebbene si ritenga che altre cellule dell'immunità innata, come neutrofili, mast cells e cellule natural killer possano anche giocare un ruolo patogenetico rilevante.

Nel complesso meccanismo che regola l'attivazione dei singoli componenti cellulari della risposta immune ed orchestra l'interazione delle cellule coinvolte nella formazione della sinovite reumatoidea, un ruolo importante è sicuramente svolto dal meccanismo di trasduzione del segnale, ruolo peraltro testimoniato dal potenziale effetto terapeutico di molecole (alcune delle quali ancora in fase di sperimentazione) in grado di interferire con tale meccanismo di *signaling* cellulare.

In tal senso, il processo di migrazione cellulare nell'ambiente sinoviale, la produzione di citochine e metalloproteasi, l'iperplasia dei sinoviociti, l'innescò del processo di angiogenesi e l'attivazione degli osteoclasti, sono tutti processi finemente regolati da specifici e complessi meccanismi di *signaling* che contribuiscono alla continua produzione di mediatori pro-infiammatori nel microambiente della sinovite reumatoidea.

Negli ultimi anni, numerosi studi sperimentali si sono focalizzati sullo studio delle basi molecolari di tali processi di traduzione del segnale con lo scopo di individuare specifici bersagli terapeutici.

### **Tirosinchinasi (TKs) e Toll-like receptors (TLRs)**

Uno dei bersagli più ampiamente studiato per il suo ruolo centrale in molteplici vie di attivazione cellulare è stata la famiglia delle TKs, recettori e non recettori (RTKs e non-RTKs), la cui espressione è ristretta a specifiche cellule a livello della sinovia reumatoidea (9).

Le TKs, la cui fosforilazione a livello del dominio intracellulare promuove la trasduzione del segnale, svolgono un'azione proteiforme nella patogenesi dell'AR, essendo coinvolte in diversi meccanismi patologici quali l'iperplasia dei sinoviociti fibroblasto-simili (*fibroblasts-like synoviocytes*, FLS), la neoangiogenesi e la distruzione dell'osso subcondrale.

Questo ha condotto alla sintesi di piccole molecole dotate di attività inibitoria sulle TKs, tra cui l'imatinib ed il nilotinib, potenti inibitori della proliferazione dei FLS attraverso l'inibizione dei *platelet-derived growth factor receptors* (PDGFRs)  $\alpha$  e  $\beta$ , il sorafenib ed il sunitinib, che agiscono come inibitori della famiglia dei *vascular endothelial growth factor receptors* (VEGFRs) con effetto inibitorio sulla neoangiogenesi, ed infine il dasatinib, molecola che ha come principali target Syk e Lck, chinasi coinvolte nella trasduzione del segnale attraverso i recettori della cellula T (*T-cell receptor*, TCR) e della cellula B (*B-cell receptor*, BCR) e che quindi agisce interferendo con l'attivazione T e B cellulare. Le altre molecole ancora in fase di approvazione in studi preclinici o di fase 2 sono dirette prevalentemente contro Btk, anch'essa partecipe del *signaling* attraverso il TCR ed il BCR. Per quanto concerne la famiglia dei TLRs (10), importanti recettori della risposta immune innata espressi a livello articolare in corso di flogosi, la loro rilevanza nella patogenesi dell'AR deriva dalla capacità non solo di riconoscere patogeni estranei, ma anche di attivarsi a seguito di un contatto con ligandi endogeni, quali le *heat shock proteins* (HSPs) (11) o frammenti di fibronectina, presenti in elevata concentrazione nelle articolazioni di pazienti affetti da AR.

Recenti studi supportano l'ipotesi che, a seguito dell'attivazione dei TLRs, si inneschi un meccanismo di trasduzione del segnale che, attraverso molecole adattatrici (come MyD88, una molecola di cui è stato dimostrato un ruolo patogenetico in modelli animali di artrite), porta all'attivazione di MAPkinasi e nuclear factor (NF)- $\kappa$ B e quindi alla trascrizione di mediatori dell'infiammazione come il TNF $\alpha$  (12).

L'inibizione di alcuni TLRs risulterebbe in un'attività anti-infiammatoria in modelli animali di artrite e sono in corso studi di valutazione di nuove terapie in grado di bloccare selettivamente tali molecole (13).

### **Cellule T-regolatorie (T-reg), linfociti Th17 e costimolazione T**

Le cellule T-reg rappresentano una popolazione cellulare ad attività soppressiva la cui alterazione, in difetto o in eccesso, è strettamente coinvolta nella patogenesi di malattie autoimmunitarie (14). L'interesse nella modulazione di tali cellule a scopo terapeutico è emerso contestualmente al riscontro che la somministrazione di farmaci biologici anti-TNF $\alpha$  in soggetti con AR determinava anche una modifica del numero e della funzione delle T-reg, riportandoli alla normalità (15). Si è quindi cercato di individuare quali fossero le migliori molecole bersaglio per determinare un'azione mirata su tale sottopopolazione cellulare. Una molecola che si è dimostrata cruciale nel permettere alle T-reg di mantenere un fenotipo soppressivo è il CTLA-4 e di recente si è dimostrato, mediante la generazione di un modello animale in cui CTLA-4 è mancante solo sulle T-reg, che l'assenza di tale *marker* in questa singola popolazione cellulare è sufficiente a causare una malattia autoimmune sistemica (16).

Analizzando le T-reg prelevate da pazienti affetti da AR è stato riscontrato che CTLA-4 è espresso a livelli inferiori rispetto al controllo sano. Inoltre, bloccando CTLA-4 con un anticorpo F(ab')<sub>2</sub> *in vitro* su T-reg ottenute da controlli sani si ottiene una riduzione delle loro capacità soppressive, come dimostrato dalla incapacità di bloccare la produzione di citochine pro-infiammatorie (17). CTLA-4 peraltro è una molecola la cui importanza è estesa al più ampio concetto di costimolazione T cellulare e l'evidenza di efficacia dell'abatacept nell'AR sottolinea ulteriormente l'importanza di tali *pathways* nella patogenesi e nella storia naturale della malattia.

Infatti, nell'ambito complesso della costimolazione si assiste alla compartecipazione di ligandi e loro recettori esposti da cellule T effettrici e cellule presentanti l'antigene. La classica via di attivazione è, per l'appunto, quella costituita dal complesso CD28-CD80/CD86 dove CTLA-4 si inserisce come modulatore negativo competendo con il CD28 per legare il CD80 ed il CD86. Dal momento che il CD28 è espresso in tutte le cellule T *naïve* ma può essere perso durante la differenziazione

ne, il blocco esercitato dall'abatacept agisce maggiormente sulle cellule *naïve* che non sulle effettrici specializzate e ciò ha implicazioni in termini di sicurezza ed effetti collaterali attesi (18).

È ancora in fase sperimentale l'effetto terapeutico del blocco selettivo di due vie di costimolazione, CD27/CD70 e CD40/CD40L (o CD154), di cui è noto il rilevante ruolo in attivazione e proliferazione della cellula T (18).

In particolare, il legame del CD40, costitutivamente espresso sulle cellule B e su cellule dendritiche presentanti l'antigene, con il CD154, espresso sui linfociti T dopo attivazione, induce la formazione di centri germinativi a livello dell'ambiente sinoviale e funge da importante meccanismo di feedback per l'up-regolazione dell'espressione del CD80/CD86, facilitando quindi la costimolazione con il CD28.

Il meccanismo di trasduzione del segnale interviene anche nell'induzione di un altro *subset* di cellule T effettrici, i linfociti Th17, per i quali è stato riconosciuto un ruolo patogenetico importante. Essi infatti sono in grado di indurre la produzione di numerose citochine pro-infiammatorie, come TNF $\alpha$  e IL-1, e citochine direttamente coinvolte nella fisiopatologia dell'AR, come IL-17 e IL-21, di up-regolare il *receptor activator of nuclear factor B ligand* (RANKL) e stimolare l'attività di metalloproteinasi facilitando il danno erosivo (18, 19). Il persistente stato infiammatorio ed il danno erosivo, evidenti in presenza di tale sottopopolazione linfocitaria T all'interno dell'articolazione, dipendono dall'attivazione di meccanismi di *signaling* a seguito del legame con molecole endogene liberate durante il danno tissutale. In particolare, Stat3, la principale proteina della famiglia delle *signal transducer and activator of transcription* (Stat) *proteins*, attivata in risposta all'IL-6, è il principale fattore di trascrizione che induce la differenziazione dei linfociti Th17 e la produzione di IL-17 ed IL-21, citochine che hanno un ruolo centrale nella patogenesi della malattia, come ampiamente dimostrato in modelli murini. A conferma di ciò, studi sperimentali che hanno valutato l'effetto della neutralizzazione dell'IL-17 in modelli animali hanno ottenuto risultati promettenti nel ridurre i segni dell'infiammazione e lo sviluppo della malattia in modelli murini di artrite (20).

### ***Il complesso RANKL-RANK-osteoprotegerina e Wnt pathway***

Il danno erosivo articolare, esito dello stato flogistico cronico nel microambiente sinoviale, rappre-

senta una caratteristica distintiva dell'AR. Gli osteoclasti, cellule implicate nel normale rimodellamento osseo, rappresentano i principali attori di tale processo erosivo in quanto attivati in maniera eccessiva in pazienti con AR.

L'anomala maturazione e differenziazione osteoclastica si realizza a seguito di un'iperattivazione del meccanismo di trasduzione del segnale del sistema RANKL-RANK, normalmente coinvolto nell'omeostasi e nel rimodellamento osseo, con conseguente incremento del danno erosivo. Consensualmente, la produzione di osteoprotegerina (OPG), un naturale inibitore del RANKL, viene repressa nei siti di formazione dell'erosione ossea. Alla luce dell'importanza di tale meccanismo nell'induzione del danno erosivo in corso di AR, molecole inibitrici del RANKL sono in fase di sperimentazione in patologie associate ad un eccessivo rimodellamento osseo, come l'osteoporosi, le metastasi ossee da neoplasia e l'AR (21).

Il complesso RANKL-RANK-OPG non sembra comunque essere l'unico sistema coinvolto nell'alterato rimodellamento osseo che si osserva in corso di AR. Recentemente, infatti, studi sperimentali hanno messo in evidenza la compartecipazione di una famiglia di glicoproteine coinvolte nella trasduzione del segnale, le proteine Wingless (Wnt) (22).

Queste ultime sono normalmente coinvolte nel mantenimento dell'omeostasi cartilaginea e ossea, in particolare nella differenziazione delle cellule mesenchimali in pro-osteoblasti e quindi in osteoblasti maturi.

In corso di AR, il Wnt *signaling* si presenta ridotto a causa dell'aumentata espressione di DKK-1, il principale inibitore delle Wnt oltre che dell'OPG, nell'articolazione colpita. In particolare, DKK-1 è espresso dai fibroblasti sinoviali, dalle cellule endoteliali e dai condrociti, e tale espressione è indotta dal TNF.

La riduzione del Wnt *signaling*, pertanto, determinerebbe uno squilibrio tra i fattori responsabili del rimaneggiamento osseo con riduzione di OPG e incremento del sistema RANK/RANKL. Recenti evidenze, inoltre, hanno dimostrato che nel microambiente sinoviale vi sono anche meccanismi TNF-indipendenti nella modulazione di alcune proteine Wnt e che quest'ultime sono in grado di stimolare i *sinovial-like fibroblasts* e quindi tutti i meccanismi patogenetici in cui essi sono coinvolti, quali angiogenesi e sintesi di molecole pro-infiammatorie (MMP, molecole di adesione, IL-6). Al momento attuale, pertanto, la modulazione del

Wnt signaling nell'AR potrebbe costituire un interessante bersaglio potenziale per una *target therapy*, ma non sono ancora disponibili dati al riguardo.

Le uniche evidenze vengono da studi su modelli murini in cui il blocco di DKK-1 comporterebbe un'inibizione del riassorbimento osseo e della formazione di nuovo tessuto osseo (23). Infine, secondo un recente studio su un modello animale, il Wnt signaling sembrerebbe coinvolto anche nella modulazione delle cellule T-reg. In particolare, è emerso che una forma modificata di  $\beta$ -catenin, molecola coinvolta nella trasduzione del segnale delle Wnt, è in grado di conferire una maggior sopravvivenza nelle T-reg e di indurre anergia nelle altre cellule T non regolatorie (24).

## CONCLUSIONI

In conclusione, dati sperimentali *in vitro* ed *in vivo* sembrano sostenere un possibile ruolo terapeutico di molecole in grado di inibire selettivamente il processo di trasduzione del segnale coinvolto, a vari livelli, nella patogenesi dell'AR.

A sostegno di ciò vi è la recente evidenza dell'efficacia di un inibitore di JAK3, una chinasi coinvolta nella trasduzione del segnale mediato da alcune citochine, quali l'IL-2 e l'IL-12, essenziali per l'attivazione dei linfociti T, in pazienti con AR attiva nonostante terapia con agenti anti-TNF $\alpha$  (25). Tuttavia, sono numerose le problematiche ancora aperte.

In particolare, l'effetto terapeutico su tali molecole bersaglio è stato testato prevalentemente in modelli animali ed è pertanto difficile poter estrapolare tali dati nell'uomo; peraltro, molte di queste molecole, come gli inibitori delle TK, vanno a bloccare in maniera non selettiva anche TK coinvolte in processi fisiologici, come la proliferazione dei fibroblasti indispensabile per la guarigione delle ferite, con effetti collaterali rilevanti. Una sfida della ricerca in futuro sarà pertanto la sintesi di molecole in grado di bloccare quei processi di trasduzione del segnale coinvolti selettivamente nel processo infiammatorio cronico che caratterizza la malattia.

## BIBLIOGRAFIA

1. Janeway CA Jr. How the immune system protects the host from infection. *Microbes Infect* 2001; 3: 1167-71.
2. Cho YG, Cho ML, Min SY, Kim HY. Type II collagen autoimmunity in a mouse model of human rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* 2007; 7: 65-70.
3. Murphy CA, Langrish CL, Chen Y et al. Divergent pro- and anti-inflammatory roles for IL-23 and IL-12 in joint autoimmune inflammation. *J Exp Med* 2003; 198: 1951-7.
4. Hirota K, Yoshitomi H, Hashimoto M et al. Preferential recruitment of CCR6-expressing Th17 cells to inflamed joints via CCL20 in rheumatoid arthritis and its animal model. *J Exp Med* 2007; 204: 2803-12.
5. Edwards JC, Szczepanski L, Szechinski J et al. Efficacy of B-cell targeted therapy with rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2004; 350: 2572-81.
6. Kremer JM, Westhovens R, Leon M et al. Treatment of rheumatoid arthritis by selective inhibition of T-cell activation with fusion protein CTLA-4Ig. *N Engl J Med* 2003; 349: 1907-15.
7. Plenge RM. Recent progress in rheumatoid arthritis genetics: one step towards improved patient care. *Curr Opin Rheumatol* 2009; 21: 262-71.
8. Inglis JJ, Criado G, Medghalchi M et al. Collagen-induced arteritis in C57BL/6 mice is associated with a robust and sustained T-cell response to type II collagen. *Arthritis Res Ther* 2007; 9: R113.
9. D'Aura Swanson C, Paniagua RT, Lindstrom TM, Robinson WH. Tyrosine kinases as targets for the treatment of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheum* 2009; 5: 317-24.
10. Page T, Smolinska M, Gillespie J, Urbaniak A, Foxwell B. Tyrosine kinases and inflammatory signalling. *Curr Mol Med* 2009; 9: 69-85.
11. Huang Q, Sobkoviak R, Jockheck-Clark A et al. Heat shock protein 96 is elevated in rheumatoid arthritis and activates macrophages primarily via TLR2 signaling. *J Immunol* 2009; 182, 4965-73.
12. Drexler S, Kong P, Wales J, Foxwell B. Cell signaling in macrophages, the principal innate immune effector cells of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2008; 10: 216.
13. O'Neill L. Primer: Toll-like receptors signalling pathways-what do rheumatologists need to know? *Nat Clin Pract* 2008; 4: 319-27.
14. Gerli R, Nocentini G, Alunno A et al. Identification of regulatory T cells in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2009; 8: 426-30.
15. Ehrenstein MR, Evans JG, Singh A et al. Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNF therapy. *J Exp Med* 2004; 3: 277-85.
16. Nistala K, Wedderburn LR. Th17 and regulatory T cells: rebalancing pro- and anti-inflammatory forces in autoimmune arthritis. *Rheumatology* 2009; 48: 602-6.
17. Flores-Borja F, Jury EC, Mauri C, Ehrenstein MR. Defects in CTLA-4 are associated with abnormal regulatory T cell function in rheumatoid arthritis. *PNAS* 2008; 105: 19396-401.
18. Goronzy JJ, Weyand CM. T-cell co-stimulatory pathways in autoimmunity. *Arthritis Res Ther* 2008; 10 (Suppl 1), S3.

19. Pernis AB. Th17 cells in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *J Intern Med* 2009; 265: 644-52.
20. Paunovic V, Carroll HP, Vandembroeck K, Gadina M. Crossed signals: the role of interleukin (IL)-12, -17, -23 and -27 in autoimmunity. *Rheumatology* 2008; 47: 771-6.
21. Schwarz E, Ritchlin CT. Clinical development of anti-RANKL therapy. *Arthritis Res Ther* 2007; 9: S7.
22. Schett G, Zwerina J, David JP. The role of Wnt proteins in arthritis. *Nat Clin Pract* 2008; 4: 473-80.
23. Polzer K, Zwerina J, Schett G. Inflammation and destruction of the joints-The Wnt pathways. *Joint Bone Spine* 2008; 75: 105-7.
24. Ding Y, Shen C, Lino A, Curotto de Lafaille MA, Lafaille JJ. Beta-catenin stabilization extends regulatory T cell survival and induces anergy in nonregulatory T cells. *Nature Med* 2008; 14: 162-8.
25. Kremer J, Bloom B, Breedveld F et al. The safety and efficacy of a JAK inhibitor in patients with active rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009; 60: 1895-905.

## MIR-223 IS OVER-EXPRESSED IN T-LYMPHOCYTES OF PATIENTS AFFECTED BY RHEUMATOID ARTHRITIS

G. Sebastiani<sup>1</sup>, M. Galeazzi<sup>2</sup>, V. Fulci<sup>3</sup>, G. Scappucci<sup>3</sup>, C. Giannitti<sup>2</sup>, D. Franceschini<sup>4</sup>, F. Meloni<sup>4</sup>, F. Citarella<sup>4</sup>, F. Bellisai<sup>2</sup>, G. Minisola<sup>1</sup>, V. Barnaba<sup>4</sup>, G. Macino<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Azienda Ospedaliera San Camillo-Forlanini, Roma; <sup>2</sup>Università di Siena; <sup>3</sup>Dipartimento di Biotecnologie Cellulari ed Ematologia, Università La Sapienza, Roma; <sup>4</sup>Dipartimento di Medicina Interna, Università La Sapienza, Roma

**Introduction:** miRNAs have recently emerged as key regulators of the immune system, being involved in lymphocyte selection and proliferation, in Treg cells differentiation, and in hematopoiesis in general. We investigated the hypothesis that a de-regulation of miRNAs could play a role in Rheumatoid Arthritis (RA) pathophysiology.

**Patients and Methods:** We studied 37 RA patients, 27 females and 10 males, aged between 22 and 82 years (median 58 years), with disease duration between 6 and 336 months (median 132 months). All patients fulfilled the 1987 ACR criteria for the classification of RA, all had active disease as defined according to DAS28 score. Nine of them were taking no drug at all, whereas 28 were under treatment with less than 10 mg of prednisone and paracetamol at the time of blood collection. No patient was taking disease modifying antirheumatic drugs (DMARDs) or was under biologic therapy. Three RA patients had their knee synovial fluid aspirated for examination. Control samples were taken from local blood donor bank.

T cells were purified from RA patients and healthy donor's PBLs by using the Pan T cell isolation kit. CD4+CD45RA+ T cells were purified from PBLs by using CD4+ T cell isolation kit II. miRNA expression profile was performed by microarray assay in 3 patients and a healthy control, followed by qRT-PCR analysis in 34 RA patients and 10 healthy controls.

**Results:** Three patients with RA, who were taking no drug, and a healthy control were tested for 400 miRNAs by microarray

technique. The test was performed on CD3+ sorted blood cells. The miRNA expression profile in the four samples was strikingly similar for all miRNAs but miR-223, which appeared to be dramatically upregulated in the 3 RA patients only. Further analysis by qRT-PCR confirmed that miR-223 is over-expressed in T-lymphocytes from RA patients (n=27) compared to healthy controls (n=10). There was no difference in the level of miR-223 expression between untreated and treated RA patients. Moreover, purification of different T-lymphocyte populations from RA patients highlighted that miR-223 is expressed at higher levels in CD4-CD45RA positive T-lymphocytes (naïve). We failed to detect any upregulation of miR-223 upon CD3/CD28 stimulation of Jurkat cells (a model of T-lymphocyte activation), while other miRNAs known to be over-expressed in response to TCR stimulation were upregulated.

**Conclusion:** Our data show a sustained expression of miR-223 in T-lymphocytes of RA patients. miR-223 in RA patients is predominantly expressed in naïve CD4 T-lymphocytes and is not a consequence of T cell activation, suggesting that its expression in this cell type could contribute to the aetiology of the disease. Further studies are required to characterize the function of this miRNA in T-lymphocytes and to assess its role in RA.

**Keywords:** Rheumatoid arthritis, MicroRNA, Autoimmunity.

## **COMUNICAZIONI SULL'ARTRITE REUMATOIDE 1**

*Moderatori: R. La Corte (Ferrara), A. Pucino (Napoli)*

- Il trattamento con methotrexate e basse dosi di prednisone induce una più rapida e stabile induzione della remissione clinica in pazienti con artrite reumatoide in fase precoce  
*M. Todoerti, C.A. Sciré, S. Bugatti, E. Prisco, C. Montecucco, R. Caporali*
- Modulazione cortisonica di geni proinfiammatori durante il trattamento di pazienti affetti da artrite reumatoide  
*S. Soldano, B. Villaggio, S. Moretti, S. Bonassi, F. Gallo, P. Montagna, R. Brizzolara, M.E. Secchi, M. Cutolo*
- Efficacia dei farmaci biologici per l'artrite reumatoide nella pratica clinica: evidenze dal database monitornet  
*P. Sfriso, F. Salaffi, C. Montecucco, S. Bombardieri, S. Todesco*
- Profilo di rischio dei farmaci biologici nella pratica clinica reumatologica: evidenze dal database monitornet  
*P. Sfriso, F. Salaffi, C. Montecucco, S. Bombardieri, S. Todesco*
- Subsets B cellulari ed attività di malattia in pazienti con artrite reumatoide prima e dopo terapia B-depletiva  
*A. Laria, F. Faustini, G. Peluso, G. D'Antona, B. Tolusso, E. Gremese, M. De Santis, S.L. Bosello, D. Pietrapertosa, G.F. Ferraccioli*
- B-deplezione nell'artrite reumatoide: efficacia clinica  
*G. D'Antona, F. Faustini, G. Peluso, A. Laria, B. Tolusso, E. Gremese, M. De Santis, S.L. Bosello, D. Pietrapertosa, G.F. Ferraccioli*
- Safety of rituximab in different rheumatic autoimmune diseases: a single centre experience in 115 cases  
*L. Quartuccio, S. Lombardi, M. Fabris, A. Perin, E. Di Poi, S. Sacco, S. De Vita*

## IL TRATTAMENTO CON METHOTREXATE E BASSE DOSI DI PREDNISONE INDUCE UNA PIÙ RAPIDA E STABILE INDUZIONE DELLA REMISSIONE CLINICA IN PAZIENTI CON ARTRITE REUMATOIDE IN FASE PRECOCE

M. Todoerti, C.A. Sciré, S. Bugatti, E. Prisco, C. Montecucco, R. Caporali  
IRCCS Fondazione Policlinico, San Matteo, Pavia

**Scopo del Lavoro:** Diagnosi e trattamento precoce sono obiettivi primari nella gestione della artrite reumatoide (AR).

È noto come il controllo dell'attività di malattia già in fase iniziale si associ ad un outcome favorevole nel medio termine e come il raggiungimento di una remissione clinica stabile e duratura correli con una minore progressione radiografica.

Nella early AR la terapia steroidea associata a DMARDs correla con rapido controllo dell'attività di malattia, maggiore probabilità di remissione clinica e rallentamento della progressione del danno strutturale.

Ci siamo proposti di analizzare in pazienti affetti da early AR gli effetti della terapia di associazione con MTX e basso dosaggio di prednisone per os non solo sul raggiungimento della remissione clinica ma anche sulla sua stabilità nel medio termine.

**Materiali e Metodi:** L'analisi è stata condotta su 210 pazienti, afferenti alla Early Arthritis Clinic (EAC) di Pavia da gennaio 2005 a gennaio 2008, con diagnosi al tempo iniziale di AR (criteri ACR) e durata di malattia inferiore ad un anno.

Ad ogni visita (ogni due mesi nei primi sei mesi, quindi ogni tre mesi) è stato calcolato come indice composito di attività di malattia il disease activity score (DAS).

I pazienti sono stati sottoposti a protocollo terapeutico step-up (MTX 10 mg alla settimana fino a 20 mg, quindi associando un anti-TNF) nel caso in cui il DAS alla visita successiva fosse >2.4. Sono stati inoltre randomizzati a ricevere (gruppo A) o no (gruppo B) un basso dosaggio di steroide per os (12.5

mg/di per le prime due settimane, ridotto quindi a 6.25 mg/di). Abbiamo valutato nei due gruppi di trattamento la probabilità di remissione clinica nel primo anno, quindi la stabilità della remissione nei successivi 6 mesi.

**Risultati:** Al basale i due gruppi di pazienti non differivano significativamente per le principali variabili demografiche e clinimetriche. I pazienti arruolati avevano una durata mediana di malattia di 2.97 mesi nel gruppo A (1.93-5.10) e 3.48 mesi nel gruppo B (2.57-5.70) e avevano un livello medio di DAS rispettivamente di  $3.84 \pm 0.83$  versus  $3.65 \pm 0.93$ .

Dopo 4 mesi il 25.5% dei pazienti in cotrattamento steroideo ha raggiunto la remissione clinica rispetto al 8% di quelli trattati con soli DMARDs ( $p=0.001$ ). In generale, la probabilità di remissione nel primo anno è risultata significativamente superiore nel gruppo A (time averaged OR=1.965, CI 95% 1.214-3.182,  $p=0.006$ ).

Analizzando i successivi 6 mesi di terapia, i pazienti in trattamento steroideo hanno mantenuto più frequentemente lo stato di remissione clinica rispetto a quelli trattati con solo MTX (time-averaged OR=4.480, CI 95% 1.354-14.817,  $p=0.014$ ).

**Conclusioni:** Nella early AR il trattamento steroideo in associazione a MTX consente un più rapido controllo dell'attività di malattia e l'induzione di remissione clinica più stabile nel tempo.

**Keywords:** Early Artrite Reumatoide, Cotrattamento steroideo, Remissione clinica.

## MODULAZIONE CORTISONICA DI GENI PROINFIAMMATORI DURANTE IL TRATTAMENTO DI PAZIENTI AFFETTI DA ARTRITE REUMATOIDE

S. Soldano<sup>1</sup>, B. Villaggio<sup>2</sup>, S. Moretti<sup>3</sup>, S. Bonassi<sup>3</sup>, F. Gallo<sup>3</sup>, P. Montagna<sup>1</sup>, R. Brizzolaro<sup>1</sup>, M.E. Secchi<sup>1</sup>, M. Cutolo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio di Ricerca e Clinica Reumatologica, Dipartimento Medicina Interna e Specialità Mediche, Università di Genova;

<sup>2</sup>Clinica Nefrologica, Dipartimento Medicina Interna e Specialità Mediche, Università di Genova;

<sup>3</sup>Unità di Epidemiologia Molecolare, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova

**Scopo del Lavoro:** La cronica attivazione della risposta immunitaria e la resistenza all'apoptosi delle cellule T sono una caratteristica importante della patogenesi dell'Artrite Reumatoide (AR) (Cope AP. *Arthrit Res Ther.* 2002; 4: 197-211). I glucocorticoidi (GC), quali il prednisone (PN), sono "anti-infiammatori" capaci di modulare proliferazione ed apoptosi cellulare mediante effetti genomici diretti o mediati da recettori (Makrygiannakis D. *Arthrit Res Ther.* 2008; 10: 147-155).

**Scopo dello Studio:** Individuare nei pazienti (pts) AR eventuali geni bersaglio coinvolti nel processo infiammatorio e valutare gli effetti del PN sulla loro espressione nelle cellule mononucleate da sangue periferico (PBMCs) tramite analisi con gene microarray.

**Materiali e Metodi:** Dieci pts AR che soddisfacevano i criteri di inclusione dell'American College of Rheumatology (ACR), non trattati in precedenza con farmaci biologici o disease modifying anti-rheumatic drugs (DMARDs) e GC, sono stati inclusi nello studio dopo consenso informato ed approvazione del Comitato Etico.

I pts sono stati suddivisi in due gruppi a seconda del trattamento ricevuto.

Il gruppo 1 (6 pts-1 uomo, età  $48 \pm 13$  anni) non è stato sottoposto ad alcun trattamento mentre il gruppo 2 (4 pts, età  $51 \pm 9$  anni) è stato trattato per tre mesi con PN (5 mg/die, somministrazione notturna). 5 soggetti sani (età  $45 \pm 5$  anni) sono stati inclusi come gruppo di controllo (CNT).

Dopo isolamento delle PBMCs tramite Ficoll (Sigma, MO), l'RNA è stato estratto con RNeasy Midy Kit (Qiagen, Italy), amplificato, biotinato attraverso MessageAmp Biotin Enhanced kit (Ambion, USA) e ibridato su microchip contenente 282 oligonucleotidi per geni dell'infiammazione (Eppendorf, Germania).

L'espressione genica è stata valutata con sistema di analisi SilverQuant (Eppendorf).

Il profilo di espressione è stato studiato mediante clustering gerarchico, utilizzando la Manhattan distance e il metodo Ward (Ward JH. *J Am Stat Assoc.* 1963; 58: 236-44). Il test di Fisher è stato utilizzato per l'analisi statistica dei dati.

**Risultati:** Il confronto tra pts AR e CNT (vs CNT) ha evidenziato 34 geni implicati nel processo infiammatorio che presentavano un profilo d'espressione alterato, alcuni coinvolti nell'attivazione/proliferazione delle cellule immuno-infiammatorie, altri nella resistenza/inibizione dell'apoptosi.

Questi geni erano up-regolati nel gruppo 1 e down-regolati o invariati nel gruppo 2 vs CNT.

La modulazione del profilo di espressione tra il gruppi 1 e 2 è risultata statisticamente significativa all'analisi con test di Fisher per i geni coinvolti nell'attivazione e proliferazione delle cellule immuno-infiammatorie ( $p=0.000002$ ) e per quelli coinvolti nella resistenza e/o inibizione dell'apoptosi ( $p=0.0079$ ).

**Conclusioni:** L'analisi con gene microarray ha individuato geni (es. CD86, CD2, STAT4 e 6, MIF, NFkB1, MAPK9 e MAP3K1, CD28, HIF1A) coinvolti nel processo infiammatorio e anti-apoptotico e che potrebbero svolgere un ruolo importante nella patogenesi dell'AR. La down-regolazione di questi geni determinata dal PN conferma una incisiva azione genomica dei GC nel corso della terapia del processo infiammatorio reumatoide.

**Keywords:** *Artrite reumatoide, Glucocorticoidi, Microarray.*

---

## EFFICACIA DEI FARMACI BIOLOGICI PER L'ARTRITE REUMATOIDE NELLA PRATICA CLINICA: EVIDENZE DAL DATABASE MONITORNET

P. Sfriso<sup>1</sup>, F. Salaffi<sup>2</sup>, C. Montecucco<sup>3</sup>, S. Bombardieri<sup>4</sup>, S. Todesco<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Cattedra di Reumatologia, Università di Padova; <sup>2</sup>Unità Operativa Clinica Reumatologica Azienda Ospedaliera Universitaria, Jesi, AN;

<sup>3</sup>Dipartimento di Reumatologia, Università di Pavia; <sup>4</sup>Cattedra di Reumatologia, Università di Pisa;

<sup>5</sup>Cattedra di Reumatologia, Università di Padova

**Scopo del Lavoro:** A differenza dei farmaci di fondo tradizionali gli agenti biologici hanno manifestato, nel corso delle sperimentazioni cliniche controllate nell'artrite reumatoide (AR), una rapida e marcata efficacia nel ridurre l'attività di malattia, ma anche nel rallentare o arrestare la progressione del danno strutturale, preservando la capacità funzionale e migliorando la qualità della vita, specie se somministrati in associazione al methotrexate.

Pertanto, anche nella pratica clinica, sono attesi risultati migliori e la remissione è concretamente divenuta l'obiettivo principale del trattamento dell'AR.

Tuttavia vi sono solo poche dimostrazioni dell'efficacia dei farmaci biologici al di fuori delle sperimentazioni cliniche controllate.

Vi è pertanto l'esigenza di duraturi sistemi di sorveglianza in grado di monitorarne la reale efficacia nella pratica clinica ed il mantenimento dell'efficacia a lungo termine.

**Materiali e Metodi:** MonitorNet è un database costituito dalla Società Italiana di Reumatologia (SIR) nel gennaio 2007 e finanziato dall'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA), con l'obiettivo del monitoraggio a lungo termine dei pazienti affetti da artrite reumatoide (AR), artrite psoriasica (AP) e spondilite anchilosante (SA) trattati con farmaci biologici.

Tutte le Unità Operative Complesse di reumatologia italiane sono state invitate a partecipare ad uno studio epidemiologico, non-interventistico, osservazionale.

Tale studio si svolge nell'ambito della pratica clinica quotidiana

(real-world practice) dove i farmaci biologici sono prescritti sulla base delle raccomandazioni correnti.

**Risultati:** Ad Aprile 2009 il database comprendeva 3510 pazienti: 2469 (70,3%) con AR, 675 (19,2%) con AP e 366 (10,4%) con SA. Il periodo cumulativo di follow-up era di 8787 anni-paziente (AR: 8388, AP: 157, AS: 242).

Abbiamo effettuato un'analisi dell'efficacia dei farmaci biologici su 2148 pazienti affetti da AR. In 731 pazienti (35,8%) è stata ottenuta la remissione secondo il criterio EULAR (DAS28<2,4).

Utilizzando i parametri più restrittivi basati sugli indici CDAI e SDAI, la frequenza della remissione era più bassa (rispettivamente 17,9% e 14,7%).

**Conclusioni:** In definitiva, dall'analisi ad-interim dei dati provenienti da un ampio studio osservazionale esteso a tutto il territorio italiano ed in corso ormai da 3 anni, sono emersi dati simili a quelli riportati da altri registri nazionali (DANBIO, BSR) e dai trial clinici randomizzati. Si conferma che il criterio di risposta basato su DAS28 (anche qualora la soglia venga posta <2,4) è molto più permissivo rispetto a CDAI e SDAI. Questi ultimi due criteri sono quindi più specifici e meno soggetti a false positività.

Questo studio è stato finanziato dall'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) nell'ambito del programma di finanziamento della ricerca indipendente sul farmaco. Contratto n-FARM5KJ9P5

**Keywords:** *Farmaci biologici, Efficacia, Studio osservazionale.*

## PROFILO DI RISCHIO DEI FARMACI BIOLOGICI NELLA PRATICA CLINICA REUMATOLOGICA: EVIDENZE DAL DATABASE MONITORNET

P. Sfriso<sup>1</sup>, F. Salaffi<sup>2</sup>, C. Montecucco<sup>3</sup>, S. Bombardieri<sup>4</sup>, S. Todesco<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Cattedra di Reumatologia, Università di Padova; <sup>2</sup>Unità Operativa Clinica Reumatologica Azienda Ospedaliera Universitaria, Jesi, AN;

<sup>3</sup>Dipartimento di Reumatologia, Università di Pavia; <sup>4</sup>Cattedra di Reumatologia, Università di Pisa;

<sup>5</sup>Cattedra di Reumatologia, Università di Padova

**Scopo del Lavoro:** Negli ultimi anni, numerosi farmaci biologici selettivamente mirati ai meccanismi patogenetici, sono divenuti disponibili nella pratica clinica reumatologica. Questi farmaci sono in grado di ridurre significativamente l'attività di malattia, tuttavia presentano a lungo termine potenziali rischi, non definitivamente chiariti dalle sperimentazioni cliniche controllate. Vi è pertanto l'esigenza di duraturi sistemi di sorveglianza in grado di monitorarne il profilo di rischio.

**Materiali e Metodi:** MonitorNet è un database costituito dalla Società Italiana di Reumatologia (SIR) nel gennaio 2007 e finanziato dall'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA), con l'obiettivo del monitoraggio a lungo termine dei pazienti affetti da artrite reumatoide (AR), artrite psoriasica (AP) e spondilite anchilosante (SA) trattati con farmaci biologici. Tutte le Unità Operative Complesse di reumatologia italiane sono state invitate a partecipare ad uno studio epidemiologico, non-interventistico, osservazionale. Tale studio si svolge nell'ambito della pratica clinica quotidiana (real-world practice) dove i farmaci biologici sono prescritti sulla base delle raccomandazioni correnti.

**Risultati:** Ad Aprile 2009 il database comprendeva 3.510 pazienti: 2.469 (70,3%) con AR, 675 (19,2%) con AP e 366 (10,4%) con SA. Il periodo cumulativo di follow-up era di 8.787 anni-paziente (AR: 8388, AP: 157, AS: 242). Abbiamo valutato l'incidenza degli eventi avversi in questa casistica, in rapporto al trattamento effettuato. Gli eventi avversi sono stati classificati sulla base dei criteri RCTC (Rheumatology Common Toxicity Criteria) v.2.0. Gli eventi avversi sono stati clas-

sificati anche sulla base del grado di severità e del rapporto causale con il farmaco biologico assunto. Sulla base del periodo totale di esposizione al farmaco è stato calcolato il tasso grezzo di incidenza dei diversi eventi avversi. Per specifici eventi avversi è stato calcolato il tasso corretto sulla base dei fattori di rischio e delle variabili di confondimento note.

Sono stati riportati 1.538 eventi avversi in 938 (26,7%) pazienti. In 630 pazienti sono stati riportati episodi infettivi; in 142 reazioni avverse cutanee ed in 90 reazioni post-infusionali. Nel database sono state segnalate 30 neoplasie maligne. Il tasso di incidenza grezzo per la TBC è risultato essere 1,02 casi per 1000 anni-paziente; quello dell'infezione da herpes zoster 3,41. Per quanto riguarda le neoplasie il tasso di incidenza grezzo per i linfomi era di 0,68/1.000 anni-paziente, mentre quello per i tumori maligni solidi rea di 2,73/1.000 anni-paziente.

**Conclusioni:** In definitiva, dall'analisi ad-interim dei dati provenienti da un ampio studio osservazionale esteso a tutto il territorio italiano ed in corso ormai da 3 anni, non sono ad ora emerse nuove preoccupazioni riguardo la sicurezza dei farmaci biologici nella pratica clinica reumatologica.

Questo studio è stato finanziato dall'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) nell'ambito del programma di finanziamento della ricerca indipendente sul farmaco. Contratto n-FARM5KJ9P5

**Keywords:** Farmaci biologici, Eventi avversi, Studio osservazionale.

## SUBSETS B CELLULARI ED ATTIVITÀ DI MALATTIA IN PAZIENTI CON ARTRITE REUMATOIDE PRIMA E DOPO TERAPIA B-DEPLETIVA

A. Laria, F. Faustini, G. Peluso, G. D'Antona, B. Tolusso, E. Gremese, M. De Santis, S.L. Bosello, D. Pietrapertosa, G.F. Ferraccioli

Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

**Scopo del Lavoro:** Il ruolo delle cellule B nello sviluppo e nel mantenimento delle patologie autoimmuni appare non esclusivamente correlato alla loro funzione di cellule produttrici anticorpi.

Scopo del lavoro è stato quello di caratterizzare la popolazione B-linfocitaria in pazienti affetti da artrite reumatoide (AR) rispetto ad un gruppo di soggetti di controllo, utilizzando il sistema di classificazione Bm1-Bm5 (1) in combinazione con il CD27 (2), e di correlarla con l'attività di malattia.

Valutare inoltre la distribuzione delle sottopopolazioni B cellulari prima e dopo terapia B-depletiva con rituximab (RTX).

**Materiali e Metodi:** Linfociti e monociti circolanti, isolati da sangue periferico di 28 pazienti e 15 soggetti di controllo, sono stati analizzati per l'espressione di marcatori di superficie CD19, IgD, CD38, CD27, CD5 e Zap-70 intracellulare attraverso metodiche citofluorimetriche.

Per ogni paziente sono stati raccolti i dati demografici, clinici e di laboratorio.

L'attività di malattia è stata valutata attraverso l'utilizzo del DAS score. Tredici dei 28 pazienti compresi nello studio, sono stati trattati con rituximab (RTX, 1 g x 2 basalmente con eventuale ritrattamento a 6, 9 o 12 mesi) e valutati al 12° mese di follow-up (T12).

**Risultati:** Nei pazienti affetti da AR rispetto ai controlli, non è stata riscontrata nessuna differenza statisticamente significativa nella distribuzione B linfocitaria secondo la classificazione Bm1-Bm5.

La percentuale di linfociti B (CD19+CD27-IgD-) circolanti nei pazienti con AR è risultata inferiore rispetto ai controlli (13,9±8,4 vs. 21,3±9,8, p=0,01).

Lo score DAS correlava direttamente con la percentuale di Bm2+Bm2' (r=0,384, p=0,04) e inversamente con le cellule di memoria eBm5 (r=-0,386, p=0,04) e con le cellule CD19+CD27+CD38+ (r=-0,392, p=0,04).

I 13 pazienti sottoposti a trattamento con RTX presentavano al T12, come atteso, una significativa riduzione della percentua-

le di cellule CD19+ ( $p < 0.001$ ); analizzando la distribuzione dei sottogruppi B-cellulari, si riscontrava una significativa riduzione delle cellule di memoria (eBm5+Bm5) ed un parallelo aumento delle cellule CD19+CD38+ ( $p=0.035$  e  $p < 0.001$ , rispettivamente).

Al T12, inoltre, si riscontrava una aumentata positività di cellule CD5+ e Zap-70+ nell'ambito delle cellule CD19+, rispetto al basale.

**Conclusioni:** Il compartimento B cellulare nell'AR sembra caratterizzato da una riduzione di cellule di memoria CD27- e da una maggiore sopravvivenza di cellule B CD38 + e CD5+Zap+ dopo terapia B-depletiva.

#### Bibliografia

1. Binard A, et al. Ann Rheum Dis 2008.
2. Sanz I, et al. Semin Immunol 2008.

**Keywords:** Artrite reumatoide, Linfociti B, Rituximab.

---

## B-DEPLEZIONE NELL'ARTRITE REUMATOIDE: EFFICACIA CLINICA

G. D'Antona, F. Faustini, G. Peluso, A. Laria, B. Tolusso, E. Gremese, M. De Santis, S.L. Bosello, D. Pietrapertosa, G.F. Ferraccioli

Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

**Scopo del Lavoro:** Individuare le caratteristiche cliniche e biologiche basali che possano predire l'efficacia del Rituximab (RTX) in una coorte di pazienti con AR dopo follow-up di 12 mesi.

**Materiali e Metodi:** 47 pazienti affetti da AR non responsiva alla terapia con DMARDs e/o anti-TNF $\alpha$  sono stati trattati con RTX. Ciascun paziente è stato trattato con uno schema basale di 2 infusioni (1 g a 0 e 15 giorni); trattamenti successivi, non prima di sei mesi dal ciclo basale, sono stati effettuati con schema in due infusioni (500 mg x 2) o con schema ematologico (375 mg/m<sup>2</sup> nei giorni 1, 7, 14, 21). La ripetizione del trattamento veniva considerata dopo almeno 24 settimane nei pazienti che presentavano una attività residua o una ripresa di malattia. Dati clinici, immunologici e laboratoristici sono stati raccolti al basale ed ogni tre mesi. I criteri di risposta EULAR basati sul DAS sono stati utilizzati nella valutazione dell'attività di malattia (DAS  $\leq 2.4$ : low disease activity). Ad oggi, 32 pazienti hanno raggiunto il sesto mese di follow-up (T6) e 26 pazienti il dodicesimo mese (T12).

**Risultati:** Al basale, l'età media dei pazienti era di  $59 \pm 2$  anni e la durata media di malattia di  $12 \pm 1$  anni. 37 (78.7%) pazienti erano stati precedentemente trattati con farmaci anti-TNF $\alpha$ , di questi 17 (45.9%) lo avevano sospeso per inefficacia. All'inizio del trattamento il 66.7% dei pazienti era positivo per gli anticorpi anti-CCP e il 72.7% per il fattore reumatoide (FR). Al 12° mese di follow-up è stato osservato un significativo de-

cremento dei livelli sierici di FR ( $385.8 \pm 90.3$  IU/ml al basale e  $113.7 \pm 39.0$  IU/ml dopo 12 mesi;  $p=0.004$ ), di VES ( $26.3 \pm 4.8$  mm 1<sup>a</sup> ora) e PCR ( $7.0 \pm 1.9$  mg/l) rispetto ai livelli basali (VES:  $42.8 \pm 3$  mm 1<sup>a</sup> ora,  $p=0.002$ ; PCR  $18.2 \pm 2.3$  mg/l,  $p=0.002$ ), ma non una significativa variazione dei livelli sierici di anti-CCP ( $43.1 \pm 6.7$  U/ml al basale vs.  $51.9 \pm 9.9$  U/ml;  $p=0.35$ ).

Al 12° mese dall'inizio del trattamento, un valore di DAS  $\leq 2.4$  (low disease activity) è stato raggiunto da 13 pazienti (50%). Le caratteristiche al basale che differenziavano i pazienti con low disease activity dai pazienti con DAS  $> 2.4$  al T12 erano le seguenti: HAQ  $1.07 \pm 0.89$  vs.  $1.97 \pm 0.5$  ( $p=0.015$ ), anti-CCP  $71.5 \pm 52.3$  IU/ml vs  $34.6 \pm 38.0$  IU/ml ( $p=0.06$ ), FR IgM  $96.01 \pm 10.4$  IU/ml vs  $26.0 \pm 66.4$  IU/ml ( $p=0.01$ ). Nessuna differenza è stata invece riscontrata in relazione ad età, sesso, durata di malattia, terapia steroidea precedente, anti-TNF $\alpha$ , MTX, eventuale ritrattamento e/o schema di ritrattamento.

All'analisi di regressione lineare, le variabili indipendenti che correlavano con la variabile dipendente low disease activity (DAS  $\leq 2.4$ ) a 12 mesi, erano: PCR ( $p=0.04$ ), HAQ (0.06), FR-IgM ( $p=0.04$ ) e anti-CCP ( $p=0.08$ ).

**Conclusioni:** Sulla base dei dati, nella nostra coorte la positività autoanticorpale per FR-IgM e bassi livelli di flogosi al basale sembrano costituire un fattore predittivo di risposta clinica al trattamento con RTX.

**Keywords:** Artrite reumatoide, Rituximab, Predittori di risposta.

## SAFETY OF RITUXIMAB IN DIFFERENT RHEUMATIC AUTOIMMUNE DISEASES: A SINGLE CENTRE EXPERIENCE IN 115 CASES

L. Quartuccio, S. Lombardi, M. Fabris, A. Perin, E. Di Poi, S. Sacco, S. De Vita

*Clinica di Reumatologia, Azienda Ospedaliero Universitaria di Udine*

**Objective:** We report the experience of our Centre in 115 patients with different autoimmune diseases treated with rituximab.

**Patients and Methods:** From 2000 to 2009, 115 patients, 93 females (80,9%) and 22 males (19,1%), were treated with rituximab. Forty-nine were patients with rheumatoid arthritis (RA), 35 with mixed cryoglobulinemia (MCsn), 11 with systemic sclerosis (SSc), 14 with systemic lupus erythematosus (SLE), 8 with Sjogren's syndrome (SS), 2 with Wegener's granulomatosis, 2 with dermatomyositis. In 8 patients an overlap syndrome was diagnosed, accounting for an overall count of 123 autoimmune diseases treated with rituximab. Concomitant immunosuppressors, when given, were: methotrexate, cyclosporine, leflunomide, tacrolimus, azathioprine, mycophenolate, intravenous immunoglobulins, antimalarials. Pre-medication with 6-methylprednisolone 100 mg iv was given before the first rituximab infusion in 80/115 patients (69,6%).

**Results:** Three different schedule of rituximab regimen were employed: 375 mg/m<sup>2</sup> x 4 weeks, 1000 mg x 2 (day 1-day 15), 375 mg/m<sup>2</sup> x 8 weeks (in two cases with cryoglobulinemic vasculitis and MALT-type lymphoma associated to SS). Retreatment with a full cycle of rituximab (375 mg/m<sup>2</sup> x 4 weeks, 1000 mg x 2 (day 1-day 15)) was given in 42/115 patients (36,5%). A maintenance regimen was instituted in 6 cases: 1 patient with RA and SS with parotid myoepithelial sialadenitis, 4 patients with severe or early relapsed MCsn with renal or intestinal involvement and 1 patient with severe dermatomyositis. Three different type of maintenance regimen were ad-

ministrated: a full cycle of rituximab every six months (1 MC nephritis), a single rituximab infusion 375 mg/m<sup>2</sup> every six-nine months (RA) or a single rituximab infusion every two-four months (1 MC nephritis, 2 MC intestinal vasculitis, 1 dermatomyositis). Relevant side effects related or possibly related to rituximab were reported in 22/115 patients (19,1%), consisting in fever (1/115), hypotension (3/115 at the first infusion in 2/3 and at the second infusion in 1/3), hypertension at the first infusion (1/115), arrhythmia at the first infusion (1/115), abdominal pain (1/115), serum sickness (1/115), shaking chills (1/115), facial and oropharyngeal angioedema at the second cycle (2/115), urticaria (1/115), severe arthromyalgias (1/115), severe infection (pneumonitis) (1/115), severe uncomplicated neutropenia (2/115), neoplasia (2/115) (recurrent basalomas, multiple myeloma), panniculitis (1/115), arterial thrombosis (1/115), polymyositis (1/115), ophtalmic zoster (1/115). The majority of these reported side-effects were observed in autoimmune diseases other than RA (p=0.05, Fisher's exact test). Treatment premature suspension due to side-effects occurred in 5/115 patients (4,3%). Death occurred in 1/115 patients (patient with mixed cryoglobulinemic nephritis heavily treated with steroids) due to septic shock.

**Conclusions:** Rituximab is generally well tolerated in autoimmune diseases, with an acceptable low incidence of serious adverse events, including severe bacterial infections. RA patients showed less frequent side effects in our experience.

**Keywords:** *Rituximab, Autoimmune diseases, Safety.*

## **COMUNICAZIONI SULLE SPONDILOARTRITI**

*Moderatori: L. Altomonte (Roma), A. Padula (Potenza)*

- Golimumab, a new, human, tnf alpha antibody, administered subcutaneously every 4 weeks in psoriatic arthritis patients: 104-week efficacy and safety results of the randomized, placebo-controlled go-reveal study  
*F. Van den Bosch, P. Mease, G.G. Krueger, D. Gladman, J. Zrubek, A. Beutler, B. Hsu, S. Mudivarthy, M. Mack, I. McInnes*
- The effect of anti-tnf therapy on uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. The ten year experience of our centre  
*A. Hila, V. Gerloni, I. Pontikakii, C. Donati, E. Miserocchi, F. Fantini*
- Interessamento entesitico nelle malattie infiammatorie croniche idiopatiche del colon: dati preliminari di uno studio monoistituzionale  
*R. Buono, R. Bennato, R. Russo, G. Lombardi, A. Balzano, G. Uomo*
- Studio cross-over prospettico randomizzato di confronto tra quantiferon TB gold e test secondo mantoux nei pazienti candidati al trattamento con farmaci biologici antagonisti del TNFalfa  
*R. Scrivo, G. Iaiani, I. Sauzzullo, F. Mengoni, A.R. Vestri, R. Priori, G.L. Di Tanna, F.R. Spinelli, C.M. Mastroianni, V. Vullo, G. Valesini*
- Livelli plasmatici di dimetilarginina asimmetrica (ADMA) e funzione vascolare nei pazienti con spondilite anchilosante: studio cross-sectional caso controllo  
*G.L. Erre, P. Sanna, A. Zinellu, N. Tonelli, M. Piras, S. Piras, D. Chessa, C. Carru, A. Ganau, G. Passiu*
- Aterosclerosi subclinica in pazienti con artrite psoriasica: uno studio caso-controllo  
*C. Contessa, R. Ramonda, A. Lo Nigro, V. Modesti, M. Puato, C. Tirrito, M.G. Lorenzin, A. Doria, L. Punzi*
- Persistenza e cause di interruzione nel trattamento con teriparatide (PTH 1,34): dati preliminari di un programma educativo di supporto per pazienti con severa osteoporosi  
*F. Vacca, U. Massafra, E. Bizzi, M. Granata, S. Martin Martin, A. Migliore*

## GOLIMUMAB, A NEW, HUMAN, TNF ALPHA ANTIBODY, ADMINISTERED SUBCUTANEOUSLY EVERY 4 WEEKS IN PSORIATIC ARTHRITIS PATIENTS: 104-WEEK EFFICACY AND SAFETY RESULTS OF THE RANDOMIZED, PLACEBO-CONTROLLED GO-REVEAL STUDY

F. Van den Bosch<sup>1</sup>, P. Mease<sup>2</sup>, G.G. Krueger<sup>3</sup>, D. Gladman<sup>4</sup>, J. Zrubek<sup>5</sup>, A. Beutler<sup>5</sup>, B. Hsu<sup>5</sup>, S. Mudivarthi<sup>6</sup>, M. Mack<sup>6</sup>, I. McInnes<sup>7</sup>, on behalf of the GO-REVEAL Study Investigators

<sup>1</sup>University Hospital, Gent, Belgium; <sup>2</sup>Rheumatology, Swedish Medical Ctr & Seattle Rheumatology Associates, Seattle, WA, USA;

<sup>3</sup>Dermatology, University of Utah Health Sciences Ctr, Utah, USA; <sup>4</sup>Rheumatology, University of Toronto, CANADA;

<sup>5</sup>Immunology, Centocor R & D, Inc, Malvern, PA, USA; <sup>6</sup>BioStatistics, Centocor R&D, Inc, Malvern, PA, USA;

<sup>7</sup>Rheumatology, University of Glasgow, United Kingdom

**Objectives:** To assess long-term efficacy and safety of golimumab (GLM) in active PsA and associated skin disease.

**Methods:** PsA pts with >3 swollen and >3 tender joints and psoriatic skin lesions were randomized to SC PBO or GLM (50 or 100 mg) q4 wks.

At wk 16, pts with inadequate arthritis response entered early escape (EE) to GLM 50 mg (PBO pts) or GLM 100 mg (GLM 50 mg pts).

All pts received GLM from wk 24. The trial was unblinded to investigators and pts after all pts reached wk 52.

Investigators could dose escalate pts receiving GLM 50 mg to 100 mg based on clinical judgement.

Results for the pts who were randomized to GLM 50 or 100 mg and remained on the same dose throughout and for pts who changed the treatment from GLM 50 to 100 mg are described. Analyses were based on observed data.

**Results:** 405 pts with active PsA were randomized (113 PBO, 146 GLM 50 mg, 146 GLM 100 mg).

GLM was significantly better than PBO in improving signs and symptoms of PsA at wk 24, and GLM efficacy was maintained through wk 52.

Through wk 104, pts randomized to GLM 50 mg or 100 mg and continuing on the same dose throughout maintained high levels of response.

GLM 50 mg pts who switched to 100 mg in EE or via dose escalation also achieved clinically meaningful responses (Table I). GLM was generally well-tolerated, with 8.6% (34/394) of GLM-treated pts experiencing serious AEs through wk104.

Injection site reactions occurred in 8.9% (35/394) of GLM-treated pts and with 0.7% (109/16007) of GLM injections through wk 104.

There were no reports of TB, and 1 case of histoplasmosis in a pt (GLM 100 mg) living in an endemic area was successfully treated.

Malignancies reported through wk 104 included basal cell skin (1 pt), colon (1 pt), and small cell lung cancer (1 pt) in pts receiving GLM 50 mg, and basal cell skin (3 pts), prostate (1 pt), and small cell lung cancer (1 pt) in pts receiving GLM 100 mg. Two pts died through wk 104, one due to a climbing accident (GLM 50 mg) and 1 due to small cell lung cancer (GLM 100 mg).

**Table Footnotes:** 1 includes pts randomized to GLM 50 mg and did not change dose; 2 includes pts on PBO at baseline who entered EE or crossed over to GLM50 mg and later dose escalated to GLM 100 mg and pts randomized to GLM 50 mg who entered EE or dose escalated to GLM 100 mg; 3 includes pts randomized to GLM 100 mg and did not change dose; 4 among pts with >3% body surface area psoriasis involvement at baseline.

**Conclusion:** Pts with active PsA treated with GLM 50 and 100 mg SC q4 wks maintained high levels of improvement through wk 104. GLM was generally well-tolerated, with a safety profile similar to that observed for other anti-TNF agents.

### References

On behalf of GO-REVEAL study grp.

**Keywords:** Psoriatic Arthritis, Anti-TNF alpha antibody.

**Table I** - Summary of efficacy in GO-REVEAL through wk 104.

Wk52	GLM 50 mg only <sup>1</sup>	GLM 50=>100 mg <sup>2</sup>	GLM 100 only <sup>3</sup>
ACR20	80/102 (78.4%)	11/26 (42.3%)	93/115 (80.9%)
HAQ score, mean (SD)	n=100, 0.49 (0.55)	n=26, 0.20 (0.49)	n=113, 0.50 (0.54)
ACR50	58/102 (56.9%)	7/26 (26.9%)	68/115 (59.1%)
ACR70	44/102 (43.1%)	3/26 (11.5%)	41/115 (35.7%)
DAS28 responders (moderate & good)	90/97 (92.8%)	16/25 (64.0%)	100/110 (90.0%)
PASI75 respons 4 Wk 104	44/71 (62.0%)	17/23 (73.9%)	60/86 (69.8%)
ACR20	64/70 (91.4%)	43/76 (56.6%)	95/130 (73.1%)
HAQ score, mean (SD)	n=69, 0.54 (0.55)	n=76, 0.36 (0.57)	n=127, 0.46 (0.57)
ACR50	46/70 (65.7%)	27/76 (35.5%)	70/130 (53.8%)
ACR70	31/70 (44.3%)	17/76 (22.4%)	48/130 (36.9%)
DAS28 responders (moderate & good)	68/68 (100.0%)	60/72 (83.3%)	100/124 (88.7%)
PASI75 response	33/48 (68.8%)	35/56 (62.5%)	73/96 (76.0%)

## THE EFFECT OF ANTI-TNF THERAPY ON UVEITIS ASSOCIATED WITH JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS. THE TEN YEAR EXPERIENCE OF OUR CENTRE

A. Hila<sup>1</sup>, V. Gerloni<sup>1</sup>, I. Pontikaki<sup>1</sup>, C. Donati<sup>1</sup>, E. Miserocchi<sup>2</sup>, F. Fantini<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Ortopedico Gaetano Pini, Milano; <sup>2</sup>Istituto Scientifico San Raffaele, Milano

**Background:** The TNF blockade has a known therapeutic effect on Juvenile Idiopathic Arthritis (JIA), but the effect on JIA associated uveitis is still unclear. Our retrospective study evaluates the different impact between monoclonal anti-TNF antibodies (mAb) adalimumab and infliximab and the soluble TNF-receptor (sTNFr) etanercept on JIA associated uveitis.

**Methods:** We checked the clinical records of all patients with JIA and associated chronic anterior uveitis (CAU) treated in our Center during the last 10 years with anti-TNF agents (mAb or sTNFr) and valued the effect of the anti-TNF therapy on uveitis. Periodical ophthalmic visits were executed: patients with uveitis or risk factors for uveitis (female, oligoarticular JIA, ANA positive, early onset) every 1-3 months, whereas the others every 6-12 months. We registered the activity (cellular flare), the relapses and the complications of ocular inflammation during the treatment with anti-TNF. All patients with JIA and CAU (active or previous) treated with one or more anti-TNF agents either for arthritis or uveitis were enrolled.

**Results:** We performed 70 treatments in 38 patients during the last 10 years. Adalimumab was administered at the dose of 24 mg/m<sup>2</sup>/15 days s.c, infliximab 6 mg/kg i.v. at 0, 2th, 4th week and then according to the clinical response and etanercept 0.8 mg/kg/7 days s.c in association with DMARDs. All patients (#11) with inactive uveitis at the beginning of the mAb therapy

(infliximab and adalimumab) had no relapses during the therapy, while in 9 out of 19 patients (47%) with inactive uveitis at the beginning of the etanercept therapy the uveitis relapsed. With the mAb therapy, in patients with active uveitis, a positive response on uveitis (8 improvement, 14 remission) was obtained in 22 of 35 treatments (63%). All patients (#3) with active uveitis at the beginning of the etanercept treatment worsened. We observed 2 new onsets of uveitis during the anti-TNF therapy, 1 case during Infliximab therapy (6 yrs old female, extended oligoarticular JIA, ANA positive) and 1 case during etanercept therapy (23 yrs old female, extended oligoarticular JIA, ANA negative).

**Conclusions:** The mAb (infliximab and adalimumab) are an effective therapeutic option for the treatment of JIA associated uveitis. The sTNFr (etanercept) does not prevent from relapses of JIA associated uveitis, so a close follow-up of the uveitis during this therapy is important. The uveitis can occur for the first time during the anti-TNF therapy (mAb and sTNFr).

**Keywords:** Uveitis, Juvenile idiopathic arthritis, Anti-TNF therapy.

## INTERESSAMENTO ENTESITICO NELLE MALATTIE INFIAMMATORIE CRONICHE IDIOPATICHE DEL COLON: DATI PRELIMINARI DI UNO STUDIO MONOISTITUZIONALE

R. Buono<sup>1</sup>, R. Bennato<sup>2</sup>, R. Russo<sup>1</sup>, G. Lombardi<sup>2</sup>, A. Balzano<sup>2</sup>, G. Uomo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>U.O.S.C. Medicina Interna III, Azienda Ospedaliera A. Cardarelli, Napoli;

<sup>2</sup>U.O.S.C. Gastroenterologia, Azienda Ospedaliera A. Cardarelli, Napoli

**Introduzione:** In letteratura non vi sono molti dati circa l'interessamento articolare ed in particolare delle entesi nelle malattie infiammatorie croniche idiopatiche del colon (MICI). Riportiamo i dati preliminari di uno studio osservazionale disegnato per la ricerca della entesite in pazienti affetti da MICI.

**Pazienti e Metodi:** Sono stati studiati 72 pazienti con MICI. Un paziente affetto da artrite reumatoide e 4 da MICI non classificabile sono stati esclusi dalla presente valutazione. In totale si tratta quindi di 67 pazienti: 56 affetti da rettocolite ulcerativa (RU; 31 m, 25 f, età media 48.1±15.7 anni, range 18-82) e 11 da malattia di Crohn (MC; 5 m, 6 f, età media 43.2±13.4 anni, range 19-68). Il protocollo di studio ha previsto la raccolta di dati relativi alla patologia intestinale (estensione, durata, attività - CAI, CDAI -, trattamento) e una scheda reumatologica includente dati ematochimici, clinimetrici (BASDAI, BASFI, Dougados, BASMI, Ritchie mod.), ecografici e radiologici. La ecografia articolare è stata fatta in base ai criteri MASES e completata con color-power-doppler, pulse-repetition-frequency.

**Risultati:** In 29 pazienti (43.2%) - tutti asintomatici per impegno entesoartrite - l'indagine ecografica ha svelato la presenza di entesite; in 23/56 con RU (41%) e 6/11 con MC (54.5%) - ns. Gli indici di attività delle MICI concordavano con i dati eco (presenza/assenza di entesite) nel 58.9% di RU e nel 72.7% di MC (Chi-quadro: p=0.6 nel confronto con GL=1, p=

0.07 con GL=3). In totale i pazienti positivi per dati eco e negativi per attività clinica di MICI erano 19/67 (28.3%). Tutti gli altri parametri valutati non davano significatività statistica fra i gruppi eco pos/neg per entesite ove si eccettui un p=0.05 per la durata di malattia nel MC (significativamente più breve nei pazienti con entesite).

**Conclusioni:** Questi dati preliminari mostrano che una entesite subclinica evidenziata alla indagine ecopower-doppler è una evenienza frequente nelle MICI.

Lo studio è in progress, prevedendo il reclutamento finale di 150 pazienti che verranno poi seguiti prospetticamente per un periodo di 3 anni.

**Keywords:** Entesite, Colonpatie infiammatorie, Eco articolare.

## STUDIO CROSS-OVER PROSPETTICO RANDOMIZZATO DI CONFRONTO TRA QUANTIFERON TB GOLD E TEST SECONDO MANTOUX NEI PAZIENTI CONDIDATI AL TRATTAMENTO CON FARMACI BIOLOGICI ANTAGONISTI DEL TNFALFA

R. Scrivo<sup>1</sup>, G. Iaiani<sup>2</sup>, I. Sauzullo<sup>2</sup>, F. Mengoni<sup>2</sup>, A.R. Vestri<sup>3</sup>, R. Priori<sup>1</sup>, G.L. Di Tanna<sup>3</sup>, F.R. Spinelli<sup>1</sup>, C.M. Mastroianni<sup>4</sup>, V. Vullo<sup>2</sup>, G. Valesini<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Clinica e Terapia Medica, Reumatologia, Sapienza Università di Roma; <sup>2</sup>Dipartimento di Malattie Infettive e Tropicali, Sapienza Università di Roma; <sup>3</sup>Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sapienza Università di Roma;

<sup>4</sup>Unità di Malattie Infettive, Sapienza Università di Roma, Polo Pontino, Latina

**Scopo dello Studio:** Lo screening per valutare la presenza di infezione tubercolare latente (LTBI), necessario per i pazienti candidati al trattamento con farmaci antagonisti del TNF $\alpha$ , prevede l'esecuzione della radiografia del torace e della reazione di Mantoux (TST). Di recente è stato introdotto un test in vitro, il QuantiFERON TB Gold (QFT-G), la cui performance nei pazienti immunodepressi non ha prodotto ad oggi risultati conclusivi. Lo scopo di questo studio è stato quello di confrontare l'efficacia del QFT-G e del TST 5U nell'individuare una condizione di LTBI in pazienti immunodepressi candidati al trattamento con farmaci antagonisti del TNF $\alpha$ .

**Materiali e Metodi:** Sono stati arruolati, dopo aver ottenuto il consenso informato scritto, 47 pazienti consecutivi (M/F: 15/32; età media 50 anni, range 18-80): 22 (47%) affetti da artrite reumatoide, 18 (38%) da artrite psoriasica, 4 (8.5%) da spondilite anchilosante e 3 (6.4%) da sindrome di Behçet. Lo screening all'arruolamento includeva: radiografia del torace, QFT-G e TST. La lettura del TST, eseguita dopo 72 ore, è stata considerata positiva nel caso in cui il diametro dell'indurimento cutaneo risultasse uguale o superiore a 5 mm. Per ciascun paziente abbiamo indagato eventuali fattori di rischio per infezione latente e la pregressa vaccinazione con BCG.

**Risultati:** Il test QFT-G è risultato negativo in 38 (80.8%), positivo in 3 (6.4%) ed indeterminato in 6 (12.8%) pazienti. Al TST sono risultati positivi 5 dei 38 soggetti con QFT-G negativo, di cui 1 era stato vaccinato con BCG, e 1 dei 3 soggetti

con QFT-G positivo; il TST è risultato negativo in tutti i 6 soggetti con QFT-G indeterminato: l'indice di concordanza tra i due test è risultato pari a 82.9% ( $k=0.829$ , 95% IC: 68.35-92.30). Nella popolazione in studio 6 soggetti (12.7%) presentavano fattori di rischio per LTBI: tutti sono risultati negativi sia al TST che al QFT-G, tranne 1 in cui il QFT-G è risultato indeterminato. Al momento dello screening 36 pazienti (76.5%) erano in terapia con immunosoppressori e/o corticosteroidi: tra questi, 5 soggetti hanno presentato QFT-G indeterminato e TST negativo, mentre 2 erano positivi al QFT-G e negativi al TST.

**Conclusioni:** I risultati di questo studio mostrano una buona concordanza tra i due test, suggerendo la possibilità di utilizzare il QFT-G come ausilio per lo screening di LTBI nei soggetti candidati al trattamento con antagonisti del TNF $\alpha$ , soprattutto nei casi in cui si sospetti una falsa negatività del TST. L'analisi dei dati ha evidenziato una bassa percentuale di risultati indeterminati del QFT-G (12.8%), paragonabile a quella dei soggetti immunocompetenti. In conclusione, i nostri dati, seppur preliminari, evidenziano una buona performance del QFT-G in pazienti affetti da patologie infiammatorie croniche, anche in presenza di trattamenti prolungati con immunosoppressori e/o corticosteroidi.

**Keywords:** Antagonisti del TNFalfa, Quantiferon TB gold, Test secondo Mantoux.

## LIVELLI PLASMATICI DI DIMETILARGININA ASIMMETRICA (ADMA) E FUNZIONE VASCOLARE NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: STUDIO CROSS-SECTIONAL CASO CONTROLLO

G.L. Erre<sup>1</sup>, P. Sanna<sup>2</sup>, A. Zinellu<sup>3</sup>, N. Tonelli<sup>1</sup>, M. Piras<sup>1</sup>, S. Piras<sup>1</sup>, D. Chessa<sup>1</sup>, C. Carru<sup>3</sup>, A. Ganau<sup>2</sup>, G. Passiu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cattedra di Reumatologia, Università degli Studi di Sassari; <sup>2</sup>Cattedra di Cardiologia, Università degli Studi di Sassari;

<sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Sassari

**Introduzione:** La spondilite anchilosante (AS) è gravata da una riduzione dell'aspettativa di vita principalmente legata all'incremento della morbilità e mortalità cardiovascolari aterosclerotiche. Un gran numero di evidenze scientifiche ha recentemente sottolineato il ruolo della dimetilarginina asimmetrica (ADMA), inibitore endogeno dell'ossido nitrico-sintetasi, nel promuovere la disfunzione endoteliale e il processo aterosclerotico.

**Obiettivi:** È stato condotto uno studio cross-sectional per valutare se i livelli plasmatici di ADMA nei pazienti affetti da AS siano elevati rispetto alla popolazione generale in maniera indipendente dai fattori di rischio cardiovascolare tradizionali.

**Metodi:** Sono stati inclusi nello studio 17 pazienti affetti da AS (10 M, 7 F, 39 $\pm$ 11 anni, con durata media di malattia di 114 $\pm$ 108 mesi), classificati secondo i criteri modificati di New York ed esenti da malattia cardiovascolare e altrettanti controlli sani [incrociati per sesso, età ( $\pm$ 5 anni) e fattori di rischio cardiovascolare].

In entrambi i gruppi è stato valutato l'assetto vascolare come segue:

- spessore mio-intimale carotideo (IMT) attraverso l'ultrasonografia ad alta risoluzione;
- dilatazione flusso-mediata (FMD) e nitrato-mediata (NMD) attraverso il Power-Doppler della arteria brachiale;
- stiffness aortica (augmentation pressure aortica [aAP] e augmentation index aortico [aAix $\neq$ 75]) attraverso la pulse wave analysis derivata dalla tonometria dell'arteria radiale;
- i livelli plasmatici di ADMA sono stati valutati mediante elettroforesi capillare.

**Risultati:** non vi erano differenze tra i casi e i controlli per quanto riguarda l'IMT (vedi tabella). Nonostante vi fosse una differenza in termini assoluti tra i pazienti con AS e i controlli per l'aAix $\neq$ 75, la FMD e la NMD questa non raggiungeva la significatività statistica. Al contrario nei pazienti con AS i livelli plasmatici di ADMA risultavano significativamente più elevati rispetto ai controlli ( $p=0.001$ ). L'analisi bivariata eseguita nel campione complessivo mostrava una significativa associazione tra i livelli plasmatici di ADMA e la presenza della AS ( $r=0.541$ ,  $p=0.002$ ), la BMI ( $r=0.387$ ,  $p=0.024$ ) il sesso femminile ( $r=0.478$ ,  $p=0.004$ ) e i livelli di VES e PCR

**Tabella I** - ADMA e parametri cardiovascolari nei pazienti con AS e nei controlli.

Parametro	AS (n=17)	Controlli (n=17)
ADMA, $\mu\text{mol/L}$	0.65 $\pm$ 0.10*	0.54 $\pm$ 0.07
IMT, mm	0.64 $\pm$ 0.1	0.67 $\pm$ 0.1
AAP, mmHg	6.8 $\pm$ 4.9	8.4 $\pm$ 6.3
aAix $\approx$ 75, %	23 $\pm$ 27	19.2 $\pm$ 18.3
FMD, %	13.1 $\pm$ 4.7	14.4 $\pm$ 6.9
NMD, %	19.3 $\pm$ 4.3	21.5 $\pm$ 4.6

\*p=0.001 vs controlli.

( $r=0.501$ ,  $p=0.003$  e  $r=0.387$ ,  $p=0.032$  rispettivamente). Nel modello di regressione multipla la BMI, il sesso femminile e la presenza della AS rendevano conto di almeno un terzo della variazione dell'ADMA ( $R=0.787$ ,  $R^2=0.620$ ,  $\Delta R^2=0.582$ ,  $\Delta R^2 -0.031$ ,  $F=16.318$ ,  $p=0.000$ ).

**Conclusioni:** Lo studio suggerisce per la prima volta che nei pazienti affetti da AS i livelli di ADMA siano elevati rispetto alla popolazione generale e che tale incremento sia almeno in parte correlato all'infiammazione sistemica caratteristica della malattia. Questi risultati possono aiutare a interpretare l'eccesso di mortalità cardiovascolare aterosclerotica nei pazienti affetti da AS

**Keywords:** Dimetilarginina asimmetrica, Spondilite anchilosante, Disfunzione endoteliale.

## ATEROSCLEROSI SUBCLINICA IN PAZIENTI CON ARTRITE PSORIASICA: UNO STUDIO CASO-CONTROLLO

C. Contessa<sup>1</sup>, R. Ramonda<sup>1</sup>, A. Lo Nigro<sup>1</sup>, V. Modesti<sup>1</sup>, M. Puato<sup>2</sup>, C. Tirrito<sup>2</sup>, M.G. Lorenzin<sup>1</sup>, A. Doria<sup>1</sup>, L. Punzi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cattedra e U.O.C. di Reumatologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Padova;

<sup>2</sup>Clinica Medica IV, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Padova

**Scopo dello Studio:** Numerosi studi hanno dimostrato la presenza di un processo aterosclerotico accelerato ed un aumento della morbilità e mortalità cardiovascolare in pazienti affetti da malattie reumatiche; più recenti sono gli studi che sembrano confermare questi dati anche per l'artrite psoriasica (AP). Oggetto di questo studio è stato valutare la presenza di aterosclerosi subclinica in una casistica personale di pazienti affetti da AP, in correlazione con alcuni fattori di rischio tradizionali e con fattori legati alla malattia articolare e cutanea.

**Materiali e Metodi:** Sono stati studiati 41 pazienti affetti da AP e 41 controlli sani "best friends". L'aterosclerosi subclinica è stata valutata mediante lo studio ultrasonografico dello spessore medio-intimale (IMT) carotideo e della dilatazione flusso-mediata (FMD) dell'arteria brachiale. I valori di IMT sono stati espressi come media cumulativa degli IMT medi (IMT mean) e media cumulativa di tutti i massimi IMT (M-MAX) misurati in ogni segmento dell'asse carotideo analizzato. I markers di aterosclerosi subclinica sono stati correlati con età, pressione arteriosa e indice di massa corporea (BMI) nella popolazione studiata e nei pazienti con la durata della malattia articolare e cutanea e con l'attività dell'artrite.

**Risultati:** Nei pazienti con AP sono stati dimostrati un IMT mean e un M-MAX più elevati dei controlli (0,7 $\pm$ 0,15 vs 0,62 $\pm$ 0,09 mm;  $p<0,01$  e 0,86 $\pm$ 0,21 vs 0,74 $\pm$ 0,13 mm;  $p<0,01$  rispettivamente). La FMD è risultata inferiore nei pazienti rispet-

to ai controlli (5,9 $\pm$ 2 vs 7,5 $\pm$ 2,8%;  $p<0,01$ ). La differenza nei valori di IMT mean, M-MAX e FMD tra pazienti e controlli si è mantenuta anche dopo correzione per la pressione arteriosa sistolica (PAS), che era l'unica variabile con differenza statisticamente significativa nei due gruppi. L'analisi delle correlazioni univariate ha mostrato una correlazione tra IMT mean e PAS ( $r=0,217$ ;  $p=0,05$ ) e tra M-MAX ed età ( $r=0,392$ ;  $p<0,001$ ), BMI ( $r=0,252$ ;  $p<0,05$ ) e PAS ( $r=0,446$ ;  $p<0,001$ ) nella popolazione in studio. Nei pazienti M-MAX è risultato correlato con la VES ( $r=0,338$ ;  $p<0,05$ ) e il BASDAI ( $r=0,322$ ;  $p<0,05$ ). Nessuna correlazione è stata trovata tra FMD e le variabili considerate.

**Conclusioni:** La presenza di una disfunzione endoteliale in pazienti con AP è stata confermata in questo lavoro. La disfunzione endoteliale rappresenta un marcatore precoce di aterosclerosi subclinica. I pazienti presentavano un trend di IMT più elevato rispetto alla popolazione generale. Un dato interessante è la correlazione di M-MAX con la VES e il BASDAI, che sono indici di attività di AP. La correlazione con la VES è stata evidenziata per valori modicamente aumentati, forse per l'aspetto infiammatorio che in queste forme non si esprime quasi mai con valori degli indici di flogosi particolarmente elevati.

**Keywords:** Aterosclerosi, Artrite psoriasica, Disfunzione endoteliale.

## **PERSISTENZA E CAUSE DI INTERRUZIONE NEL TRATTAMENTO CON TERIPARATIDE (PTH 1,34): DATI PRELIMINARI DI UN PROGRAMMA EDUCAZIONALE DI SUPPORTO PER PAZIENTI CON SEVERA OSTEOPOROSI**

F. Vacca<sup>1</sup>, U. Massafra<sup>1</sup>, E. Bizzi<sup>1</sup>, M. Granata<sup>2</sup>, S. Martin Martin<sup>3</sup>, A. Migliore<sup>1</sup>

<sup>1</sup>U.O.S. di Reumatologia, Centro Ricerche S. Pietro FBF, Roma; <sup>2</sup>Dipartimento Reumatologia, Ospedale San Filippo Neri, Roma;

<sup>3</sup>Dipartimento Medicina Interna, Ospedale Regina Apostolorum, Roma

**Introduzione:** L'aderenza e la persistenza nella terapia per l'Osteoporosi influenzano l'efficacia della stessa e può incrementarne i costi. Noi ipotizziamo che un programma di educazione e follow-up può migliorare l'aderenza alla terapia in pazienti affetti da osteoporosi severa trattati con Teriparatide e di conseguenza ridurre il rischio di nuove fratture.

**Obiettivi dello studio:** Obiettivo del nostro studio è stato valutare la persistenza alla terapia con Teriparatide in pazienti partecipanti a un programma educativo e trovare le cause di discontinuità al trattamento.

La persistenza è stata definita dal numero dei pazienti che hanno continuato lo stesso, nel periodo di osservazione.

**Metodi:** Uomini e donne con osteoporosi e almeno due fratture vertebrali da fragilità, furono arruolate nel programma dal Luglio 2008 al Marzo 2009.

Nel corso del programma tutte le pazienti ricevevano quindici chiamate telefoniche così organizzate: sei chiamate telefoniche durante il primo mese, una telefonata al mese per cinque mesi e infine una telefonata ogni tre mesi, per il resto del periodo di osservazione.

I pazienti furono regolarmente intervistati riguardo la loro abilità alla auto iniezione del farmaco, su eventuali eventi avversi intercorsi e cause di sospensione della terapia.

**Risultati:** Un totale di 151 pazienti furono arruolati nel programma educativo tra Luglio 2008 e Marzo 2009; 68 pazi-

enti completarono i sei mesi di follow-up, 27 pazienti 5 mesi, 21 pazienti 3 mesi, 25 pazienti 2 mesi. Il tempo medio di osservazione è stato di 4 mesi.

La persistenza alla terapia è stata dell'85.5% dei pazienti.

Del totale dei pazienti in studio, 22 (14.2%) hanno interrotto il trattamento con Teriparatide prematuramente, 5 di loro non hanno mai iniziato la terapia (22.7%), 8 pazienti hanno sospeso durante il primo mese (36%) e 9 nel periodo compreso fra due e sei mesi (41%).

Le più comuni cause di sospensione sono rappresentate da eventi avversi non seri (54%) (eritema, prurito diarrea nausea crampi muscolari).

Altre cause di sospensione sono da correlarsi a personale decisione del paziente (9%), decisione del medico (18%) morte per altra patologia (4.5%) altre ragioni (5%).

Le più comuni cause di mancato inizio della terapia sono rappresentate dalla mancanza di supporto da parte della famiglia del paziente o da scarsa fiducia nella terapia da parte del medico di medicina generale

**Conclusioni:** Pazienti con severa osteoporosi trattati con Teriparatide hanno un'alta persistenza adesione alla terapia se inseriti in programma di assistenza e supportati dalla famiglia e dal proprio medico di fiducia

**Keywords:** Osteoporosi, Compliance, Teriparatide.

## COMUNICAZIONI SULLA SCLEROSI SISTEMICA 1

*Moderatori: G. Biasi (Siena), S. Zeni (Milano)*

- Lo strain ecocardiografico bidimensionale appare utile nell'individuare il precoce coinvolgimento del ventricolo sinistro in pazienti con sclerosi sistemica e normale frazione d'eiezione  
*A. Caliri, G. Bagnato, R. Talotta, D. Sangari, A. Tamburello, M. Catalano, S. Carerj, G.F. Bagnato*
- Valore diagnostico e prognostico di due test funzionali combinati per lo studio del microcircolo coronarico nella sclerosi sistemica  
*A. Vacca, R. Montisci, P. Garau, P. Siotto, A. Cauli, L. Meloni, S. Iliceto, A. Mathieu*
- Miocardite in corso di sclerosi sistemica: descrizione di 6 casi diagnosticati con biopsia endomiocardica  
*G. Zizzo, M. De Santis, M. Pieroni, I. Natale, S.L. Bosello, G. Peluso, S. Alivernini, M. Pinnelli, M. Bocci, F. Crea, L. Bonomo, G.F. Ferraccioli*
- Survival and death causes in 251 systemic sclerosis patients from a single italian center  
*S. Vettori, G. Cuomo, G. Abignano, M. Iudici, G. Valentini*
- Influenza dell'attività motoria sulla qualità di vita in pazienti con sclerosi sistemica  
*S. Rinaldi, A. Doria, A. Gusella, M. Rampudda, L. Ciprian, S. Cardarelli, A. Carraro, L. Ronconi, L. Punzi, F. Cozzi*
- Valutazione della qualità della vita e correlazioni tra le caratteristiche clinico-epidemiologiche e lo short form 36 in 173 pazienti affetti da sclerosi sistemica  
*M. Iudici, G. Cuomo, G. Abignano, A. Petrillo, M.E. Frongillo, G. Valentini*
- Construct validity, feasibility and acceptability of EQ-5D to assess physical and mental quality of life in systemic sclerosis patients  
*R. Gualtierotti, L. Scalone, F. Ingegnoli, S. Zeni, P. Cortesi, F. Fantini*
- Ecografia con sonde ad alta frequenza (US) nella sclerodermia localizzata giovanile  
*F. Falcini, O. Kaloudi, F. Porta, F. Nacci, F. Bandinelli, S. Guiducci, M.L. Conforti, I. Miniati, M. Matucci Cerinic*
- Ultrasound lung comets (ULC) come fattore prognostico a lungo termine nella sclerosi sistemica  
*M. Doveri, L. Bazzichi, L. Gargani, A. Delle Sedie, A. Della Rossa, A. Consensi, A. d'Ascanio, E. Picano, S. Bombardieri*
- Valutazione ecografica con sonda da 18 MHz della sindrome del tunnel carpale (STC) nella sclerosi sistemica (SSC)  
*F. Bandinelli, O. Kaloudi, I. Miniati, M.L. Conforti, A. Candelieri, D. Melchiorre, R. Casale, G. Grassiri, S. Cammarata, F. Porta, M. Matucci Cerinic*
- Ipovitaminosi D nella sclerosi sistemica  
*G. Calzolari, R. Carignola, A. Dovio, V. Data, L. Saba, A. Angeli*

- Valutazione dell'ipertensione polmonare in pazienti con sclerosi sistemica mediante ecocardiogramma da sforzo  
*M. Doveri, L. Bazzichi, L. Gargani, A. Della Rossa, A. Consensi, A. d'Ascanio, C. Giacomelli, F. Frassi, E. Picano, S. Bombardieri*
  
- Diagnosi precoce di ipertensione polmonare in pazienti con sclerosi sistemica mediante ecocardiogramma basale e da stress  
*E. Bruschi, O. Epis, A. Moreo, B. De Chiara, S. Cataldo, G. Agoston, M. Muscarà, D. Filippini, F. Mauri, B. Canesi*

## LO STRAIN ECOCARDIOGRAFICO BIDIMENSIONALE APPARE UTILE NELL'INDIVIDUARE IL PRECOCE COINVOLGIMENTO DEL VENTRICOLO SINISTRO IN PAZIENTI CON SCLEROSI SISTEMICA E NORMALE FRAZIONE D'IEIEZIONE

A. Caliri<sup>1</sup>, G. Bagnato<sup>1</sup>, R. Talotta<sup>1</sup>, D. Sangari<sup>1</sup>, A. Tamburello<sup>1</sup>, M. Catalano<sup>2</sup>, S. Carerj<sup>2</sup>, G.F. Bagnato<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Policlinico Universitario Gaetano Martino, U.O. Reumatologia, Messina;

<sup>2</sup>Policlinico Universitario Gaetano Martino, U.O. Cardiologia, Messina

La sclerosi sistemica (SS) è un disordine sistemico caratterizzato da fibrosi del tessuto connettivo, attivazione immunitaria ed anomalie microvascolari con alterazioni del tono vasale. Il coinvolgimento cardiaco è una caratteristica comune nella SS, anche se spesso silente. Scopo del nostro studio è quello di valutare se la precoce disfunzione del ventricolo sinistro (VS) può essere evidenziata attraverso l'utilizzo dello strain ecocardiografico bidimensionale (S)1 nei pazienti affetti da SS.

**Metodi:** 22 pazienti con SS (21 F; età media 63±14 anni), con una normale frazione d'ieiezione ventricolare sinistra (VSFE) e 20 controlli (12 F, età media di 62.6±3 anni) sono stati inclusi nel nostro studio. I soggetti sono stati sottoposti a studio ecocardiografico, utilizzando un ecocardiografo Maylab 50 Esaote-Biomedica con software dedicato interno per la valutazione off-line del 2D Strain. Dalla sezione 4 camere apicale e 2 camere si otteneva sia il 2D Strain Longitudinale (SL) che la frazione d'ieiezione; in aggiunta veniva ottenuta un'immagine del VS a livello medio ad asse corto per la misurazione dello Stain Circonferenziale (SC). Sono stati acquisiti gli ultimi 3 cicli di una breve fase di apnea, al termine della fase si-

stolica e sono state effettuate tre misurazioni per il calcolo di ogni parametro.

**Risultati:** Relativamente alla frazione d'ieiezione non sono state evidenziate differenze significative tra i due gruppi (65±4% vs 64±2%, p ns), mentre lo SL globale era significativamente più basso nei pazienti con SSC rispetto ai controlli (-13.2±2.6% vs -19.7±4.9%, p<0.001) come pure lo CS globale (-16±6.3% vs -30±5.9%, p<0.001).

**Conclusioni:** La valutazione della funzione ventricolare sinistra attraverso l'utilizzo dello strain ecocardiografico bidimensionale sembra essere utile nei pazienti con SS nell'individuazione del precoce coinvolgimento del VS, nonostante la normale VSFE.

### Bibliografia

1. Smiseth OA, Ihlen H. Strain Rate Imaging: why do we need it? J Am Coll Cardiol 2003; 42: 1584-6.

**Keywords:** Strain ecocardiografico, Sclerosi sistemica, Frazione d'ieiezione.

## VALORE DIAGNOSTICO E PROGNOSTICO DI DUE TEST FUNZIONALI COMBINATI PER LO STUDIO DEL MICROCIRCOLO CORONARICO NELLA SCLEROSI SISTEMICA

A. Vacca<sup>1</sup>, R. Montisci<sup>2</sup>, P. Garau<sup>1</sup>, P. Siotto<sup>3</sup>, A. Cauli<sup>1</sup>, L. Meloni<sup>2</sup>, S. Iliceto<sup>4</sup>, A. Mathieu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>S.C. e Cattedra di Reumatologia A.O.U. di Cagliari, Monserrato, CA; <sup>2</sup>S.C. e Cattedra di Cardiologia, Ospedale S. Giovanni di Dio, A.O.U. di Cagliari; <sup>3</sup>Servizio di Radiologia, A.O. Brotzu, Cagliari; <sup>4</sup>Divisione di Cardiologia, Università degli Studi di Padova

**Introduzione:** La disfunzione del microcircolo coronarico è un'evenienza frequente nella Sclerosi Sistemica (SSc) e rappresenta la più precoce alterazione dell'interessamento cardiaco primitivo. **Scopo dello Studio:** valutare lo stato del microcircolo coronarico utilizzando due tests funzionali combinati in pazienti affetti da SSc e determinarne il loro impatto sulla mortalità.

**Metodi:** Quarantuno pazienti affetti da SSc, senza sintomi e segni di malattia coronarica, sono stati sottoposti ad ecocardiogramma colo-doppler con infusione di adenosina (A-TTE) per misurare la riserva di flusso coronarico (coronary flow velocity reserve, CFR) e ad ecocardiogramma da stress con dobutamina (DSE) per valutare le alterazioni della cinetica ventricolare (wall motion abnormalities, WMA). Al fine di escludere la presenza di una stenosi epicardica, che poteva interferire con i due parametri, è stata effettuata ove possibile una TC miocardica (myocardial multi detector computed tomography, MDCT).

**Risultati:** 19/41 pazienti con SSc (46%) avevano una CFVR ridotta ( $\leq 2.5$ ) e in 16/41 (39%) si osservava un'alterazione della cinetica ventricolare sinistra (ipocinesia) durante infusione con dobutamina. Inoltre, 13/41 (32%) pazienti mostravano contemporaneamente sia alterazioni della riserva che della cinetica ventricolare. È stata osservata una correlazione inversa tra il wall motion score index (WMSI) durante eco-stress e la CFVR ( $r=-0.57$ ,  $p<0.0001$ ), interessante anche che la CFVR fosse significativamente ridotta ( $2.21\pm 0.38$ ) nei pazienti con alterazioni della cinetica a confronto con quelli senza alterazioni ( $2.94\pm 0.60$ ) ( $p<0.0001$ ). La MDCT aveva escluso in 11 pazienti con eco-stress positivo una stenosi epicardica.

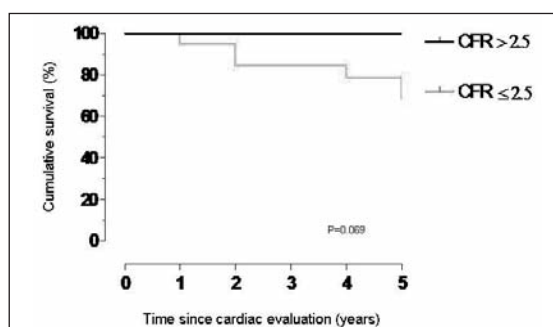


Figura 1

**Analisi di sopravvivenza:** Durante il follow-up a 5 anni, i 6 pazienti morti per cause legate alla malattia avevano un'alterazione della CFVR e della cinetica. L'analisi di Kaplan-Meier mostrava a 5 anni una sopravvivenza del 100% nei pazienti con CFVR > 2.5 e dell'80% nei pazienti con CFVR ≤ 2.5 ( $p=0.069$ ) (Fig. 1).

**Conclusioni:** l'ecocardiogramma colo-doppler con infusione di adenosina e l'ecocardiogramma da stress con dobutamina si sono dimostrate valide indagini diagnostiche per evidenziare, in fase pre-clinica, anomalie del microcircolo coronarico nei pazienti affetti da SSc; inoltre la CFVR e le alterazioni della cinetica potrebbero avere anche un ruolo prognostico.

**Keywords:** Sclerosi Sistemica, Microcircolo, Prognosi.

## MIOCARDITE IN CORSO DI SCLEROSI SISTEMICA: DESCRIZIONE DI 6 CASI DIAGNOSTICATI CON BIOPSIA ENDOMIocardICA

G. Zizzo<sup>1</sup>, M. De Santis<sup>1</sup>, M. Pieroni<sup>2</sup>, L. Natale<sup>3</sup>, S.L. Bosello<sup>1</sup>, G. Peluso<sup>1</sup>, S. Alivernini<sup>1</sup>, M. Pinnelli<sup>1</sup>, M. Bocci<sup>1</sup>, F. Crea<sup>2</sup>, L. Bonomo<sup>3</sup>, G.F. Ferraccioli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Divisione di Reumatologia, Università Cattolica, Roma; <sup>2</sup>Istituto di Cardiologia, Università Cattolica, Roma;

<sup>3</sup>Istituto di Radiologia, Università Cattolica, Roma

**Scopo del Lavoro:** Il coinvolgimento cardiaco in corso di Sclerosi Sistemica (SSc) è presente in quasi tutti i pazienti, sebbene spesso asintomatico. Non è chiaro in che misura rispettivamente ischemia, flogosi e fibrosi concorrano al danno miocardico. Descriviamo 6 pazienti con miocardite documentata istologicamente.

**Materiali e Metodi:** Di 189 pazienti sclerodermici sottoposti ad ECG, sono stati reclutati coloro che presentavano alterazioni del tracciato con aumento degli indici di miocardioneccrosi. Questi sono stati studiati mediante ecocardiografia, scintigrafia miocardica perfusionale, RMN cardiaca con gadolinio e coronarografia con biopsia endomiocardica.

**Risultati:** 46 pazienti su 189 (24.3%) presentavano all'ECG anomalie di conduzione (nel 13% BAV I grado; nel 19.5% BBDx; nel 6.5% BBSx; nel 28.2% EAS), bradicardia sinusale (17.3%), tachicardia sinusale (2.1%) e/o battiti ectopici (nel 17.3% BESV; nel 19.5% BEV). Di questi, 7 (6 F, 1 M; 3.7% del totale) presentavano anche aumento degli indici di miocardioneccrosi (in tutti della CK-MB; in 5 della troponina T; in 3 della CPK totale).

In particolare, 2 presentavano BEV, 1 BBDx e BEV talora organizzati in ritmo bigemino, 2 bradicardia, 1 tachicardia, 1 EAS. Clinicamente, 5/7 accusavano dispnea. Alla RMN vi era delayed enhancement (D.E.) positivo in 4/7 (a pattern subepicardico in 2, subepicardico e subendocardico in 1, intramurale in 1); dei 3/7 che non mostravano D.E. 1 presentava pericardite. In tutti la coronarografia documentava coronarie indenni. In 6/7 la biopsia endomiocardica era probante per miocardite secondo i Criteri di Dallas, con necrosi ed infiltrato di

cellule mononucleate, associati a fibrosi interstiziale e perivascularare, ispessimento subendocardico con prominenza di fibrocellule muscolari lisce; in nessuno si documentava vasculite; estese aree di fibrosi sostitutiva si osservavano alla biopsia in 2, i soli che presentavano anche alterazioni all'ECG compatibili con pregresso IMA, anomalie della cinesi all'ecocardiogramma e alla RMN e difetti di perfusione alla scintigrafia. La biopsia risultava negativa nel paziente con pericardite. Dei 6 pazienti con miocardite documentata istologicamente, 4 avevano SSc cutanea diffusa, 3 mostravano positività per gli anticorpi anti-Scl70, 3 per i c-ANCA, 3 per gli anti-fosfolipidi, 1 per i p-ANCA.

**Conclusioni:** Sebbene la RMN cardiaca venga considerata l'indagine di scelta per la diagnosi di miocardite, questa è risultata controversa (pattern intramurale) o falsamente negativa in 3 dei 6 pazienti in cui la miocardite è stata documentata istologicamente.

Ciò suggerisce che, in pazienti con SSc con alterazioni ECGrafiche ed enzimatiche, dopo aver documentato alla coronarografia l'indennità delle coronarie, si proceda a biopsia endomiocardica, così da caratterizzare il grado e l'estensione delle componenti infiammatoria, necrotica e fibrotica.

Nella nostra casistica, la positività dei c-ANCA sembra correlare con interessamento miocardico, essendo presente nel 57.1% dei pazienti con alterazioni ECGrafiche ed enzimatiche, nel 50% di quelli con miocardite e solo nel 3.1% dell'intera coorte.

**Keywords:** Sclerosi sistemica, Miocardite, RMN.

## SURVIVAL AND DEATH CAUSES IN 251 SYSTEMIC SCLEROSIS PATIENTS FROM A SINGLE ITALIAN CENTER

S. Vettori, G. Cuomo, G. Abignano, M. Iudici, G. Valentini

Dipartimento di Internistica Clinica e Sperimentale, Sezione di Reumatologia, Seconda Università degli Studi di Napoli

**Introduction:** Systemic sclerosis (SSc) is an acquired connective tissue disease characterized by immune system activation, vasculopathy and fibrosis of the skin and internal organs (lung, heart, kidney, gastrointestinal tract, joint/tendon, muscle).

The aetiology of SSc is unknown and despite recent advances in its pathogenesis, organ damage can be hardly prevented and managed.

**Objectives:** To investigate survival in a single rheumatologic tertiary center SSc cohort, reporting death causes.

**Materials and Methods:** We retrospectively analyzed the charts of 251 SSc patients, satisfying ACR classification criteria, consecutively enrolled in our Rheumatology Unit from 2000 to 2008.

Only patients undergoing yearly follow-up visits (two at least), entered the study. Patients suffering from overlap syndromes were excluded from the analysis.

At 2008 the vital status was evaluated. Eight and 5-year survival from diagnosis (study entry) was computed by Kaplan-Mayer method.

**Results:** At December 2008 206 patients (82.07%) were alive, 20 (7.97%) were known to have died and 25 (9.96%) were lost to follow-up.

The following causes of death were recorded: among 12 (60%) SSc-related deaths, 4 (33.33%) were secondary to pulmonary fibrosis, 4 (33.33%) to heart involvement, 1 (8.33%) to renal involvement, 2 (16.67%) to gastrointestinal involvement, 1 (8.33%) to pulmonary arterial hypertension; among 4 (20%) non SSc-related deaths, 2 (50%) were due to cancer, 1 (25%) to cardiovascular disease, 1 (25%) to post cardiac arrest syndrome because of incoming seizures.

Finally, 1 (5%) death occurring during fever of unknown origin was probably related to the disease, and in 3 (15%) cases the cause remained unknown. Eight-year survival was 89.2% and 5-year survival was 96%.

**Conclusion:** Our study reports an improvement in survival of Italian SSc patients in the last decade with respect to the widest multicenter Italian retrospective survival study from Ferri et al. (1). Some differences in death causes can also be noticed with respect to Ferri study: an increase in non SSc-relat-

ed deaths is reported in our series (20% vs 12%); an increase in deaths from lung involvement (33.33% vs 24%) and a decrease in deaths from renal involvement (8.33% vs 12%); deaths from heart involvement being similar in the two series (33.33% vs 36%).

In conclusion, survival studies in SSc show different results, depending on the observation period and geographic variations, and the huge heterogeneity of organ-system involvement, although an improvement in cumulative survival frequencies is generally reported in the last decades (1, 2).

#### References

1. Ferri C, et al. *Medicine* (Baltimore) 2002; 81: 139-53.
2. Steen VD, et al. *Arthritis Rheum* 2007; 66: 940-44.

**Keywords:** *Systemic sclerosis, Survival, Epidemiology.*

---

## INFLUENZA DELL'ATTIVITÀ MOTORIA SULLA QUALITÀ DI VITA IN PAZIENTI CON SCLEROSI SISTEMICA

S. Rinaldi<sup>1</sup>, A. Doria<sup>1</sup>, A. Gusella<sup>1</sup>, M. Rampudda<sup>1</sup>, L. Ciprian<sup>1</sup>, S. Cardarelli<sup>1</sup>, A. Carraro<sup>2</sup>, L. Ronconi<sup>3</sup>, L. Punzi<sup>1</sup>, F. Cozzi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unità Operativa Complessa di Reumatologia, Padova; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze dell'Educazione, Padova;

<sup>3</sup>Centro Interdipartimentale Servizi di Psicologia, Padova

**Scopo dello Studio:** La Sclerosi Sistemica (SSc) è una malattia cronica caratterizzata da sclerosi cutanea e viscerale, limitazioni fisiche e riduzione della qualità di vita (QdV). Con questo studio ci siamo proposti di indagare l'attività motoria e la QdV nei pazienti con SSc ed in particolare l'influenza dell'attività motoria sulla QdV.

**Materiali e Metodi:** Sono stati studiati 80 pazienti ambulatoriali con SSc (70 femmine e 10 maschi; età media 58.45±12.3 anni) e un gruppo di controllo di 80 soggetti sani, simili ai pazienti per età e sesso. La QdV è stata indagata con il MOS 36-Item Short-Form (SF-36) e valutata nella sua dimensione fisica (PCS) e mentale (MCS); i livelli di fatica con il Functional Assessment of Chronic Illness Therapy Fatigue (FACIT-F); l'attività motoria con il Physical Activity Scale for the Elderly (PASE) nella forma abbreviata ed adattata alla popolazione adulta. Tra le variabili cliniche della malattia abbiamo considerato: durata di malattia dalla comparsa del fenomeno di Raynaud e dalla diagnosi, forma clinica (limitata e diffusa), skin score, teleangectasie, calcinosi, ulcere digitali, sindrome secca, miosite, tendinite, interessamento di cuore, stomaco, intestino, esofago e rene, anti Scl70, anticentromero. L'analisi statistica è stata condotta con il programma SPSS.

**Risultati:** 54 pazienti (67,5%) avevano la forma limitata di SSc e 26 (32,5%) quella diffusa. La prevalenza delle principali alterazioni cliniche e sierologiche era: ipotonia esofagea (53,8%), interstiziopatia polmonare (50%), ipertensione polmonare

(8,8%), anticentromero (46,3%), anti-Scl70 (33,8%). I punteggi dei test su attività fisica e QdV sono risultati peggiori nei pazienti rispetto ai controlli (FACIT-F 17,1±11,4 vs 8,1±5,1, p<0,0001; PASE 35,9±42,2 vs 50,9±49,3, p<0,05; PCS 51,0±24,5 vs 78,6±15,1, p<0,0001; MCS 60,6±23,1 vs 71,2±15,0, p<0,003) e nei pazienti con ipertensione polmonare rispetto a quelli senza tale manifestazione (FACIT-F 25,4±12,0 vs 16,3±11,0, p<0,04, MCS 42,9 ±18,4 vs 62,3±22,9, p<0,03). Il punteggio PASE era ridotto nei pazienti con coinvolgimento esofageo rispetto a quelli senza impegno di tale viscere: 21,0±34,8 vs 52,4±44,0, p<0,001. Nessuna delle altre variabili cliniche o sierologiche è risultata correlata ad attività motoria e QdV. Nei pazienti con SSc sono emerse correlazioni tra PASE e PCS (p<0,000, Rho 0,55), MCS (p<0,001, Rho 0,37) e FACIT (p<0,000, Rho -0,47); tali correlazioni erano assenti nel gruppo di controllo.

**Conclusioni:** I pazienti con SSc svolgono meno attività fisica ed hanno una qualità di vita peggiore rispetto ai soggetti sani. Attività fisica e QdV sembrano poco influenzate dalle caratteristiche cliniche e sierologiche della malattia. La capacità dei pazienti di mantenere buoni livelli di attività motoria ed esercizio fisico, mantenendo in questo modo un maggior senso di controllo sul proprio corpo, sembra associarsi ad una migliore QdV nei pazienti con SSc.

**Keywords:** *Sclerosi sistemica, Attività motoria, Qualità di vita.*

## VALUTAZIONE DELLA QUALITÀ DELLA VITA E CORRELAZIONI TRA LE CARATTERISTICHE CLINICO-EPIDEMIOLOGICHE E LO SHORT FORM 36 IN 173 PAZIENTI AFFETTI DA SCLEROSI SISTEMICA

M. Iudici, G. Cuomo, G. Abignano, A. Petrillo, M.E. Frongillo, G. Valentini

Cattedra di Reumatologia Seconda Università di Napoli

**Introduzione:** La qualità di vita è ridotta in pazienti con sclerosi sistemica (SSc), come evidenziato sia dai questionari generici sia da quelli specifici per la malattia (HAQ-DI; SHAQ). La qualità della vita è stata valutata in vari studi con lo short-form-36 (SF-36). Gli items del questionario non sono stati correlati con tutti gli aspetti della malattia.

**Obiettivo:** Valutare le correlazioni tra la qualità della vita, valutata con l'SF36 e le caratteristiche cliniche di pazienti con SSc.

**Metodi:** Sono stati arruolati nello studio 173 pazienti affetti da SSc (160 femmine; 13 maschi) dal 1/09/2007 al 31/3/2009, di età compresa tra 20 e 82 anni (mediana 54 anni) con durata di malattia da 1 a 47 anni (mediana 10,5 anni), afferenti all'ambulatorio dell' U.O. di Reumatologia della Seconda Università degli Studi di Napoli.

I punteggi degli 8 items dell'SF-36, Attività Fisica (AF), Limitazione Ruolo Fisico (RF), Dolore fisico (DF), Salute fisica generale (SG), Vitalità (VT), Funzione sociale (FS), Limitazione Ruolo Emotivo (RE) e Salute Mentale (SM) sono stati valutati con valori che variavano da 0 a 100, dove i valori più alti riflettono una migliore Qualità di Vita (QoL). Inoltre sono stati valutati due indicatori globali, indicatore di Salute Fisica (ISF) e Indicatore di Salute Mentale (ISM).

I pazienti sono stati classificati in due forme: sclerosi cutanea limitata o diffusa; l'interessamento cutaneo è stato valutato con mRSS (Modifies Rodnan Skin Score), la disabilità con HAQ-DI, l'attività di malattia con European Activity Index e la severità di malattia con scala di severità Medsger; sono state inoltre considerate la presenza di contratture in flessione e di sinovite.

**Risultati:** Non è stata riscontrata alcuna differenza nel punteggio dell'SF-36 tra i 35 pazienti con varietà a sclerosi cutanea diffusa e i 138 con varietà a sclerosi cutanea limitata. Tutti gli items dell'SF-36 sono significativamente correlati all'indice di attività (Rho da -0.25 a -0.34;  $p < 0.0001$ ) e all'HAQ-DI (Rho da -0.40 a -0.82;  $p < 0.0001$ ).

L'item AF correla con età, sesso, durata di malattia, score cute, contratture in flessione; l'RF correla con l'età; il DF con età,

sesso, durata malattia, presenza di sinovite; lo SG correla con età, sesso, durata di malattia, mRSS, contratture in flessione; la VT correla con età, sesso, durata di malattia; l'RE correla con l'età; la MS correla con sesso e durata di malattia; l'ISF correla con età, durata di malattia, contratture in flessione; l'ISM correla con il sesso. Le correlazioni statisticamente significative tra gli items della scala di severità di Medsger e dell'SF-36 sono riportate in tabella 1.

**Conclusioni:** Questo studio conferma che la qualità della vita misurata con SF-36 è diminuita nei pazienti con SSc. Lo studio evidenzia che gli items dell'SF-36 sono correlati con l'attività di malattia e con alcuni items della severità.

**Keywords:** Sclerosi sistemica, SF-36, Qualità di vita.

Tabella 1

	AF	RF	DF	SG	VT	SF	RE	SM	ISF	ISM
Sev Gen (Rho)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sev Vasc (Rho)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sev cute (Rho)	-	-	-	-	-	-	-0.15*	-	-	-
Sev srt (Rho)	-0.24**	-	-	-0.18*	-	-	-	-	-0.23**	-
Sev musc (Rho)	-0.30***	-	-0.19*	-0.19*	-0.23**	-0.22*	-0.16*	-0.18*	-0.25**	-
Sev GI (Rho)	-	-0.16*	-	-	-	-	-0.21*	-	-	-
Sev polm (Rho)	-0.35***	-0.19*	-	-0.31**	-0.23**	-0.23**	0.19*	-	-0.28**	-
Sev cuore (Rho)	-	-0.16*	-0.16*	-0.15*	-	-	-	-	-0.19*	-
Sev rene (Rho)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

P = \* $<0.05$ ; \*\* $>0.001$ ; \*\*\* $<0.0001$ .

## CONSTRUCT VALIDITY, FEASIBILITY AND ACCEPTABILITY OF EQ-5D TO ASSESS PHYSICAL AND MENTAL QUALITY OF LIFE IN SYSTEMIC SCLEROSIS PATIENTS

R. Gualtierotti<sup>1</sup>, L. Scalone<sup>2</sup>, F. Ingegnoli<sup>1</sup>, S. Zeni<sup>1</sup>, P. Cortesi<sup>2</sup>, F. Fantini<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto Ortopedico G. Pini, Cattedra di Reumatologia, University of Milan;

<sup>2</sup>Center for Health Technology Assessment and Outcomes Research, University of Milan

**Aim of the Study:** Systemic sclerosis (SSc) is a systemic chronic inflammatory disease and a progressive disabling condition. It compromises ability to perform basic activities. Patients' emotional sphere is also compromised, with anxiety reported as one major aspect negatively affected. EQ-5D, a simple and quickly self-completable tool for quality of life (QoL) assessment, whose reliability and validity have never been tested in SSc, may be useful in evaluating physical and mental state of these patients.

**Methods:** Thirty-five patients aged 27-88 years (median=61), 85.7% female, monthly administered with prostacyclin treatment, were given EQ-5D and Health Assessment Questionnaire (HAQ) for self-completion before the treatment. Acceptability and feasibility were estimated on the basis of patients' comments/complaints on the tool and missing data respectively. The construct validity was tested by computing the Spearman's correlation coefficient between response of EQ-5D and HAQ.

**Results:** Acceptability of EQ-5D was good. With the HAQ, 31.4% of the patients reported difficulties to walk, 42.9% difficulties to arise, 48.6% difficulties to dress, 41.2% difficulties to wash, 57.1% difficulties to eat, 64.7% had difficulties to reach objects, 41.2% difficulties to grip things, 58.8% difficulties to do other common activities. With the EQ-5D, 45.7% had some difficulties to walk, 28.6% some and 5.7% severe dif-

iculties with self-care, 45.7% had some and 8.6% severe difficulties to perform usual activities, 74.3% perceived some and 11.4% severe pain/discomfort, 54.3% were moderately and 2.9% extremely anxious or depressed. Mean VAS was 66.7 (30-90). Correlation coefficients between domains considered conceptually similar were: EQ-5D-mobility with HAQ-walking  $r=0.614$ ; EQ-5D-self-care with HAQ-dressing  $r=0.715$  and with HAQ-eating  $r=0.662$ , with hygiene  $r=0.443$ ; EQ-5D-usual activities with HAQ-eating  $r=0.584$ , with HAQ-reach  $r=0.544$ , with HAQ-grip  $r=0.510$  with other common activities  $r=0.495$ . The highest correlation of pain/discomfort and anxiety/depression was found with hygiene (0.552 and 0.436, respectively). Correlation coefficient between EQ-5D-VAS and HAQ total disability score was  $-0.597$  ( $p<0.001$ ).

**Discussion:** EQ-5D was suitable for self-completion and well accepted in SSc patients; its construct validity was acceptable to good regarding mobility, self-care, usual activities. EQ-5D, differently from HAQ, also includes a mental/psychic domain. Furthermore, compared with other QoL tools such as SF-36, it can be fulfilled quickly and its score can be simply interpreted. Our results suggest that EQ-5D could be included in clinical practice to routinely assess SSc patients' QoL.

**Keywords:** Systemic sclerosis, Quality of life, EQ-5D.

## ECOGRAFIA CON SONDE AD ALTA FREQUENZA (US) NELLA SCLERODERMIA LOCALIZZATA GIOVANILE

F. Falcini, O. Kaloudi, F. Porta, F. Nacci, F. Bandinelli, S. Guiducci, M.L. Conforti, I. Miniati, M. Matucci Cerinic

Dipartimento di BioMedicina, Divisione di Reumatologia, Ambulatorio Giovani, AOUC, Università di Firenze

**Introduzione:** La sclerodermia localizzata giovanile (ScLG) causa disabilità funzionale ed alterazioni estetiche. La valutazione ed il follow-up delle lesioni cutanee risulta quindi fondamentale per il monitoraggio e la prognosi della malattia.

**Scopo:** Definire l'utilità dell'ecografia nella valutazione delle

lesioni cutanee e nel monitoraggio del trattamento nella ScLG.

**Metodi:** Dieci pazienti (età:  $101,7\pm 66,2$  mesi, 7 M, 3 F) affetti da ScLG sono stati sottoposti a monitoraggio ecografico. Lo spessore cutaneo è stato misurato in B-mode con sonde ad alta frequenza (Esaote® my Lab 25 con sonda 18 MHz), nel

Tabella I

Paziente	Età di insorgenza (mesi)	Sede	Ecografia tempo 0 (derma)	Ecografia a 6 mesi (derma)	Miglioramento clinico	Terapia
1 MF	23	Coupe de sabre	2 mm	1,7 mm	sì	Steroidi, MTX
2 VG	48	Coscia	2 mm	1,5 mm	sì	No
3 PS	72	Coscia	1,4 mm	1,4 mm	no	no
4 DA	44	Arto anteriore sinistro	1,6 mm	1,1 mm	sì	Steroidi, MTX
5 PS	239	Coupe de sabre	3,4 mm	3,4 mm	sì	Steroidi, MTX
6 SJR	72	Coupe de sabre	1,6 mm	1,6 mm	no	no
7 GAM	108	Gomito, coscia braccio, mano	1,1 mm	1 mm	sì	Steroidi, MTX, MMF
8 TS	179	Coscia	1,7 mm	1,5 mm	sì	Steroidi, MTX
9 CS	120	Tronco, dorso	2,5 mm	2,5 mm	no	no
10 BR	112	Dorso	1,5 mm	1,3 mm	sì	Steroidi, MTX

MTX: methotrexate; MMF: micofenolato mofetil.

punto in cui le linee di demarcazione tra epidermide, derma e sottocute sono parallele. Sei pazienti hanno ricevuto terapia steroidea prima in boli (Metilprednisolone 30 mg/kg/die per 3 giorni consecutivi) e poi per os (Prednisone 1 mg/kg/die) e methotrexate s.c. (15 mg/mq/settimana). In un paziente, dopo 6 mesi, per inefficacia, è stato sostituito il methotrexate con micofenolato mofetil (2 grammi /die). Quattro pazienti non hanno ricevuto trattamento: uno per rifiuto dei genitori, due per l'estensione limitata delle lesioni. Tutti sono stati rivalutati clinicamente (durezza ed estensione delle lesioni) ed ecograficamente (spessore ed ecogenicità del derma) a 6 mesi.

**Risultati:** In tutti i pazienti l'ecografia ha documentato iperecogenicità del derma e diminuzione del grasso sottocutaneo che appariva disorganizzato e retratto a livello delle lesioni attive; al Color e Power Doppler normale dimensione e densità dei vasi. In sette pazienti è stato documentato un miglioramento clinico, con diminuzione della durezza (da severa a moderata) e dell'estensione delle lesioni. In sei di questi l'ecografia ha mostrato assottigliamento del derma con diminuzione dell'ecogenicità, confermando il dato clinico (correlazione del dato clinico e strumentale con il test di Fisher;  $p:0,67$ ). Tre dei pazienti non trattati hanno mostrato dati clinici e strumentali immutati.

**Conclusioni:** L'ecografia sembra essere sensibile per valutare le modificazioni cutanee nella SCLG e correla con la valutazione clinica. Sono necessari ulteriori studi per migliorare la correlazione fra stadio clinico delle lesioni e morfologia delle immagini ecografiche

**Keywords:** Sclerosi sistemica localizzata, Esordio giovanile, Ecografia.

## ULTRASOUND LUNG COMETS (ULC) COME FATTORE PROGNOSTICO A LUNGO TERMINE NELLA SCLEROSI SISTEMICA

M. Doveri<sup>1</sup>, L. Bazzichi<sup>1</sup>, L. Gargani<sup>2</sup>, A. Delle Sedie<sup>1</sup>, A. Della Rossa<sup>1</sup>, A. Consensi<sup>1</sup>, A. d'Ascanio<sup>1</sup>, E. Picano<sup>2</sup>, S. Bombardieri<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>U.O. Reumatologia, Dipartimento Medicina Interna, Ospedale S. Chiara, Pisa; <sup>2</sup>Istituto di Fisiologia Clinica, CNR, Pisa

L'ipertensione polmonare (IP) e la fibrosi polmonare (FP) sono comuni manifestazioni in corso di Sclerosi Sistemica (SSc), associate ad elevata mortalità ed invalidità. Sebbene spesso siano valutate con tecniche invasive e/o ionizzanti, possono essere misurate tramite l'ecografia. Potrebbe essere utilizzata per la rivelazione della FP, la tecnica delle ULC (Ultrasound Lung Comets). Le ULC sono un segno ecografico di ispessimento dei setti interlobulari subpleurici, dovuto ad acqua (come nell'edema polmonare) o a connettivo (come nella sindrome interstiziale, ad esempio la FP).

**Scopo dello studio:** Valutare il ruolo prognostico dell' IP e delle ULC in pazienti con SSc.

**Materiali e Metodi:** Abbiamo arruolato 59 pazienti consecutivi con SSc (età  $54 \pm 14$  aa, 56 femmine) seguiti nell'UO di Reumatologia di Pisa e li abbiamo sottoposti ad ecocardiografia transtoracica in 2D. IP è stata ottenuta stimando la velocità massima del flusso della valvola tricuspide mentre la FP è stata studiata ricercando le ULC (sommando il numero di ULC di ciascun spazio intercostale anteriore e posteriore destro e sinistro, dal secondo al quinto).

**Risultati:** Durante follow-up (media: 15 mesi), si sono presentati 15 eventi negativi: 3 morti, 8 nuovi ricoveri per peggioramento della dispnea, e 4 nuovi ricoveri per peggioramento del coinvolgimento cutaneo. Età, skin score ed l'IP non predicono la prognosi, mentre tramite analisi univariata, soltanto il numero delle ULC (HR 1.012, 95% C.I.1.004-1.020,  $p<.01$ ) può essere considerato elemento predittore negativo. L'analisi

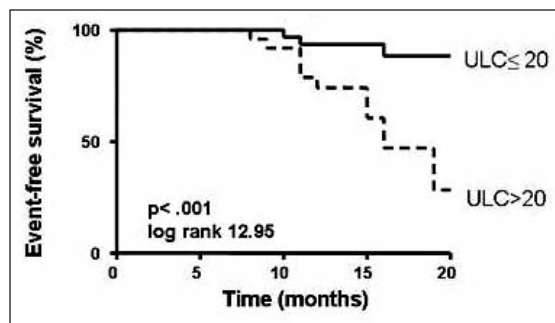


Figura 1

si ROC identifica che il cut-off di 20 ULCs sembra essere il miglior predittore diagnostico (Fig. 1) con una AUC di 78, 80% sensibilità e 73% specificità.

**Conclusioni:** ULC è una tecnica, semplice, non ionizzante, eseguita mediante ecografo portatile, senza rischi né per il paziente né per l'operatore, senza impatto ambientale, a basso costo utile nella individuazione di FP e può rappresentare un determinante prognostico a lungo termine di pazienti con SSc più dell'IP.

**Keywords:** Ultrasound lung comets, Prognosi, Sclerosi sistemica.

## VALUTAZIONE ECOGRAFICA CON SONDA DA 18 MHZ DELLA SINDROME DEL TUNNEL CARPALE (STC) NELLA SCLEROSI SISTEMICA (SSC)

F. Bandinelli<sup>1</sup>, O. Kaloudi<sup>1</sup>, I. Miniati<sup>1</sup>, M.L. Conforti<sup>1</sup>, A. Candelieri<sup>2</sup>, D. Melchiorre<sup>1</sup>, R. Casale<sup>3</sup>, G. Grassiri<sup>4</sup>, S. Cammarata<sup>4</sup>, F. Porta<sup>1</sup>, M. Matucci Cerinic<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Biomedicina, DENOThe Centre, Divisione di Reumatologia, A.O.U.C., Università di Firenze;

<sup>2</sup>Laboratorio di Decision Engineering for Health Care Delivery, Dipartimento di Elettronica e sistemi informatici,

Università della Calabria; <sup>3</sup>Unità di Neurofisiologia, Fondazione del Lavoro, IRCCS, Montescano, Pavia; <sup>4</sup>ESAOTE Spa

**Introduzione:** L'associazione fra fenomeno di Raynaud e sindrome del tunnel carpaie (STC) è stata descritta per la prima volta alla Mayo clinic nel 1957.

Nella Sclerosi sistemica (SSc), la valutazione elettromiografica (EMG) ha mostrato un frequente coinvolgimento del nervo mediano nel tunnel carpaie (1).

**Metodi:** 64 pazienti con SSc (55 donne e 9 uomini, con età media di 57±14 anni) sono stati studiati consecutivamente da due osservatori mediante studio ecografico del tunnel carpaie (My Lab 25 XVG US Esaote con sonda lineare da 18 MHz) e confrontati con 19 controlli sani, mediante misurazione dell'area (NMA) e dei diametri trasverso (NMT) - anteroposteriore (NMAP) del nervo mediano nella porzione prossimale del canale a livello dell'osso pisiforme (1).

È stata utilizzata la versione italiana del Boston Carpal Tunnel Questionnaire (I-BCTQ) (2). Il friction tendon rub dei tendini flessori e il segno di Tinel sono stati verificati clinicamente. Sono stati raccolti i dati seguenti: durata di malattia, subset (limitata e diffusa), fase clinica (edematosa, fibrotica, atrofica), e il Rodnan skin score modificato. L'EMG è stata eseguita in 50 pazienti (latenza distale motoria e velocità di conduzione sensitiva dalla terza e quarta falange al polso per il nervo mediano).

**Risultati:** La variabilità intraosservatore e interosservatore è risultata alta (interclass correlation coefficient 0,9). Nei pazienti con SSc, NMA (11,1±3,6 mm<sup>2</sup>, p<0,001) e NMT (6,8±1,6 mm p<0,005) sono risultati significativamente più alti rispetto ai controlli, mentre nessuna differenza è stata trovata in MNAP. Escluso il NMT (p<0,05, Pearson coefficient 0,3), gli altri parametri non correlavano positivamente con I-BCTQ.

Non è stata rilevata alcuna differenza significativa in tutte le misure del nervo mediano tra pazienti con Tinel test positivo e negativo.

Non è stata trovata nessuna correlazione tra nervo mediano e subset, fase clinica e skin score.

Escluso NMAP (p<0,05, Spearman coefficient -0,2), gli altri parametri non correlavano con la durata di malattia. In 20/50 pazienti (40%), sono stati riscontrati reperti EMG positivi per STC e tutti i valori ecografici sono significativamente più alti nei pazienti con EMG positiva per STC (P<0,001).

Solo in quattro casi, è stato riscontrato il friction rub dei tendini flessori, e solo uno aveva l'EMG positiva.

**Conclusioni:** La patologia del nervo mediano è frequente nella SSc e l'ecografia è una tecnica sensibile che identifica in modo dettagliato le alterazioni del nervo mediano in tutte le fasi della SSc, indipendentemente dalla clinica.

### Bibliografia

1. Lori S, et al. Peripheral nervous system involvement in systemic sclerosis: the median nerve as target structure. Clin Exp Rheumatol. 1996; 14 (6): 601-5.
2. Duncan I, et al.: Sonography in the diagnosis of carpal tunnel syndrome. AJR 1999; 681-4.
3. Padua R, et al. Versione Italiana del questionario Boston Carpal Tunnel. Giornale Italiano di Ortopedia e Traumatologia 1998; 24: 121-9.

**Keywords:** Nervo mediano, Ecografia 18 Mhz, Sclerosi sistemica.

## IPOVITAMINOSI D NELLA SCLEROSI SISTEMICA

G. Calzolari, R. Carignola, A. Dovio, V. Data, L. Saba, A. Angeli

S.C.D.U. Medicina Interna I, Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università di Torino, A.O.U. San Luigi Gonzaga, Orbassano (TO)

**Introduzione:** È noto da tempo il ruolo immunomodulante della vitamina D sull'immunità sia innata sia adattativa. Recentemente sono stati dimostrati livelli sierici ridotti di 25-idrossivitamina D (25OHD) in pazienti con artrite reumatoide, lupus eritematoso sistemico e connettivite indifferenziata.

**Scopo dello Studio:** 1. Valutare i livelli sierici di 25OHD nei pazienti con SSc e nei rispettivi controlli; 2. Verificare eventuali correlazioni con le variabili di malattia.

**Popolazione e Metodi:** In 60 pazienti (M/F 12/48, età mediana 58 (range 31-72) anni) e 60 soggetti sani appaiati per sesso, età e stato menopausale, sono stati determinati i livelli sierici di 25OHD e dei marcatori di turnover osseo.

**Risultati:** I livelli di 25OHD risultavano significativamente inferiori nei pazienti rispetto ai controlli [mediana 23 (range 3-92) ng/ml vs 39 (14-138) ng/ml; p<0.001].

La significatività si confermava anche dopo appaiamento per stagione di prelievo. 38 pazienti avevano livelli di 25OHD inferiori a 30 ng/ml: 4 pazienti rientravano nel range di deficit severo (<10 ng/ml), 17 in quello di insufficienza (> o =10 e <20

ng/ml) e 17 in quello di lieve ipovitaminosi (> o =20 e <30 ng/ml). Nel sottogruppo di 46 pazienti non supplementati con calcio e vitamina D, la concentrazione mediana di 25OHD era di 21 (3-52) ng/ml.

L'analisi delle associazioni tra 25OHD e variabili di malattia (forma limitata o diffusa, coinvolgimento gastroenterico, presenza di ulcere) non ha raggiunto la significatività. Inoltre non si è dimostrata correlazione con il Rodnan skin score. La 25OHD ed il telopeptide C-terminale del collagene di tipo I sierico (sCTX), marcatore di turnover osseo, correlavano negativamente nei soli pazienti (R=-0,32, p=0.01).

Nessuna correlazione è stata evidenziata tra PTH e sCTX, escludendo l'iperparatiroidismo secondario quale causa dell'evento osservato, in possibile accordo con l'ipotesi di una fonte extraossea di metaboliti del collagene nella SSc. Infine, si è osservata una tendenza alla correlazione tra i livelli di 25OHD ed il punteggio di performance fisica valutato con il questionario SF-36.

**Discussione:** Il presente studio è il primo lavoro che dimostra

una ipovitaminosi D nella SSc rispetto ai controlli sani. L'ispessimento fibroso del derma ed il danno a carico del microcircolo potrebbero compromettere il complesso meccanismo di sintesi della previtamina D3 dal 7-deidrocolesterolo ad opera degli UVB; il coinvolgimento gastroenterico ed il malassorbimento della vitamina D potrebbero ulteriormente contribuire a quanto osservato; inoltre, per la rilevante disabilità da malattia, molti pazienti sono costretti alla sedentarietà e non possono beneficiare di un'adeguata esposizione alla radiazione solare.

**Conclusioni:** Nei pazienti con SSc vi è un'alta prevalenza di ipovitaminosi D.

Le cause, la rilevanza nella progressione clinica, l'influenza su metabolismo osseo e funzioni immunitarie, i potenziali effetti della supplementazione non sono tuttora noti e rappresentano ambiti di ricerca clinicamente rilevanti.

**Keywords:** 25-idrossivitamina D, Sclerosi sistemica, Autoimmunità.

---

## VALUTAZIONE DELL'IPERTENSIONE POLMONARE IN PAZIENTI CON SCLEROSI SISTEMICA MEDIANTE ECOCARDIOGRAMMA DA SFORZO

M. Doveri<sup>1</sup>, L. Bazzichi<sup>1</sup>, L. Gargani<sup>2</sup>, A. Della Rossa<sup>1</sup>, A. Consensi<sup>1</sup>, A. d'Ascanio<sup>1</sup>, C. Giacomelli<sup>1</sup>, F. Frassi<sup>2</sup>, E. Picano<sup>2</sup>, S. Bombardieri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>U.O. Reumatologia, Dipartimento Medicina Interna, Ospedale S. Chiara, Pisa; <sup>2</sup>Istituto di Fisiologia Clinica, CNR, Pisa

**Scopo del Lavoro:** L'ipertensione polmonare (IP) rappresenta una delle peggiori complicanze della Sclerodermia (SSc) in termini di qualità di vita e di sopravvivenza. IP è caratterizzata da cambiamenti strutturali delle piccole arterie polmonari, che producono un progressivo incremento della pressione polmonare e delle resistenze vascolari polmonari, conducendo ad insufficienza cardiaca destra ed a morte. Data la natura non-specifica dei suoi sintomi e segni, IP è spesso diagnosticata in ritardo ed una sua precoce individuazione potrebbe guidare ad un intervento terapeutico tempestivo, riducendo morbidità e mortalità. utilizzare l'ecocardiogramma da sforzo come strumento utile per individuare variazioni della pressione arteriosa polmonare in pazienti con SSc.

**Materiali e Metodi:** Dal Maggio 2007 al Giugno 2008 abbiamo arruolato 30 pazienti con SSc, (29 femmine, 1 maschio, età media 55,9±10.3, 22 forma limitata e 8 diffusa), 12 pazienti con anticorpi anticentromero, 15 con antitopoisomerasi, 3 con antinucleari.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad ecocardiogramma da sforzo, test di funzione polmonare con analisi della capacità di diffusione polmonare del monossido di carbonio (DLCO) e capillaroscopia. Sono state stimate: PAPs (pressione arteriosa polmonare sistolica) tramite rigurgito tricuspide, PAPm (media della pressione arteriosa polmonare), resistenza vascolare periferica (PVR) tramite la misura del ACTpo (acceleration time of pulmonary outflow tract) e la funzione del ventricolo destro tramite la misurazione della TAPSE (tricuspid annular pla-

ne systolic excursion). IP è stata definita come sPAP > 40 mm Hg a riposo e >50 durante esercizio. L'analisi statistica è stata eseguita usando stat-view program. Abbiamo correlato le variabili continue, tramite il coefficiente di correlazione di Spearman, le variabili qualitative con l'analisi delle tabelle di contingenza e comparato le variabili nominali e continue, usando il Mann Wythney test.

**Risultati:** IP è stata riscontrata nel 10% dei pazienti a riposo mentre nel 36% dopo esercizio. Nessuna differenza significativa né tra i subset sierologici e cutanei né tra la pressione sistolica polmonare a riposo e sottosforzo. Nessuna differenza significativa tra pazienti con IP e pazienti senza IP. In un piccolo subset di pazienti sono stati ricercate citochine (come TGF-beta, VEGF, IL-6, TNF, IL-4). TGF beta apparirebbe correlato inversamente con il valore dell'IP da sforzo (Rho: 0.67, p: 0,07)

**Conclusioni:** IP indotta dopo esercizio è una condizione comune in pazienti con SSc. L'ecocardiogramma da sforzo potrebbe essere considerato un utile metodo diagnostico non invasivo per identificare l'IP in stadi precoci di malattia, da confermare mediante cateterismo cardiaco, considerato attualmente il gold standard. L'osservazione longitudinale confermerà il suo reale vantaggio nell'individuazione di pazienti ad alto rischio.

**Keywords:** Sclerosi Sistemica, Ecocardiogramma da sforzo, Ipertensione polmonare.

## DIAGNOSI PRECOCE DI IPERTENSIONE POLMONARE IN PAZIENTI CON SCLEROSI SISTEMICA MEDIANTE ECOCARDIOGRAMMA BASALE E DA STRESS

E. Bruschi<sup>1</sup>, O. Epis<sup>1</sup>, A. Moreo<sup>2</sup>, B. De Chiara<sup>2</sup>, S. Cataldo<sup>2</sup>, G. Agoston<sup>3</sup>, M. Muscarà<sup>1</sup>, D. Filippini<sup>1</sup>, F. Mauri<sup>2</sup>, B. Canesi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>S.C. Reumatologia, A.O. Niguarda Ca' Granda, Milano; <sup>2</sup>Dipartimento Cardiologia, A.O. Niguarda Ca' Granda, Milano;

<sup>3</sup>2nd Department of Medicine and Cardiology, Albert-Szent-Györgyi Clinical Center, Szeged, Hungary

**Scopo del Lavoro:** L'ipertensione arteriosa polmonare (PAH) è oggi la più frequente causa di morte nei pazienti con Sclerosi sistemica (SSc). La precoce individuazione dei pazienti con PAH consente di instaurare tempestivamente un trattamento efficace, al fine di migliorarne la prognosi.

Presentiamo in questo studio i dati relativi ad uno screening delle pazienti con SSc seguite presso il nostro centro, sottoposte a ecocardiogramma basale e sotto sforzo per individuare PAH in fase iniziale.

**Materiali e Metodi:** Dal 25/3/09 al 15/5/09 sono state valutate 55 pazienti affette da SSc, età media  $60 \pm 11,7$  anni. In tutti i casi sono stati eseguiti dosaggio del pro-BNP (pro-brain natriuretic peptide), prove di funzionalità respiratoria con DLCO ed ecocardiogramma a riposo. Quarantuno pazienti hanno inoltre effettuato ecocardiografia da sforzo con lettoergometro e con la stima della pressione sistolica polmonare (PAPs) al picco dello sforzo.

**Risultati:** Nessun paziente ha presentato complicanze durante l'ecocardiografia da sforzo. La PAPs media era  $30,8 \pm 6,8$  mmHg a riposo, con incremento sino a  $50,5 \pm 14,4$  durante

l'esercizio. Venti pazienti (49%) avevano PAPs al culmine dello sforzo  $>50$  mmHg e 17 (41%)  $>55$  mmHg. Una correlazione statisticamente significativa è stata rinvenuta tra aumento delle PAPs durante l'esercizio e alterazione delle prove di funzionalità respiratoria: ridotta DLCO ( $p=0,002$ ), KCO (VA/DLCO,  $p<0,001$ ), FVC ( $p<0,001$ ), CV ( $p<0,001$ ). È stata inoltre riscontrata una significativa correlazione con l'elevazione dei livelli di pro-BNP ( $p=0,001$ ).

**Conclusioni:** Nelle pazienti con SSc vi è un'elevata frequenza di ipertensione polmonare indotta dall'esercizio. I pazienti con ridotti volumi polmonari e DLCO, e con elevazione del pro-BNP presentano un maggior rischio di sviluppare un aumento delle PAPs durante l'esercizio fisico. Sono necessari studi con prolungato follow up per valutare il rischio in questi casi di sviluppare una PAH a riposo. È importante inoltre determinare se una terapia efficace iniziata nelle fasi precoci sia in grado di migliorare la prognosi di questi pazienti.

**Keywords:** Sclerosi sistemica, Ipertensione polmonare, Ecocardiografia.

