



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MESSINA
Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale
Dottorato di Ricerca XXXI° Ciclo in
Scienze Biomediche Cliniche e Sperimentali
Coordinatore: Prof Edoardo Spina

**Valutazione subclinica della funzione miocardica ed
endoteliale in pazienti con artrite psoriasica e reumatoide in
fase precoce: associazione con vitamina D ed infiammazione**

Tesi di Dottorato di:
Dott. Alberto Lo Gullo

Relatore:
Chiar.mo Prof. Antonino Saitta
SSD: MED 09

Triennio Accademico 2015-2018

INDICE:

ABSTRACT

INTRODUZIONE

ARTRITE REUMATOIDE

ARTRITE PSORASICA

SPECKLE TRACKING ECHOCARDIOGRAPHY

CELLULE PROGENITRICI CIRCOLANTI

VITAMINA D3

SCOPO DELLO STUDIO

MATERIALI E METODI

SOGGETTI

CONTA CELLULE PROGENITRICI

STUDIO ECOCARDIOGRAFICO

MARKERS ATEROSCLEROSI SUBCLINICA

ANALISI STATISTICA

RISULTATI

PATOLOGIA CARDIOVASCOLARE SUBCLINICA E DISFUNZIONE MIOCARDICA IN PAZIENTI CON ARTRITE REUMATOIDE E PSORIASICA IN FASE PRECOCE

DISFUNZIONE MIOCARDICA SUBCLINICA E CARATTERISTICHE DI MALATTIA

ALTERAZIONE DELLE CELLULE CD34+ E VITAMINA D: ASSOCIAZIONE CON LA DISFUNZIONE SUBCLINICA MIOCARDICA

DISCUSSIONE

TABELLE

BIBLIOGRAFIA

Abstract

Introduzione: La morbilità e mortalità cardiovascolare (CV) sono aumentate nelle malattie infiammatorie articolari (IJD), quali l'artrite reumatoide (AR) e l'artrite psoriasica (PsA). In entrambe le condizioni è stata descritta una incrementata prevalenza di aterosclerosi subclinica mentre non è del tutto conosciuta la precoce compromissione della funzionalità miocardica. Lo scopo di questo studio è di valutare la funzione cardiaca mediante l'ecocardiografia speckle tracking (STE) in pazienti con AR e PsA di recente insorgenza e le potenziali associazioni con i livelli di cellule CD34 + circolanti, vitamina D e attività di malattia.

Metodi: La tecnica STE è stata utilizzata per valutare la funzionalità miocardica in 41 pazienti con AR e 35 soggetti con PsA in fase precoce di malattia, senza fattori di rischio CV tradizionali; il gruppo controllo consisteva di 58 soggetti sani (HC). Sono stati valutati sia lo strain longitudinale che il circonferenziale (GLS e GCS), mentre come markers surrogati di aterosclerosi sono stati misurati la pulse wave velocity (PWV) e lo spessore medio intimale carotideo (cIMT). Le cellule CD34+ circolanti sono state valutate mediante citometria a flusso e i livelli di vitamina D sono stati quantificati mediante HPLC. L'attività di malattia è stata valutata tramite score di malattia su 28 articolazioni (DAS28).

Risultati: I pazienti con AR presentavano una compromissione sia del GLS sia del GCS (entrambi $p < 0.001$) rispetto ai controlli; il GLS risultava alterato nei pazienti con PsA ($p = 0.020$ vs HC). Il DAS28 era correlato al GLS ($r: 0.908, p < 0,001$) ed al GCS ($r: 0.868, p < 0,001$) nei pazienti con AR; i risultati sono stati confermati dall'analisi di regressione multivariata e corrette per i fattori confondenti. I soggetti con PsA con elevata attività di malattia presentavano anch'essi una alterazione del GLS e GCS rispetto ai controlli; il GLS è risultato essere un predittore del cIMT. La vitamina D era associata negativamente con il cIMT nei controlli ($r: - 0.308, p = 0.026$) ma non nella PsA o AR, sebbene in questi pazienti siano stati osservati diminuiti livelli (entrambi $p < 0,001$). La vitamina D risultava essere un predittore indipendente della diminuzione dei livelli di CD34+ nella PsA e AR. Le cellule CD34+ correlavano negativamente con il DAS28, il GLS e GCS nei soggetti con AR.

Conclusione: In questo studio i pazienti con IJD con funzione ventricolare conservata e senza fattori di rischio CV tradizionali presentano una disfunzione subclinica del miocardio. La disfunzione miocardica subclinica è risultata essere un evento molto precoce in queste due condizioni patologiche. L'attività della malattia è risultata essere il principale fattore predittivo della compromissione della funzionalità cardiaca.

INTRODUZIONE

ARTRITE REUMATOIDE

L'artrite reumatoide (AR) è una malattia infiammatoria cronica ad eziologia sconosciuta caratterizzata da una poliartrite periferica simmetrica con andamento progressivo, comparsa di deformità invalidanti ed evoluzione verso la sublussazione delle parti ossee ed anchilosi; tuttavia, non è raro l'interessamento di altri organi ed apparati, come l'occhio, la cute ed i polmoni. Il tasso di prevalenza varia da 0.3 a 1.5%. L'incidenza è pari a circa 6 nuovi casi ogni 10.000 persone/anno (1). Possono essere affetti soggetti di ogni età, anche se più frequentemente si manifesta in donne di età compresa fra i 25 ed i 50 anni. L'eziopatogenesi dell'AR non è ancora completamente conosciuta; l'ipotesi che attualmente gode di maggiori consensi prevede che la malattia si sviluppi quando un individuo geneticamente predisposto a sviluppare la malattia entri in contatto con un antigene scatenante che determinerebbe un'attivazione del sistema immunitario coinvolgente sia l'immunità umorale che quella cellulare, e porterebbe allo sviluppo di un processo infiammatorio acuto e successivamente al suo auto-mantenimento e cronicizzazione.

In particolare i linfociti T CD4⁺ attivati dalle cellule presentanti l'antigene, si differenziano in cellule Th1 che producono prevalentemente interferone γ (IFN- γ) e Th17 che inducono la produzione di varie citochine tra cui IL-17, IL-21 e IL-22.

A loro volta le cellule T CD4⁺ attivano i linfociti B, destinati a differenziarsi in plasmacellule produttrici di anticorpi; questi ultimi si legano agli antigeni bersaglio formando immunocomplessi che attivano il complemento amplificando la flogosi. I linfociti T effettori stimolano, inoltre, macrofagi e fibroblasti a produrre mediatori pro-infiammatori tra i quali il fattore di necrosi tumorale α (TNF α) che a sua volta stimola la produzione di interleuchina 1 (IL-1), interleuchina 6 (IL-6) e il fattore stimolante le colonie granulocito-macrofagiche (GM-CSF). La cascata infiammatoria

non essendo più bilanciata, a causa della disfunzione dei linfociti T regolatori, determina lo sviluppo e persistenza della patologia articolare ed il coinvolgimento sistemico di organi e apparati (1).

La malattia esordisce generalmente in maniera lenta e graduale con sintomi aspecifici come malessere generale, astenia, anoressia, febbre ed artro-mialgie a cui si associano ben presto sintomi particolari ben definiti quali la rigidità mattutina di lunga durata, il dolore e la tumefazione delle articolazioni. Le articolazioni più colpite sono quelle munite di membrana sinoviale (diartrodiali). La poliartrite è caratterizzata da una simmetrica distribuzione con andamento centripeto e con carattere aggiuntivo. Le articolazioni più frequentemente colpite sono le piccole articolazioni delle mani (interfalangee prossimali e metacarpo-falangee) ed i polsi, seguite dalle metatarso-falangee ed interfalangee prossimali dei piedi, da ginocchia, gomiti, caviglie, spalle, anche, colonna cervicale e temporo-mandibolari. Il sintomo principale è il dolore, aggravato dal carico e dal movimento. Caratteristica poi è la rigidità articolare, in particolare al mattino (morning stiffness), di lunga durata (fino a 3-5 ore). Con il progredire delle lesioni la limitazione funzionale si accentua in seguito all'instaurarsi di deformità articolari con aspetti caratteristici (mani con deviazione a colpo di vento, a collo di cigno, en boutonniere, piede piatto o equino con dita a martello...) ed anchilosi. Coinvolte dal processo flogistico anche le strutture anatomiche adiacenti alle articolazioni con coinvolgimento di: tendini, guaine tendinee e borse sierose. Le tenosinoviti sono particolarmente frequenti e spesso sono il primo sintomo della malattia. Le manifestazioni extra-articolari dell'AR sono legate alla localizzazione del processo reumatoide in sedi diverse dalle articolazioni ed includono i noduli reumatoidi, la vasculite reumatoide, manifestazioni polmonari come pleurite e pneumopatia interstiziale, manifestazioni

cardiache come pericarditi, miocarditi e coronaropatie, manifestazioni ematologiche, coinvolgimento oculare e renale. Anticorpi sierici diretti contro i peptidi citrullinati ciclici (anti-CCP), insieme al fattore reumatoide, sono usati di routine come marcatori biologici con significato diagnostico e prognostico. I pazienti affetti da questa patologia spesso presentano elevati marker infiammatori non specifici, come VES o PCR (1).

Dal punto di vista della diagnosi strumentale l'esame radiografico (RX) mostra un quadro di osteopenia periarticolare, edema dei tessuti molli, riduzione simmetrica dello spazio articolare ed erosioni sub-condrali.

La risonanza magnetica (RM) presenta maggiore sensibilità nello rilevare sinovite e versamento articolare, così come le modificazioni precoci dell'osso e la presenza di edema osseo midollare.

Infine attraverso l'esame ecografico con tecnica power color doppler, per l'aumentata vascolarizzazione articolare indicativa di infiammazione è in grado di evidenziare il coinvolgimento teno sinoviale ed un maggior numero di erosioni rispetto alle metodiche tradizionali (1-3).

La diagnosi si basa in gran parte su segni e sintomi di artrite infiammatoria cronica, mentre i dati radiologici e di laboratorio forniscono importanti informazioni supplementari. Nel 2010 l'American College of Rheumatology (ACR) e l'European League Against Rheumatism (EULAR) hanno revisionato i criteri classificativi dell'AR con l'obiettivo di migliorare la diagnosi precoce, particolarmente importante per il decorso clinico e lo sviluppo precoce di patologie ad essa associate (1-3). L'attività di malattia viene effettuata tramite conta delle articolazioni dolenti e tumefatte, misurazione indici di flogosi, e tramite diversi score tra i quali il DAS 28; le scale analogiche del dolore vengono usate per la misurazione del dolore mentre la

valutazione della disabilità del paziente è valutata tramite questionario HAQ. Il metodo di SHARP valuta il grado di danno articolare sulla base del numero di erosioni e riduzione della rima (1-3).

2010 ACR/EULAR	
Classification Criteria for RA	
JOINT DISTRIBUTION (0-5)	
1 large joint	0
2-10 large joints	1
1-3 small joints (large joints not counted)	2
4-10 small joints (large joints not counted)	3
>10 joints (at least one small joint)	5
SEROLOGY (0-3)	
Negative RF AND negative ACPA	0
Low positive RF OR low positive ACPA	2
High positive RF OR high positive ACPA	3
SYMPTOM DURATION (0-1)	
<6 weeks	0
≥6 weeks	1
ACUTE PHASE REACTANTS (0-1)	
Normal CRP AND normal ESR	0
Abnormal CRP OR abnormal ESR	1

≥6 = definite RA

What if the score is <6?

Patient might fulfill the criteria...

→ **Prospectively** over time (cumulatively)

→ **Retrospectively** if data on all four domains have been adequately recorded in the past




Figura 1. Criteri classificativi per l'Artrite Reumatoide. Adattata da American College of Rheumatology e EULAR 2010.

ARTRITE PSORIASICA

L'artrite psoriasica (PsA) è una malattia infiammatoria cronica caratterizzata da infiammazione sinoviale ed entesite e riscontro, anche anamnestico, di psoriasi; può manifestarsi come poliartrite periferica, oligoartrite asimmetrica, artrite mutilante o come forma assiale simile a quella della spondilite anchilosante (4).

L'entesite è osservata nel 30-50% dei pazienti e più comunemente coinvolge la fascia plantare e il tendine di Achille, ma può causare dolore intorno alla rotula, cresta iliaca, epicondili e inserzioni di sovraspinato. La dattilite è riportata nel 40-50% dei pazienti con maggior prevalenza del terzo e quarto dito rispetto alle altre dita, può esordire in forma acuta o cronica ed è spesso associata a una forma più grave caratterizzata da poliartrite, erosione ossea, e nuova formazione ossea (4).

E' molto comune l'interessamento del rachide lombare e cervicale, con dolore e rigidità mattutina.

Il coinvolgimento ungueale è caratterizzato da diverse alterazioni: depressioni puntiformi, striature orizzontali, onicolisi, decolorazione giallastra dei margini ungueali (oil nail) e ipercheratosi distrofica. Sono frequenti anche manifestazioni extra-articolari: oculari con congiuntivite e uveite ed insufficienza aortica con maggiore incidenza di morte per patologie cardiovascolari (4). Tra i soggetti con psoriasi, la prevalenza dell'artrite (PsA) è compresa, secondo diverse stime, tra il 5% e il 42%, e recenti dati di screening indicano che il 20% o più dei pazienti con psoriasi è affetto da PsA non diagnosticata. Studi clinici indicano ancora come i parenti di primo grado dei pazienti affetti da PsA, presentano un elevato rischio di sviluppare psoriasi e PsA (4).

In contrasto con l'artrite reumatoide, che è associata al complesso maggiore di istocompatibilità di classe II, la psoriasi e l'artrite psoriasica sono associate alla classe MHC di classe II; in particolare, l'HLA-C * 06 risulta essere un fattore di rischio importante per la psoriasi ma non per l'artrite psoriasica caratterizzata questa da un più frequente riscontro di alleli HLA-B 08, B 27, B 38 e B 39. Polimorfismi del gene recettore dell'interleuchina-23 (IL23R), insieme a varianti nell'espressione genica di fattore nucleare κ B (NF- κ B), del fattore nucleare di segnalazione (TNFAIP3) e del TNF si associano con l'artrite psoriasica. L'HLA-B27 è presente nel 50-70% dei soggetti con PsA assiale, ma in meno del 20% dei pazienti con solo interessamento articolare periferico (5).

Nella placca psoriasica cutanea, l'interazione tra fattori genetici e ambientali innesca una risposta infiammatoria ove il DNA rilasciato dai cheratinociti si lega al peptide antibatterico LL-37 e stimola il rilascio di interferone- α (IFN- α) da parte delle cellule dendritiche plasmacitoidi con conseguente attivazione di cellule dendritiche dermiche che migrano verso linfonodi drenanti e determinano la differenziazione delle cellule T helper (Th17) in tipo T1 helper (Th1) e in tipo 17 (Th17). Le cellule Th1 e Th17 raggiungendo il derma rilasciano l'interleuchina-12, 17 e 22 (IL-12, IL-17 e IL-22, rispettivamente) e fattore di necrosi tumorale α (TNF- α), insieme a una gamma di chemochine e altre citochine. Altre cellule linfoidi innate e cellule T CD8 + IL-17-secerenti (cioè tipo 17) nel derma partecipano al complesso meccanismo di perpetuazione della flogosi. Il rilascio di citochine nel derma promuove la proliferazione dei cheratinociti che rilasciano a loro volta citochine che con attività paracrina agiscono sulle cellule del derma. L'espansione delle cellule Th1 e Th17, insieme ad altre cellule di tipo 17 e ai precursori degli osteoclasti (OCP), può anche avvenire nel midollo osseo. La disbiosi microbica intestinale sembra poter essere in

grado di iniziare l'infiammazione nell' ileo-colon e innescare il rilascio di IL-23 e cellule di tipo 17. Il rilascio di IL-23 in risposta a stress biomeccanico nell'entesi, si attivando le cellule di tipo 17 ed il network citochinico, tra cui IL-22 e TNF, con conseguente amplificazione della infiammazione e comparsa di erosioni ossee e formazione neo apposizione ossea. La differenziazione delle cellule mesenchimali in osteoblasti in risposta alla stimolazione IL-22 e ad altre vie di segnalazione, contribuisce alla formazione di entesofiti sia a carico delle articolazioni periferiche che della colonna vertebrale. L'aumento di espressione dell'attivatore del recettore NF- κ B (RANK) e del ligando (RANKL) sui sinoviociti insieme agli aumentati livelli di TNF, IL-17 e RANKL espresso dalle cellule infiltranti, guida la differenziazione degli OCP in osteoclasti, con sinovite e riassorbimento osseo (5).

Tra i dati di laboratorio la VES e la proteina C-reattiva risultano spesso elevate, e in una esigua percentuale di pazienti si riscontrano bassi titoli di fattore reumatoide o anticorpi antinucleo (4).

Le alterazioni radiografiche a carico delle artropatie periferiche e assiali dei pazienti con PsA mostrano caratteristiche ben precise che li distinguono chiaramente da quelle dell'artrite reumatoide tra essi si sottolinea l'interessamento delle articolazioni interfalangee distali, le erosioni marginali con proliferazione dell'osso adiacente, anchilosi delle piccole articolazioni e osteolisi delle falangi. L'interessamento radiologico della sacroileite è una delle manifestazioni tipiche dell' PsA assiale. L'ecografia e la RM mostrano la presenza di interessamento entesitico e/o versamento nelle guaine tendinee, difficilmente evidenziabili all'esame obiettivo (4,6).

Criteri largamente condivisi per la classificazione della PsA sono stati pubblicati nel 2006 e conosciuti come criteri CASPAR (Classification Criteria For Psoriatic

Arthritis). La sensibilità e specificità di tali criteri sono superiori al 90% e risultano utili per una diagnosi precoce; si basano sull'anamnesi, sulla presenza di psoriasi e di segni caratteristici, di sintomi e di immagini radiologiche delle articolazioni vertebrali o periferiche (4,7). È importante la valutazione di ciascuno dei domini muscolo-scheletrici che insieme alla gravità e all'estensione della psoriasi consentono la formulazione di una più accurata diagnosi. Tra i criteri di valutazione particolare cura dovrà essere attribuito all'esame di 68 articolazioni; alla valutazione della escursione articolare, del dolore spinale; l'entesite viene invece, valutata con l'uso di uno degli indici di entesite, come l'indice di Entesite di Leeds (valutazione di sei entesi) o l'indice di Entesite del consorzio di ricerca Spondyloarthritis Canada (SPARCC); la dattilite è valutata mediante l'indice di Dattilite di Leeds. La psoriasi deve essere valutata sulla base della superficie corporea interessata o dell'area psoriasica e Severity Index (PASI), mentre la onicopatìa psoriasica valutata in base alla presenza di l'onicolisi o di pitting ungueale; l'artrite periferica è valutata tramite scale del dolore dal paziente e dal medico ed inoltre mediante scale di disabilità, indici di flogosi e lo score di attività della malattia (DAS) (4,7).

Table 1. Classification Criteria for Psoriatic Arthritis (CASPAR).*		
Criterion	Explanation	Points
Evidence of psoriasis		
Current psoriasis	Current psoriatic skin or scalp disease as judged by a dermatologist or rheumatologist	2
Personal history of psoriasis	History of psoriasis according to the patient or a family doctor, dermatologist, or rheumatologist	1
Family history of psoriasis	History of psoriasis in a first- or second-degree relative according to the patient	1
Psoriatic nail dystrophy	Typical psoriatic nail dystrophy (e.g., onycholysis, pitting, or hyperkeratosis) according to observation during current physical examination	1
Negative test for rheumatoid factor	Based on reference range at local laboratory; any testing method except latex, with preference for ELISA or nephelometry	1
Dactylitis		
Current dactylitis	Swelling of an entire digit according to observation on current physical examination	1
History of dactylitis	According to a rheumatologist	1
Radiographic evidence of juxtaarticular new bone formation	Ill-defined ossification near joint margins (excluding osteophyte formation) on plain radiographs of hand or foot	1

Figura2. Criteri classificativi CASPAR per l'artrite psoriasica. Adattata da Classification and clinical assessment 2012. Adattata da NEJM 2017. Psoriatic arthritis

SPECKLE TRACKING ECHOCARDIOGRAPHY

I soggetti con malattie infiammatorie articolari (IJD), tra cui i pazienti con artrite reumatoide (RA) e artrite psoriasica (PsA), presentano un aumentato rischio di morbilità e mortalità cardiovascolare (CVD) (8,9) in particolare: insufficienza cardiaca e infarto miocardico. I fattori di rischio cardiovascolari (CV) tradizionali non sono in grado da soli di spiegare pienamente l'incremento di tale rischio, mentre sia l'infiammazione cronica che la dis-regolazione immunitaria sembrano svolgere un ruolo sostanziale nell'incrementare tale rischio (10,11, 13) che giustificano il bisogno di nuovi parametri e metodiche capaci di maggiore e più appropriata individuazione del danno cardio vascolare e dei fattori di rischio ad esso correlato onde poter garantire, a questi pazienti, trattamenti terapeutici adeguati.

A questo proposito, diverse tecniche non invasive di imaging forniscono una stima adeguata del rischio cardiovascolare attraverso una valutazione del carico aterosclerotico e della funzione cardiaca e nonostante molti ricercatori si sono concentrati sullo studio dell'aterosclerosi, poca attenzione è stata rivolta alla funzionalità sistolica miocardica (8-13).

La tecnica ecocardiografica speckle tracking echocardiography (STE) è un recente metodo per l'identificazione della disfunzione ventricolare attraverso la valutazione ecocardiografica della deformazione (strain) miocardica (14-16). La strain si riferisce alla deformazione, ossia al relativo cambiamento del muscolo rispetto alla sua lunghezza originale, espressa come percentuale di cambiamento. Questa tecnica fornisce informazioni riguardo la funzione miocardica sia regionale che globale. Lo Speckle Tracking si basa sull'analisi della dislocazione spaziale degli speckles (definiti come degli spot generati dall'interazione tra il fascio di ultrasuoni e le fibre miocardiche) su sonogrammi bidimensionali. La metodica consente l'elaborazione

semiautomatica della deformazione ventricolare in 3 dimensioni: longitudinale, radiale e circonferenziale. In aggiunta offre una valutazione all'occorrenza, della direzione e velocità di rotazione del ventricolo sinistro. La strain longitudinale esprime la deformazione miocardica diretta dalla base all'apice. Durante la sistole, le fibre miocardiche ventricolari si accorciano con movimenti di traslazione dalla base all'apice e la conseguente riduzione della distanza tra i singoli kernel è rappresentata da una curva a tendenza negativa. Attraverso l'analisi della deformazione longitudinale in 4 camere, 2 camere, e la visione lungo l'asse apicale, sono state ottenute sia le immagini regionali (relative a ciascuno dei 17 segmenti del ventricolo sinistro), che la valutazione della deformazione globale (14-16). La deformazione longitudinale globale è stata validata come indice quantitativo per la funzione globale del ventricolo sinistro. La deformazione radiale rappresenta la deformazione miocardica diretta in direzione radiale, cioè, verso il centro della cavità ventricolare sinistra, e quindi ci indica il movimento di ispessimento e assottigliamento del ventricolo sinistro durante il ciclo cardiaco. Di conseguenza durante la sistole, data la progressiva propulsione radiale dei singoli kernel, la valutazione della deformazione radiale è rappresentata da una curva positiva (14-16). La deformazione circonferenziale è rappresentata dagli accorciamenti delle fibre miocardiche del ventricolo sinistro lungo il perimetro circolare, osservato da una visione asse-corto. Di conseguenza durante la sistole, la misura della deformazione circonferenziale è rappresentata da una curva negativa (14-16).

Le anomalie della deformazione cardiaca sono state riportate in un ampio numero di patologie cardiovascolari consentendo la ricerca di alterazioni della funzione sistolica in patologie che determinano insufficienza cardiaca con conservata frazione di eiezione ventricolare sinistra (14-16). Quindi le alterazioni della deformazione

ventricolare possono essere usate come marker precoce di patologie cardiovascolari anche nelle malattie infiammatorie croniche allo scopo di individuare precoci difetti della funzione cardiaca.

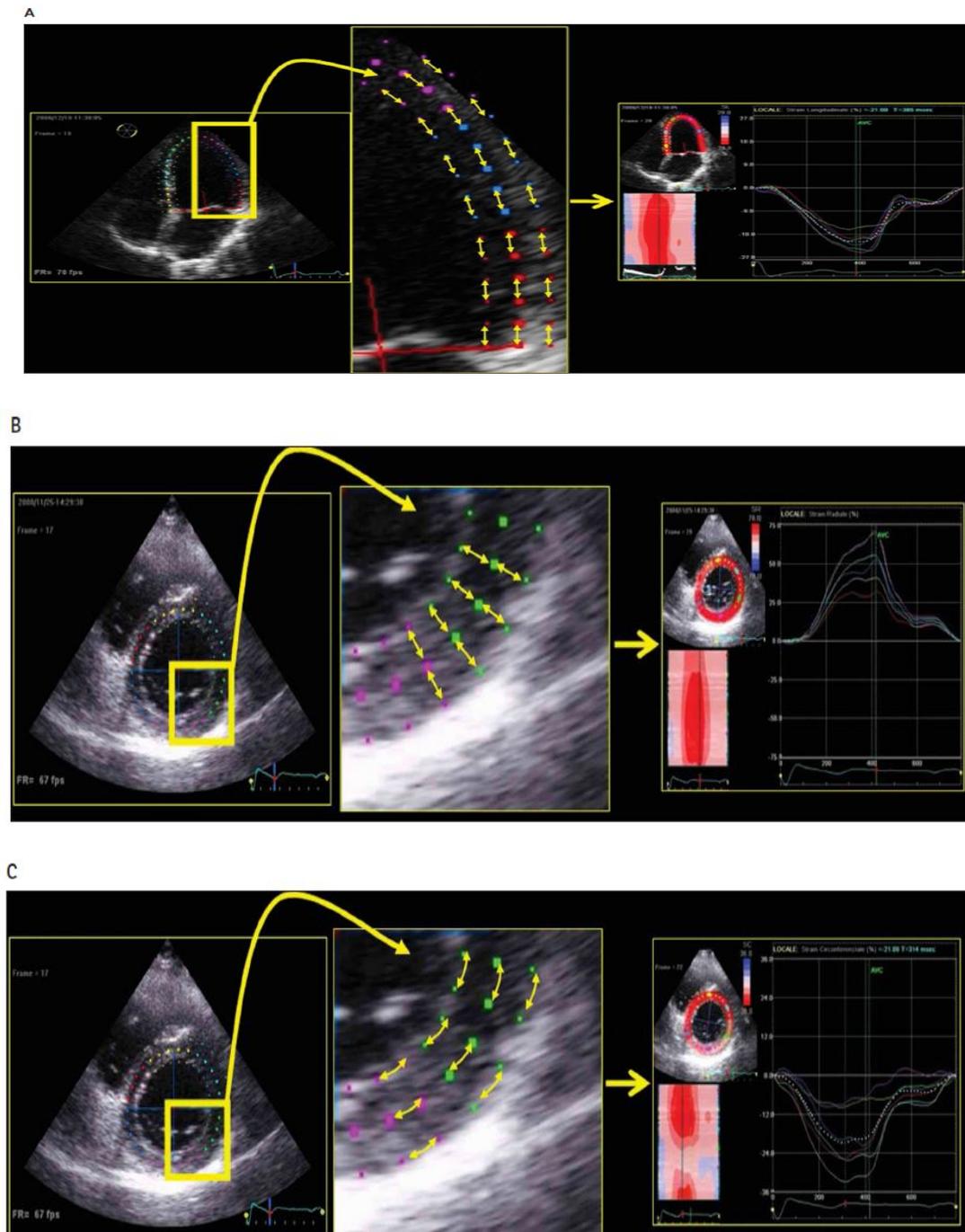


Figura 3. Ecocardiografia Speckle Tracking, analisi della deformazione miocardica longitudinale (A), radiale (B), circonferenziale (C). Adattata da Speckle Tracking Echocardiography: a New Technique for Assessing Myocardial Function 2011.

RUOLO DELLE CELLULE CD34+

Comuni mediatori immunitari (17-19) sono responsabili dell'aterosclerosi e della progressione della patologia articolare. L'attivazione cronica dei pathway immunitari conduce oltre che alla disfunzione endoteliale, anche all'insufficienza dei meccanismi di riparazione vascolare con formazione di placche aterosclerotiche e in ultimo allo sviluppo di patologie cardiovascolari (20-23).

Tra i meccanismi di riparazione del danno vascolare è noto il ruolo svolto delle cellule emopoietiche proangiogenetiche circolanti (CD34+).

I precursori delle cellule CD34+ derivano dal midollo osseo, cellule multipotenti con la capacità di differenziarsi in differenti tipi cellulari che partecipano al turnover dell'endotelio danneggiato, probabilmente ritardando lo sviluppo di patologie cardiovascolari (20-23). Queste cellule definite progenitrici (EPCs) esprimono diversi markers, sia di cellule staminali emopoietiche che di cellule endoteliali mature (CD34, CD133, VEGFR2) e partecipano alla riparazione vasale, ritardando lo sviluppo di eventi cardiovascolari (20-23).

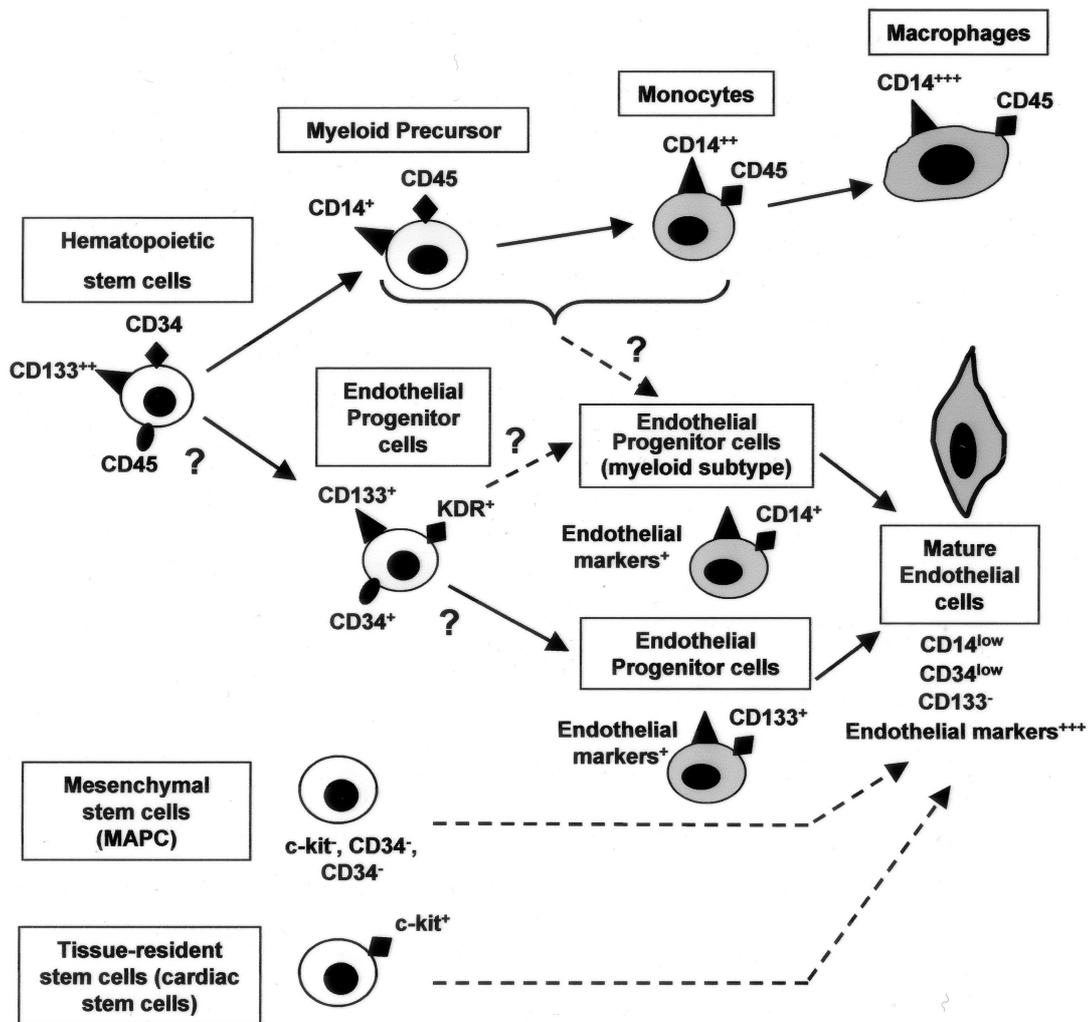


Figura 4. Origine e differenziazione delle cellule progenitrici endoteliali. Lo schema raffigura la potenziale origine e differenziazione in cellule progenitrici endoteliali da cellule staminali emopoietiche e non-emopoietiche. Adattata da *Endothelial Progenitor Cells Characterization and Role in Vascular Biology* 2004.

Vari fattori di rischio cardiovascolare come dislipidemie, fumo, diabete e ipertensione influiscono sul numero e sull'attività funzionale delle EPCs. Di conseguenza tutto ciò che riduce i fattori di rischio cardiovascolare come l'uso di statine o l'esercizio fisico, elevano i livelli delle EPCs, contribuendo a un miglioramento della riparazione endoteliale (20,22,23). Quindi il bilanciamento tra fattori ateroprotettivi e proaterosclerotici influenza il livello delle cellule progenitrici e di conseguenza la capacità di riendotelizzazione. La mobilizzazione delle cellule staminali nel midollo osseo è determinata dal microambiente locale chiamato

"nicchia delle cellule staminali", che permette in fine alle cellule staminali di lasciare il midollo osseo attraverso migrazione transendoteliale (21-26). Fisiologicamente l'ischemia si crede sia il principale segnale che induce la mobilizzazione delle EPCs dal midollo osseo, attraverso l'upregolazione di VEGF e SDF-1 (stroma derived factor 1) che rilasciati a turno in circolo inducono la mobilizzazione delle cellule progenitrici dal midollo osseo per via MMP-9 dipendente, ossia attraverso l'azione di metalloproteinasi della matrice, e altre molecole come elastasi e catepsina G. Successivamente altri fattori si sono dimostrati indurre la proliferazione delle cellule staminali midollari, come il fattore stimolante le colonie granulocitarie (G-CSF), il fattore stimolante le colonie granulocito-monocitarie (GM-CSF) e l'eritropoietina (EPO). Le cellule CD34+ sono state descritte migliorare, oltre alla neovascolarizzazione, anche la funzione miocardica (24-26). Infatti nuove evidenze suggeriscono che le EPCs possano differenziarsi in cardiomiociti e in cellule muscolari lisce (21-26). Queste intuizioni sui processi molecolari e cellulari di formazione tissutale suggeriscono che la funzione cardiaca potrebbe essere preservata, dopo infarto del miocardio, dalla migrazione delle EPCs nel tessuto ischemico cardiaco, aumentando in tal modo il recupero vascolare e miocardico. In risposta ad eventi che richiedono un basso grado di neovascolarizzazione, le cellule endoteliali locali presentano la capacità di autoriparazione e proliferazione per rimpiazzare le cellule perdute. Però questo meccanismo è limitato, in quanto la capacità di replicazione e incorporazione delle cellule endoteliali mature è ridotta. Infatti in lesioni che richiedono un alto grado di riparazione tissutale, come nell'infarto del miocardio, le cellule EPCs sono attivate da citochine, ormoni e fattori di crescita, attraverso pattern autocrini, paracrini e endocrini. Quindi il coinvolgimento delle EPCs è cruciale per il recupero dal danno vascolare. Nello specifico le cellule

progenitrici endoteliali di derivazione midollare, a parte il loro ruolo strutturale, reclutate nel tessuto ischemico possono rimanere nello spazio interstiziale e favorire l'angiogenesi attraverso la secrezione di proteine con ruolo citoprotettivo, citochine e fattori di crescita che promuovono la proliferazione e la migrazione delle cellule endoteliali locali. Questo effetto paracrino, rappresenta un meccanismo indiretto attraverso cui le EPCs contribuiscono alla neovascolarizzazione. I fattori rilasciati dalle EPCs includono: VEGF, fattore di crescita epatocitario (HGF), angioproteina-1 (Ang-1), ossido nitrico sintetasi endoteliale (eNOS), ossido nitrico sintetasi inducibile (iNOS), SDF-1 α e il fattore di crescita insulin-like (IGF-1) (21-26).

VITAMINA D3

Nelle malattie reumatiche, diversi fattori potrebbero essere coinvolti nella modulazione del numero e attività delle cellule progenitrici, incluso l'aumentato stress ossidativo, l'infiammazione sistemica e anche l'angiogenesi locale dovuta alla infiammazione sinoviale (20,23,27). Recentemente, il recettore per la vitamina D è stato individuato nelle cellule CD34+(28). È stato visto che la vitamina D3 promuove la funzionalità delle cellule staminali formanti colonie endoteliali incrementando la proliferazione e la differenziazione cellulare, attraverso l'azione modulante di vari fattori come: fosfolipasi C, VEGF1 e 2, pro-MMP-2, con conseguente aumento della formazione di capillari, indicando quindi la presenza di un asse vitamina D-cellule CD34+ importante per l'omeostasi cardiovascolare (28,29).

Inoltre la vitamina D è stata proposta avere un ruolo protettivo nei confronti dello stress ossidativo che coinvolge le cellule staminali. E' dimostrato infatti, che le cellule CD34+ di pazienti con AR presentano aumentati livelli intracellulari di specie reattive dell'ossigeno ed uno squilibrio degli enzimi antiossidanti potrebbe spiegare in parte la loro riduzione in queste patologie (28-30). A conferma di ciò, pazienti con AR e alti livelli di vitamina D presentano un elevato numero di cellule CD34+ (29).

La vitamina D inoltre si associa in maniera indipendente alla presenza di eventi cardiovascolari e a disfunzione endoteliale, e una sua diminuzione si riscontra in diverse patologie infiammatorie (31-33). Bassi livelli di vitamina D si associano alla patogenesi delle patologie infiammatorie articolari in quanto la vitamina D inibendo la produzione di IL-2 e IL-6, blocca la trascrizione di interferone- γ e inibisce le cellule T citotossiche e l'attività delle cellule natural killer (NK) (31-33).

Inoltre, le cellule CD34+ circolanti e la vitamina D sono correlate nelle patologie reumatiche al rimodellamento ventricolare. Una lunga esposizione a bassi livelli di vitamina D si associa ad alterazioni cardiache morfologiche e funzionali. Il deficit di vitamina D influisce indirettamente sul rimodellamento ventricolare sia attraverso l'aumento del paratormone (PTH) conseguente alla diminuzione dello ione calcio con aumento della funzione paratiroidea, sia direttamente influenzando il metabolismo energetico, la flogosi e lo stress ossidativo delle cellule miocardiche (31-33). Modelli animali mostrano che la carenza di vitamina D si associa a ipertrofia miocardica e fibrosi comportando una alterazione della contrattilità e del rilascio cardiaco. La somministrazione di calcitriolo si è vista ridurre l'ipertrofia e la disfunzione miocardica, migliorando la funzione ventricolare. Inoltre la vitamina D riduce l'attivazione del sistema renina-angiotensina che contribuisce allo sviluppo dell'ipertensione e dell'ipertrofia cardiaca (33).

SCOPO DELO STUDIO

Nei pazienti con IJD privi di fattori di rischio cardiovascolari tradizionali non è ben noto se la disfunzione del miocardio può essere rilevata nelle fasi precoci della malattia. Inoltre, sino ad oggi, non sono state studiate le associazioni tra STE, le cellule CD34 e la vitamina D e la loro correlazione con il danno cardio vascolare, anche se i livelli di CD34 e di vitamina D sono stati trovati alterati nelle patologie reumatiche ed risultano essere correlati al rimodellamento ventricolare (26, 31-33).

Quindi, lo scopo di questo nostro studio è quello di (a) valutare la disfunzione subclinica miocardica, attraverso la STE, come markers di patologie cardiovascolari subcliniche in pazienti con IJD molto precoci e senza i tradizionali fattori di rischio cardiovascolare, (b) valutare l'associazione tra i markers della STE e l'attività di malattia, e (c) analizzare l'associazione tra disfunzione miocardica e livelli circolanti di cellule CD34+ e vitamina D.

MATERIALI E METODI

Tra Ottobre 2015 e Maggio 2018, 514 pazienti sono stati esaminati ambulatorialmente per la prima volta nel reparto di Reumatologia dell'Università degli Studi di Messina e sono stati sottoposti a screening clinici e strumentali.

Per essere selezionati per lo studio, i soggetti devono soddisfare i seguenti criteri:

(i) essere di nuova diagnosi, (ii) non essere esposti a trattamento con immunomodulanti, (iii) non presentare i tradizionali fattori di rischio cardiovascolare, e (iv) rientrare nei criteri classificativi per PsA e AR (34,35). Dopo l'applicazione dei criteri di inclusione ed esclusione, solo 35 soggetti con PsA e 41 con AR sono stati considerati eleggibili per questo studio.

Un gruppo di 58 soggetti sani, paragonabili per genere ed età, sono stati arruolati (institution-based recruitment) usando gli stessi criteri di inclusione e esclusione (dove applicabili), e sono stati studiati come gruppo controllo.

I pazienti durante gli appuntamenti sono stati sottoposti a esami clinici completi, incluso il calcolo del DAS28-PCR. Nei pazienti con PsA, le lesioni cutanee sono state esaminate e il Psoriasi Area Severity Index (PASI) è stato calcolato per definirne la severità (36). Il cut-off per una bassa attività di malattia è stato stabilito in 2.9 in accordo con la letteratura (37).

Alla prima valutazione clinica, i pazienti e il gruppo controllo sono stati sottoposti a prelievo di sangue venoso e ad esami strumentali. Estese analisi di laboratorio sono state effettuate presso il Laboratorio della Struttura, tutti i soggetti erano a digiuno da almeno 12 ore. I Lipidi plasmatici, glucosio, fibrinogeno, fattore reumatoide (FR) ed anticorpi anticitrullina (ACPA) sono stati determinati con i metodi di routine.

La PCR è stata determinata con metodica ELISA. Il livello della 25-idrossivitamina D3 (25-OH D) è stato misurato attraverso l'utilizzo della high-performance liquid chromatography (Bio-Rad).

CONTA DELLE CELLULE CD34+.

La citometria di flusso è stata utilizzata per la quantificazione della frequenza delle cellule CD34+ nel sangue periferico campionate come descritto in precedenza (29,30). In conformità alle raccomandazioni ISHAGE, 50µL di sangue periferico sono stati incubati con 10µL di anticorpi antiCD-34 umani PE-coniugati in tubi TRUCOUNT per 15 minuti. L'acquisizione del campione e le analisi sono state effettuate attraverso con citometro FACSCalibur usando il software CELLQuest. Le cellule non vitali sono state riconosciute ed escluse grazie alla colorazione 7-amino-actinomycin D (7-AAD; BD Pharmigen). Le cellule circolanti che hanno espresso l'antigene delle cellule staminali CD34 sono state definite come progenitori delle cellule emopoietiche CD34+, stimate e contate (cellule/µL) come precedentemente descritto tramite conta assoluta (29,30).

MISURA DEGLI INDICI DI cIMT E ARTERIAL STIFFNESS.

Le valutazioni della scansione carotidea all'ecoDoppler e l'arterial stiffness sono state effettuate usando la Vivid 3 E' stata utilizzata la macchina expert ultrasound , macchina dotata di sonda lineare multifrequenza (7-15 MHz linear array transducer, GE Healthcare) in accordo con le linee guida ESC/ESH (38). La misura della variabilità intraobserver/interobserver dello spessore carotideo medio intimale (cIMT) e della pulse wave velocity (PWV) sono state rispettivamente 1.13/3.51% e 1.23/3.86%.

STUDIO ECOCARDIOGRAFICO

L'esame ecocardiografico è stato effettuato utilizzando la VIVID-7 ultrasound machine (GE Vingmed Ultrasound) dotata di trasduttore settoriale multifrequenza (phased-array) e archiviato su work-station dedicata (EchoPAC, version 8.0.0) per le analisi off-line. Tutte le misurazioni (LV, E/A ratio, LVMI e massa LV) sono state effettuate in accordo con le raccomandazioni della Società Americana di Ecocardiografia, mediamente su tre cicli cardiaci (38,39). L'analisi della funzione sistolica, e la deformazione miocardica è stata indagata attraverso lo speckle tracking echocardiography con valutazione della deformazione globale , della sezione longitudinale (GLS) e circonferenziale (GCS), come descritto in precedenza (39). Le metodiche di imaging funzionale sono state eseguite lungo l'asse apicale, con visioni a 2 e 4 camere seguendo, su uno schermo guidato, la progressione del lavoro. I risultati sono stati presentati come un bull's-eye display mostrando valori codice-colore e numeri per il picco sistolico in GLS e GCS. È stato impiegato un frame-rate >70 fotogrammi. Le analisi dello strain sono state effettuate offline mediante l'utilizzo di Echopac. Il margine endocardico è stato manualmente tracciato dalle proiezioni apicali, ottenendo automaticamente il calcolo della regione di interesse compresa tra lo strato endocardico ed epicardico. La qualità della rilevazione è stata verificata per ciascun segmento e le immagini di bassa qualità sono state escluse. Le valutazioni globali della deformazione longitudinale da ciascuna visione apicale sono state calcolate attraverso analisi di imaging funzionale. La distorsione del LV è stata definita attraverso la differenza (in gradi) tra la rotazione apicale e basale ai medesimi punti temporali. La variabilità intraobserver/interobserver misurata per GLS e GCS è stata rispettivamente 0.90/3.49% e 1.78/5.97% (39).

ANALISI STATISTICA

Le variabili sono state riassunte come media di \pm deviazioni standard o n(%). La normalità delle variabili è stata controllata con il test di Kolmogorov-Smirnov; e test non parametrici (Mann-Whitney U e Kruskal-Wallis tests) sono stati usati per analizzare le differenze tra i gruppi. Le correlazioni sono state valutate tramite Spearman's test. Le analisi di regressione multivariata sono state eseguite per valutare il contributo di covariate differenti e indipendenti sulle variabili dipendenti. Le variabili non normali sono state log-trasformate prima di essere incluse nei modelli. La Principal Component Analysis (PCA) è stata eseguita come approccio integrativo per evitare ciascun potenziale bias di colinearità e per preservare il massimo della varianza dalle variabili demografiche, cliniche e tradizionali rischio-correlate. I coefficienti di correlazione intraclassa (ICC) sono stati calcolati per valutare ulteriormente la riproducibilità dei parametri di imaging creati da differenti osservatori. La $p < 0.05$ è stata usata per indicare la significatività statistica. I pacchetti statistici SPSS 17.0 and R v. 3.3.1 sono stati usati per eseguire le analisi statistiche.

RISULTATI

PATOLOGIA CARDIOVASCOLARE SUBCLINICA E DISFUNZIONE MIOCARDICA IN RA E PsA PRECOCE.

Le caratteristiche dei soggetti reclutati per questi studi sono riassunte nella Tabella 1. Non sono state osservate differenze di età ($p=0.170$), sesso ($p=0.130$) o BMI ($p=0.787$) tra i gruppi di studio. Nonostante leggere differenze di colesterolo HDL nell' AR, il rapporto colesterolo totale/colesterolo HDL (indice di aterogenesi) non presentava differenze tra i gruppi e tutti gli individui erano esenti dai tradizionali fattori di rischio cardiovascolare (ipercolesterolemia-dislipidemia, ipertensione, diabete, vizio del fumo e obesità). Similmente, non sono state notate differenze nei livelli di creatinina e nella valutazione del filtrato glomerulare. Infine, sia i pazienti con PsA che quelli con AR che sono stati reclutati all'inizio non sono stati esposti ad alcuna terapia al momento del campionamento.

I valori di cIMT sono stati trovati aumentati nei pazienti con Artrite Reumatoide (Table1): 25 pazienti con RA (60.9%) mostravano un cIMT >0.90 mm, comparato ai 4 (11.4%) e agli 8 (13.7%) pazienti rispettivamente con PsA e del gruppo controllo ($p<0.0001$). Inoltre la PWV è stata trovata alterata in entrambi i pazienti con PsA e AR (Tabella 1). In aggiunta, la PWV è risultata correlata al DAS28 ($r=0.322$, $p=0.055$), PCR ($r=0.446$, $p=0.007$) e BASDAI ($r=0.340$, $p=0.049$) nei pazienti con PsA. Allo stesso modo, è stato trovato una correlazione nel gruppo di pazienti con AR, con DAS28 ($r=0.371$, $p=0.017$), VES ($r=0.456$, $p=0.003$), PCR ($r=0.384$, $p=0.013$) e con la durata dei sintomi ($r=0.337$, $p=0.036$).

Infine i pazienti con AR esibivano una significativa alterazione del GLS e del GCS comparati con il gruppo controllo (HC), mentre il GLS era alterato anche nei pazienti con PsA. Inoltre è importante notare che il DAS28 risultava positivamente correlato nei pazienti con AR, al GLS ($r=0.908$, $p<0.001$) e al GCS ($r=0.868$, $p<0.001$). Una

simile associazione è risultata anche con VES, PCR e fibrinogeno (dati non mostrati). Si nota, inoltre, che il GCS non era significativamente diverso nei pazienti con PsA comparato a quello del gruppo controllo, ma una correlazione positiva è stata osservata con il DAS28 ($r=0.438$, $p=0.008$). In particolare gli esami ecocardiografici standard non mostravano differenze nel diametro, volume, spessore parietale e frazione di eiezione del ventricolo sinistro (LV) tra i soggetti (Tabella 1). Complessivamente, tutti questi risultati confermano un incremento della prevalenza di patologie cardiovascolari subcliniche e disfunzione miocardica nelle prime fasi delle patologie infiammatorie croniche articolari in assenza di evidenti fattori di rischio cardiovascolare tradizionali. I markers surrogati di patologia cardiovascolare subclinica e di disfunzione miocardica sono fortemente associati con il carico infiammatorio, ciò suggerisce il ruolo dell'infiammazione in questo scenario.

DISFUNZIONE MIOCARDICA SUBCLINICA: RUOLO DELLE CARATTERISTICHE DI MALATTIA.

Ulteriori analisi sono state condotte per valutare l'associazione tra disfunzione miocardica subclinica e caratteristiche di malattia nei pazienti con PsA e AR.

Dati i risultati precedenti in base all'attività della malattia, i pazienti con PsA sono stati riclassificati a bassa ($DAS28 < 2.9$) o alta ($DAS28 > 2.9$) attività di malattia (Tabella 2). Un'alta attività di malattia si associa ad alterato GCS e PWV. Inoltre è stata riscontrata anche un'alterazione del GLS. I pazienti con artrite psoriasica (PsA) ad alta attività di malattia mostrano differenze nel GCS, GLS e PWV quando comparati al gruppo HC, ma queste differenze non si osservano nella controparte di patologia a bassa attività. È interessante notare che il GLS è stato identificato come fattore predittivo di ispessimento medio-intimale nei pazienti con PsA (B[95% CI],

$p: 0.019 [0.002, 0.035], p=0.027$) dopo correzione per età, BMI, attività di malattia, parametri infiammatori (VES, PCR and fibrinogeno), PWV e vitamina D.

Risultati analoghi sono stati ottenuti quando i pazienti con AR sono stati stratificati secondo l'attività di malattia. L'associazione tra l'attività di malattia e la disfunzione miocardica subclinica è stata analizzata, nei pazienti con AR, attraverso analisi di regressione multivariata. È interessante notare che il DAS28 è stato individuato come unico predittore di GLS e GCS nei pazienti con AR, anche dopo l'adattamento per potenziali fattori confondenti (Tabella 3). Quindi, in modo da evitare ogni potenziale bias di colinearità tra le caratteristiche analizzate, il PCA è stato condotto includendo età, BMI, DAS28, PCR, VES, fibrinogeno, colesterolo totale HDL e LDL, PAS, PAD e durata dei sintomi (Tabella 4). Il PCA ha rivelato una buona adeguatezza dei dati ($KMO = 0.523$, Barlett sphericity test $p=2.03.10^{-26}$) e 4 componenti sono state ottenute, esprimendo il 69.2% della varianza totale. Le variabili incluse in ogni componente sono: componente 1 (DAS28, PCR, VES e fibrinogeno), componente 2 (età, BMI, colesterolo totale e LDL), componente 3 (PAS e PAD) e componente 4 (colesterolo HDL e durata dei sintomi). Dunque, è stata raggiunta una buona separazione tra fattori malattia correlati e gli altri tradizionali fattori di rischio. Infine, l'associazione tra queste componenti e la disfunzione miocardica è stata studiata attraverso le analisi di regressione multivariata. È interessante notare che, solo le variabili patologia correlate (componente 1) sono state predittrici del GLS e GCS nei pazienti con artrite reumatoide, ciò conferma le nostre precedenti previsioni.

Tutti questi risultati rinforzano l'importanza del carico infiammatorio nell'alterazione subclinica della funzione miocardica nelle patologie infiammatorie articolari, già nei primi precoci stadi di queste patologie. In aggiunta alla forte associazione osservata

nell'artrite reumatoide, dove GLS e GCS risultano notevolmente alterate, un chiaro collegamento è stato inoltre trovato con i pazienti che presentano PsA ad alta attività di malattia. Inoltre, in questi pazienti, il GLS si trova in associazione con aumento dello spessore medio intimale carotideo. Complessivamente, i nostri risultati indicano chiaramente che l'attività di malattia è il motore dell'alterazione rilevata alla STE nelle IJD, indipendentemente dalla diagnosi clinica.

*ALTERAZIONE DELLE CELLULE PROGENITRICI CD34+ E VITAMINA D:
ASSOCIAZIONE CON LA DISFUNZIONE SUBCLINICA MIOCARDICA.*

In fine, abbiamo studiato se l'alterazione delle cellule progenitrici CD34+ o la vitamina D possano essere alla base della disfunzione miocardica endoteliale nelle patologie infiammatorie articolari.

La vitamina D si associava negativamente al cIMT nel gruppo controllo ($r=-0.308$, $p=0.026$) ma non nei pazienti con IJD, dove si riscontra un suo decremento (Tabella 1), ciò indica una correlazione tra vitamina D e aterosclerosi subclinica. Questa correlazione è stata anche osservata nei pazienti con PsA con una bassa attività di malattia ($\text{DAS28}<2.9$) ($r=-0.636$, $p=0.035$), ma non in quelli con alta attività ($r=0.185$, $p=0.387$).

Inoltre, i livelli della vitamina D e del DAS28 sono fattori predittivi indipendenti dalle cellule CD34+ nei pazienti con PsA, mentre la vitamina D e la durata dei sintomi lo sono per i pazienti con artrite reumatoide (Tabella 5). Le cellule CD34+ circolanti risultavano diminuite nei pazienti con AR (Tabella 1), ed è stata rilevata una correlazione negativa con i parametri della STE.

Tutti questi risultati suggeriscono che i livelli di vitamina D sono indipendentemente associati alle patologie infiammatorie articolari, indipendentemente dal livello delle cellule CD34+ circolanti.

DISCUSSIONE

Le patologie reumatiche croniche, come artrite reumatoide e artrite psoriasica, sono associate ad un'accelerata aterosclerosi e disfunzione endoteliale (40), alterazioni queste che si verificano precocemente all'esordio della patologia e non del tutto giustificati dai soli tradizionali fattori di rischio cardiovascolare, ma anche dovute all'inflammatione cronica (41). Nel presente studio abbiamo dimostrato l'associazione tra l'attività della malattia e i bio-markers di funzionalità endoteliale, l'aterosclerosi e la funzione miocardica subclinica, nei pazienti con artrite psoriasica e artrite reumatoide durante le fasi precoci della malattia. Queste alterazioni risultano collegate al carico infiammatorio e, l'attività di malattia rappresenta il principale fattore predittivo per la disfunzione miocardica indipendentemente dalla diagnosi della malattia. Soprattutto, si sono trovati alterati in entrambe le condizioni, i livelli delle cellule CD34+ e di vitamina D. Complessivamente, i nostri risultati confermano chiaramente il ruolo svolto dal carico infiammatorio sia nell'alterazione subclinica endoteliale che miocardica, da qui il razionale per l'utilizzo della STE nella valutazione del rischio cardiovascolare nelle patologie infiammatorie articolari. Il risultato più interessante, che viene fuori dal nostro studio, è la presenza dell'alterazione della funzionalità miocardica in pazienti con PsA e AR, riscontrabile nelle fasi precoci della patologia. Questi risultati suggeriscono che i pazienti con IJD presentano non solo un'accelerato sviluppo aterosclerotico dei vasi periferici, ma anche una disfunzione cardiaca già presente all'inizio della patologia. Sebbene molti autori abbiano già precedentemente riportato una riduzione della deformazione miocardica ventricolare sinistra nei pazienti con AR (16,42,43) molti di questi studi sono stati condotti su pazienti con una patologia di lunga data e con incremento della prevalenza dei tradizionali fattori di rischio cardiovascolare. Midtbø e colleghi

riportano un' alterata funzione miocardica nei pazienti con artrite reumatoide rispetto al controllo, ma l'artrite reumatoide in fase attiva era stata correlata ad una maggiore prevalenza di ipertensione e diabete confrontata con pazienti in remissione e pazienti controllo (44). E' probabile, quindi, che l'alterazione del GLS in pazienti con AR e PsA attive in quegli studi, possa essere una conseguenza del danno miocardico accumulato a causa dei tradizionali fattori di rischio. Dunque, i nostri risultati espandono le attuali conoscenze sulla disfunzione miocardica nelle IJD confermandone il suo precoce sviluppo indipendentemente dalla durata della malattia, dai tradizionali fattori di rischio cardiovascolare e dal trattamento effettuato. Inoltre, abbiamo osservato per la prima volta che pazienti con uno stato infiammatorio molto pronunciato valutato attraverso PCR, VES e fibrinogeno, e principalmente con patologia allo stato attivo, presentavano forti alterazioni della funzione miocardica indipendentemente dalla presenza delle patologie infiammatorie articolari (AR e PsA); suggerendo il ruolo svolto dall'infiammazione come principale veicolo di disfunzione miocardica. E' interessante notare che, altri studi hanno mostrato un'associazione tra l'esposizione a differenti farmaci immunomodulanti e il miglioramento dei markers di deformazione del miocardio ventricolare sinistro (16,42,43)

L'attività di malattia si associa al GLS e GCS nei pazienti con AR e PsA in analisi univariate e multivariate, ciò conferma il ruolo cruciale del carico infiammatorio nello sviluppo di tali alterazioni funzionali. Questa idea è in linea con l'effetto protettivo rappresentato dal basso stato infiammatorio, che in queste condizioni riduce il carico di rischio cardiovascolare (45). Infatti, Solomon e colleghi hanno rivelato che una cronica ed elevata attività di malattia, si associa nell' AR allo sviluppo di patologie cardiovascolari (46). E' interessante notare che, nonostante la

paragonabile esposizione alla durata dei sintomi, una alterazione endoteliale e della funzione miocardica è stata riscontrata nei pazienti con AR rispetto a quelli con PsA. Inoltre, la durata dei sintomi è essa stessa associata con la PWV e la conta delle CD34+ nell'AR, ma non nell'artrite psoriasica. Complessivamente, i nostri risultati sono in linea con un aumento del carico infiammatorio presente maggiormente nell'AR rispetto all'PsA. La rilevanza del carico infiammatorio nell'artrite psoriasica non deve essere sottostimato. Sebbene un basso rischio cardiovascolare è attribuibile a questa condizione rispetto alle altre patologie infiammatorie articolari (9,47), si è riscontrato comunque un sostanziale incremento del rischio comparandola alla popolazione generale. Attualmente, i pazienti con PsA ad alta attività di malattia esibiscono, se comparati al gruppo controllo, un'alterazione della PWV e della disfunzione miocardica. E' da notare che il GLS è stato individuato come fattore predittivo dello spessore medio-intimale carotideo nei pazienti con PsA, in linea con i precedenti studi sulla psoriasi (48). Così come anche l'arterial stiffness e i parametri della STE sono markers funzionali surrogati di rischio cardiovascolare, e le loro alterazioni sono probabilmente reversibili. Tenendo in conto l'associazione tra la disfunzione miocardica e l'attività di malattia, un appropriato controllo del carico infiammatorio è consigliabile nei pazienti con IJD. Questo è rilevante soprattutto nelle fasi precoci della patologia, in linea con il concetto di "window of opportunity". Presi insieme i nostri risultati supportano il bisogno di un immediato e effettivo controllo dell'attività di malattia per la prevenzione delle patologie cardiovascolari nelle IJD.

E' degno di nota che tra i parametri della STE, il GLS era alterato sia nell' AR che nell' PsA, mentre il GCS lo era solo nell'AR. E' da notare inoltre che il GLS è stato riportato essere un marker più sensibile rispetto alla deformazione circonferenziale e

radiale (49). Riguardo ai tratti patologici, le fibre subendocardiche del miocardio (orientate longitudinalmente e quindi responsabili della contrazione longitudinale) sono interessate precocemente rispetto alle fibre subepicardiche (questo spiega il minore coinvolgimento della deformazione circonferenziale e radiale). Dunque, un'inflammatione sistemica pronunciata nei pazienti con AR, può spiegare l'alterazione di entrambi i parametri STE comparati alla controparte con PsA. Stessi risultati si sono osservati quando i pazienti con artrite psoriasica sono stati classificati in base all'attività di malattia. Questi risultati rinforzano le nostre precedenti conclusioni sul carico infiammatorio e la disfunzione miocardica. Il chiarimento su quale sia il miglior marker di deformazione miocardica del ventricolo sinistro in accordo con la progressione delle IJD giustifica ulteriori studi. I nostri risultati accentuano il bisogno di un appropriato monitoraggio dell'attività della patologia, e della disfunzione miocardica nei pazienti con IJD e, presumibilmente, anche in altre condizioni infiammatorie. Recentemente, altri autori riportano che le alterazioni subcliniche miocardiche possano essere presenti anche in altre patologie autoimmuni reumatiche come la sarcoidosi (50,51). Sebbene siano state proposte numerose tecniche per la valutazione e il monitoraggio del rischio cardiovascolare (40,52,53), molte di queste sono focalizzate sulla disfunzione endoteliale e l'aterosclerosi, mentre la funzionalità miocardica non ha ricevuto la dovuta attenzione. Nonostante i recenti progressi nel management del rischio cardiovascolare, ci sono ancora considerevoli margini di miglioramento, ciò supporta la necessità di ulteriori strumenti di indagine.

Attualmente, l'agenda di ricerca delle ultime raccomandazioni EULAR per il management del rischio cardiovascolare nelle IJD, propone lo studio delle anomalie cardiache così come l'inclusione di bio-markers addizionali di rischio

cardiovascolare come supporto al quadro clinico (45). Tenendo presenti tutti questi concetti, le immagini della deformazione ventricolare alla STE possono essere proposte come promettente strumento per supportare una clinica insoddisfacente. Le immagini della deformazione si sono mostrate essere una preziosa opportunità non invasiva per identificare patologie cardiovascolari subcliniche (54,55), essendo capaci di rilevare una discreta disfunzione del miocardio ventricolare sinistro in modo oggettivo e angolo indipendente. Infatti, abbiamo riportato in precedenza che la STE è utile nell'identificare molto precocemente variazioni della meccanica cardiaca nei pazienti ipertesi prima dello sviluppo dell'ipertrofia (39) in modo tale da rafforzare la sua applicabilità per una precoce valutazione e stratificazione dei pazienti.

Infine, è stato analizzato il ruolo delle cellule CD34+ e della Vitamina D come biomarkers. E' interessante notare che la Vitamina D è un fattore predittivo del livello delle cellule CD34+ circolanti nei pazienti con IJD perfino dopo modifica dell'attività di malattia, ciò suggerisce che i livelli di vitamina D possono rappresentare un marker surrogato di alterazione del livello delle cellule CD34+. I nostri risultati pongono la questione su come la supplementazione della vitamina D possa contrastare gli effetti dannosi attività mediata della malattia sulle cellule CD34+ e sulla funzionalità miocardica. La flogosi cronica conduce allo stress ossidativo, alla disfunzione dei miociti e all'incremento dell'attività fibroblastica causando deposito di collagene a livello miocardico e fibrosi interstiziale (56,57), ciò ostacola la contrazione miocardica (58). Inoltre, la carenza di vitamina D è stata correlata con il rimodellamento cardiaco (59) e l'ipertrofia del ventricolo sinistro (60).

Dato che i pathway infiammatori e lo stress ossidativo sembrano stare alla base della disfunzione miocardica, prendendo in considerazione gli effetti della vitamina D sul rimodellamento tissutale (61) e sui pathway anti infiammatori e anti ossidativi (62,63) i potenziali effetti benefici della vitamina D sulla disfunzione miocardica giustificano futuri studi.

In conclusione, i risultati qui presentati espandono le conoscenze attuali circa le alterazioni subcliniche cardiovascolari nelle IJD. Al meglio delle nostre conoscenze, questo è il primo studio dove le alterazioni del miocardio sono analizzate nei pazienti con IJD molto precocemente, il che rappresenta il punto di forza del nostro studio. Anche se un certo numero di studi ha già precedentemente descritto l'incremento della prevalenza dell'aterosclerosi e della disfunzione endoteliale, i nostri risultati vanno oltre, riportando la presenza di alterazioni della deformazione miocardica del ventricolo sinistro nei pazienti con IJD a prescindere dalla diagnosi di malattia. Inoltre, questi risultati si basano su pazienti di mezza età con patologia allo stato iniziale e con funzione ventricolare sinistra conservata, in assenza dei tradizionali fattori di rischio cardiovascolari e connessi all'attività di malattia. I nostri pazienti non essendo stati esposti a nessun DMARD durante il reclutamento, ci permettono di escludere dai nostri risultati potenziali effetti confondenti farmaco correlati. Lo studio presenta anche limitazioni. In primo luogo, anche se sono stati usati criteri rigorosi per controllare i tradizionali fattori di rischio cardiovascolare, fattori che incidono sullo stile di vita come la dieta (64) o l'attività fisica non sono stati valutati. Comunque non ci sono forti evidenze nella letteratura attuale, che mostrino come questi fattori possano essere considerati potenziali bias per la STE. Secondo, data la cross-sectional del nostro progetto, i risultati necessitano di conferma in studi prospettici di follow-up per valutare la rilevanza clinica dell'alterazione subclinica

miocardica nei pazienti con IJD. Terzo, sebbene i nostri dati supportino una buona affidabilità e riproducibilità della valutazione alla STE, una certa variabilità può essere prevista per comparazioni multi-centriche (65). Quindi, la standardizzazione delle immagini processate e gli algoritmi di analisi così come la convalida di determinati valori cut-off, è necessaria per guidarne in futuro il loro utilizzo clinico di routine.

TABELLE

Tabella 1 Caratteristiche dei soggetti reclutati nel seguente studio.

	HC (n = 58)	PsA (n = 35)	RA (n = 41)	p*	p (Dunn - Bonferroni)		
					C vs PsA	C vs RA	PsA vs RA
Età, media (range)	45 (24 - 66)	45 (23 - 59)	46 (32 - 62)	ns			
Sesso, f/m	35/23	26/9	32/9	ns			
Fattori di rischio cardiovascolare							
BMI, kg/m ²	24.79 ± 2.73	24.70 ± 2.61	25.15 ± 3.71	ns			
Colesterolo totale, mg/dl	181.84 ± 20.88	185.00 ± 22.84	198.05 ± 36.43	ns			
Colesterolo HDL, mg/dl	50.41 ± 9.91	58.00 ± 19.81	58.00 ± 12.87	0.020	0.070	0.021	1.000
Colesterolo LDL, mg/dl	114.00 ± 20.88	106.29 ± 34.94	116.56 ± 35.53	ns			
Rapporto Colesterolo totale/Colesterolo HDL	3.73 ± 0.80	3.12 ± 0.89	3.62 ± 0.85	ns			
Glicemia, mg/dl	88.00 ± 7.04	89.50 ± 10.76	89.00 ± 14.09	ns			
Creatinina, mg/dl	0.66 ± 0.14	0.71 ± 0.16	0.65 ± 0.16	ns			
PAS,mm	122.09 ± 8.85	120.50 ± 11.34	124.27 ± 10.03	ns			
PAD,mm	70.06 ± 6.29	72.00 ± 8.64	74.15 ± 10.94	ns			
Conta cellulare CD34+, cell/μl	2.35 ± 1.14	2.12 ± 0.80	1.58 ± 0.58	<0.001	0.380	0.002	0.024
Caratteristiche cliniche							
DAS28		3.33 ± 0.55	3.61±0.88	ns			
Durata dei sintomi, mesi		9.37 ± 7.75	6.43±6.00	ns			
Fibrinogeno, mg/dl	264.56 ± 50.88	297.26 ± 72.61	321.76±58.91	<0.001	0.068	<0.001	0.343
Vitamina D, mg/dl	31.75 ± 5.05	23.53 ± 4.84	23.68±6.42	<0.001	<0.001	<0.001	0.699
PCR, mg/dl	0.34 ± 0.16	0.50 ± 0.50	0.95±1.18	0.049	1.000	0.011	0.167
VES, mm		25.06 ± 10.60	27.02±20.40	ns			
HAQ (0 – 3)		0.52 ± 0.61	1.15±0.64	<0.001			
VAS(0 – 100)		48.82 ± 15.12	59.42±18.01	0.034			
RF, UI/ml		7.6 ± 2.9	100±100.4	<0.001			
ACPA, n (%)			20(49.0)				
BASDAI		1.76 ± 2.14					
PASI		0.91 ± 1.31					
CVD subcliniche e parametri di disfunzione miocardica							
cIMT, mm	0.79±0.18	0.82±0.19	0.98±0.16	<0.001	1.000	<0.001	<0.001
PWV, m/s	5.11±0.83	6.42±1.39	7.91±1.93	<0.001	<0.001	<0.001	0.009
GLS, %	-23.25±1.80	-21.57±2.59	-18.13±1.36	<0.001	0.020	<0.001	<0.001
GCS, %	-24.50±1.70	-24.97±2.50	-20.15±1.34	<0.001	1.000	<0.001	<0.001
Valutazione Ecocardiografica							
Setto, mm	10.20 ± 1.00	10.20 ± 1.76	11.20 ± 1.90	ns			
Indice di massa VS	77.40±12.00	77.80 ± 15.50	82.90 ± 10.70	ns			
Spessore parete posteriore,mm	9.00±1.20	8.90±1.70	8.70±1.50	ns			
LV DD, mm							
LV ESD, mm	50±6.75	52.71±3.5	50.6±2.8	ns			
E/A	36.20±2.20	37.00±5.24	35.6±3.90	ns			
FE%	1.10±0.34	1.25±0.10	1.20±0.29	ns			
	62.88±3.30	61.9±4.79	60.0±4.47	ns			

Le variabili sono state riassunte come ± deviazioni standard o n (%). Le differenze sono state valutate, in maniera appropriata attraverso i test Kruskal-Wallis (con la correzione Dunn's Bonferroni per i molteplici test di comparazione), x² o test di Mann-Whitney U.

#p-values: il p-values ottenuto nel Kruskal-Wallis, nell' x² o nel Mann-Whitney test, dipende dalla distribuzione delle variabili e dai gruppi inclusi nelle analisi. Quando dal Kruskal-Wallis test si ottiene un p-value <0.050, vengono eseguiti molteplici test di comparazione e i p-values sono indicati nell'ultima colonna.

BMI: indice massa corporea, PAS: pressione arteriosa sistolica, PAD: pressione arteriosa diastolica, TC: colesterolo totale, HDL: colesterolo-lipoproteine ad alta densità, LDL: colesterolo-lipoproteine a bassa densità, PCR: proteina C-reattiva, GLS: deformazione globale longitudinale, GCS: deformazione globale circonferenziale, PWV: velocità dell'onda pulsatile, cIMT: spessore carotideo medio-intimale, DAS28: score dell'attività di malattia, HAQ: questionario di valutazione salute, VAS: scala visiva analogica, PASI: Psoriasis area severity index, LV: ventricolo sinistro, EDD: diametro di fine diastole, LVEDD: diametro di fine diastole ventricolare sinistro, LVESD: diametro di fine sistole ventricolare sinistro, ns: non significativo.

Tabella 2 . Caratteristiche dei pazienti con PsA classificati in base allo stato di attività di malattia

	DAS28\leq2.9	DAS28$>$2.9	p
Età	45.91 \pm 7.13	42.71 \pm 9.84	0.409
Genere, f/m	8/3	18/6	0.636
Parametri correlati al rischio cardiovascolare			
BMI	24.58 \pm 1.68	24.61 \pm 2.98	0.875
Colesterolo totale	178.00 \pm 25.71	180.76 \pm 22.35	0.804
Colesterolo HDL	55.17 \pm 8.05	59.00 \pm 22.63	0.455
Colesterolo LDL	104.00 \pm 33.55	93.27 \pm 3.95	0.423
Rapporto colesterolo totale/HDL	3.32 \pm 0.84	3.04 \pm 0.92	0.494
Glucosio	91.00 \pm 12.11	86.00 \pm 10.14	0.336
Creatinina	0.68 \pm 0.18	0.72 \pm 0.16	0.451
PAS	112.00 \pm 10.36	123.33 \pm 10.46	0.066
PAD	69.00 \pm 11.42	73.00 \pm 7.74	0.497
Caratteristiche cliniche			
Durata dei sintomi	6.90 \pm 3.08	9.00 \pm 8.9	0.174
Fibrinogeno	252.00 \pm 43.90	318.00 \pm 74.37	0.008
PCR	0.21 \pm 0.14	0.45 \pm 0.56	0.016
VES	17.91 \pm 6.48	28.33 \pm 10.60	0.002
HAQ	0.22 \pm 0.37	0.66 \pm 0.61	0.038
BASDAI	0.79 \pm 1.76	2.19 \pm 2.17	0.098
PASI	1.49 \pm 1.53	0.72 \pm 1.14	0.123
Parametri subclinici di patologie cardiovascolari			
cIMT	0.80 \pm 0.14	0.84 \pm 0.34	0.612
PWV	5.50 \pm 1.24	6.85 \pm 1.27	0.005
GLS	-22.35 \pm 1.98	-21.04 \pm 2.85	0.066
GCS	-27.00 \pm 15.74	-24.30 \pm 2.37	0.007

Differenze tra pazienti con artrite psoriasi a bassa ed alta attività di malattia valutata attraverso i test: Mann Withney U e χ^2 . Le variabili con differenze significative sono evidenziate in grassetto.

Tabella 3. Analisi regressione multivariata dei parametri di disfunzione miocardica nell'artrite reumatoide

		B	95%CI	P
GLS	Età	0.033	-0.006,0.071	0.091
	BMI	0.021	-0.069,0.112	0.631
	PCR	0.142	-0.095,0.379	0.229
	VES	0.005	-0.013,0.022	0.580
	DAS28	8.075	4.439,11.710	<0.0001
	PAS	0.011	-0.035,0.057	0.628
	PAD	0.008	-0.031,0.048	0.672
	VitaminaD	-0.711	-3.150,1.727	0.554
	Cellule CD34 ⁺	0.425	-1.298,2.148	0.617
	Durata dei sintomi	-0.138	-0.965,0.689	0.735
GCS	Età	0.015	-0.029,0.060	0.486
	BMI	-0.007	-0.112,0.097	0.889
	PCR	0.105	-0.169,0.379	0.440
	VES	0.015	-0.005,0.036	0.131
	DAS28	7.214	3.013,11.415	0.002
	PAS	0.030	-0.023,0.083	0.260
	PAD	-0.019	-0.064,0.027	0.409
	Vitamina D	-1.860	4.678,0.959	0.187
	Cellule CD34 ⁺	0.742	-1.249,2.733	0.451
	Durata dei sintomi	0.072	-0.883,1.028	0.878

Analisi di regressione lineare multipla del GLS o del GCS come variabili indipendenti in pazienti con artrite reumatoide. Le variabili che sembrano essere predittori significativi sono evidenziate in grassetto.

Tabella 4. Analisi di regressione multivariata dei componenti PCA nel GLS e GCS in pazienti con AR.

		B	95% CI	P
GLS	Componente 1	0.989	0.713,1.265	<0.0001
	Componente 2	-0.021	-0.304,0.261	0.878
	Componente 3	-0.262	-0.560,0.036	0.083
	Componente 4	0.118	-0.190,0.426	0.442
GCS	Componente 1	1.067	0.812,1.323	<0.0001
	Componente 2	-0.002	-0.263,0.260	0.988
	Componente 3	-0.175	-0.451,0.100	0.205
	Componente 4	0.160	-0.125,0.445	0.261

Analisi di regressione lineare multipla del GLS o del GCS come variabili dipendenti in pazienti con artrite reumatoide. Le variabili che sembrano essere predittori significativi sono evidenziate in grassetto.

Tabella 5. Analisi di regressione multivariata della frequenza delle cellule CD34⁺ nella artrite psoriasica e nell'artrite reumatoide.

		B	95% CI	p
PsA	Età	- 0.002	-0.010,0.006	0.613
	BMI	0.009	-0.017,0.035	0.491
	PCR	0.154	-0.045,0.352	0.124
	VED	- 0.001	-0.010,0.009	0.905
	DAS28	- 0.152	-0.307,-0.001	0.050
	cIMT	- 0.079	-0.674,0.517	0.788
	PWV	0.002	-0.043,0.048	0.920
	Vitamina D	0.019	0.005,0.033	0.009
	Durata dei sintomi	- 0.003	-0.011,0.006	0.512
RA	Età	0.001	-0.007,0.008	0.911
	BMI	- 0.003	-0.022,0.016	0.734
	PCR	- 0.015	-0.064,0.033	0.520
	VES	- 0.001	-0.004,0.003	0.520
	DAS28	0.011	-0.075,0.097	0.792
	cIMT	- 0.258	-0.983,0.467	0.472
	PWV	- 0.029	-0.065,0.007	0.105
	Vitamina D	0.010	0.001,0.019	0.028
	Durata dei sintomi	0.016	0.004,0.028	0.010

Le analisi di regressione multivariata includono la frequenza delle cellule CD34⁺ come una variabile dipendente. Le variabili trovate come importanti fattori predittivi sono evidenziate in grassetto.

BIBLIOGRAFIA

1. Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2016 Oct 22;388(10055):2023-2038. doi: 10.1016/S0140-6736(16)30173-8
2. Sudoł-Szopińska I, Jans L, Teh J. Rheumatoid arthritis: what do MRI and ultrasound show. *J Ultrason*. 2017 Mar;17(68):5-16.
3. Paulshus Sundlisæter N, Aga AB, Olsen IC and et al. Clinical and ultrasound remission after 6 months of treat-to-target therapy in early rheumatoid arthritis: associations to future good radiographic and physical outcomes. *Ann Rheum Dis*. 2018 Jun 22. pii: annrheumdis-2017-212830.
4. Ritchlin CT, Colbert RA, Gladman DD. Psoriatic arthritis. *N Engl J Med*. 2017 Mar 9;376(10):957-970
5. Veale DJ, Fearon U. The pathogenesis of psoriatic arthritis. *Lancet*. 2018 Jun 2;391(10136):2273-2284.
6. Østergaard M, Eder L, Christiansen SN, Kaeley GS. Imaging in the diagnosis and management of peripheral psoriatic arthritis-The clinical utility of magnetic resonance imaging and ultrasonography. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2016 Aug;30(4):624-637.
7. Taylor W, Gladman D, Helliwell P, et al. Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from a large international study. *Arthritis Rheum*. 2006 Aug;54(8):2665-73.
8. Han, C., et al., Cardiovascular disease and risk factors in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis. *J Rheumatol*, 2006. 33(11): p. 2167-72.
9. Jamnitski, A., et al., Cardiovascular comorbidities in patients with psoriatic arthritis: a systematic review. *Ann Rheum Dis*, 2013. 72(2): p. 211-6.
10. Bartoloni, E., Y. Shoenfeld, and R. Gerli, Inflammatory and autoimmune mechanisms in the induction of atherosclerotic damage in systemic rheumatic diseases: two faces of the same coin. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2011. 63(2): p. 178-83.
11. I.D. del Rincón, K.W., M.P. Stern, G.L. Freeman, A. Escalante, High incidence of cardiovascular events in a rheumatoid arthritis cohort not explained by traditional cardiac risk factors. *Arthritis Rheum.*, 2001 Dec.
12. C. Contessa, R.R., A. Lo Nigro, V. Modesti, M. Lorenzin, M. Puato, and G.B. M. Zanon, A. Doria, L. Punzi., Subclinical atherosclerosis in patients with psoriatic arthritis:a case-control study. Preliminary data. *Reumatismo*, 2009.
13. Ramonda, R., et al., Atherosclerosis in psoriatic arthritis. *Autoimmun Rev*, 2011. 10(12): p. 773-8.
14. Mondillo, S., et al., Speckle-tracking echocardiography: a new technique for assessing myocardial function. *J Ultrasound Med*, 2011. 30(1): p. 71-83
15. Langeland, S., et al., Experimental validation of a new ultrasound method for the simultaneous assessment of radial and longitudinal myocardial deformation independent of insonation angle. *Circulation*, 2005. 112(14): p. 2157-62.
16. Fine NM, C.C., Lin G1, Oh JK, Villarraga HR, Gabriel SE., Evaluation of myocardial function in patients with rheumatoid arthritis using strain imaging by speckle-tracking echocardiography. *Ann Rheum Dis.*, 2014 Oct.
17. Abella, V., et al., Adipokines, metabolic syndrome and rheumatic diseases. *J Immunol Res*, 2014. 2014: p. 343746.
18. Choy, E., et al., Cardiovascular risk in rheumatoid arthritis: recent advances in the understanding of the pivotal role of inflammation, risk predictors and the impact of treatment. *Rheumatology (Oxford)*, 2014. 53(12): p. 2143-54.
19. Ku, I.A., et al., Rheumatoid arthritis: model of systemic inflammation driving atherosclerosis. *Circ J*, 2009. 73(6): p. 977-85.

20. Rodríguez-Carrio J., L.P., Suárez A., Endothelial Progenitor Cells as mediators of the crosstalk between vascular repair and immunity: lessons from systemic autoimmune diseases. *Current Medicinal Chemistry*, 2017.
21. Yamaguchi, Y. and M. Kuwana, Proangiogenic hematopoietic cells of monocytic origin: roles in vascular regeneration and pathogenic processes of systemic sclerosis. *Histol Histopathol*, 2013. 28(2): p. 175-83.
22. Aragona, C.O., et al., Endothelial Progenitor Cells for Diagnosis and Prognosis in Cardiovascular Disease. *Stem Cells Int*, 2016. 2016: p. 8043792.
23. Lo Gullo A, Aragona CO, Scuruchi M. Endothelial progenitor cells and rheumatic disease modifying therapy. *Vascul Pharmacol*. 2018 Sep;108:8-14
24. Jujo, K., M. Ii, and D.W. Losordo, Endothelial progenitor cells in neovascularization of infarcted myocardium. *J Mol Cell Cardiol*, 2008. 45(4): p. 530-44.
25. Takahashi, T., et al., Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med*, 1999. 5(4): p. 434-8.
26. Maltais, S., L.P. Perrault, and H.Q. Ly, The bone marrow-cardiac axis: role of endothelial progenitor cells in heart failure. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2011. 39(3): p. 368-74
27. Westerweel PE, Verhaar MC. Endothelial progenitor cell dysfunction in rheumatic disease. *Nat Rev Rheumatol*. 2009 Jun;5(6):332-40.
28. Grundmann, M., et al., Vitamin D improves the angiogenic properties of endothelial progenitor cells. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2012. 303(9): p. C954-62.
29. Lo Gullo, A., et al., Vitamin D Status in Rheumatoid Arthritis: Inflammation, Arterial Stiffness and Circulating Progenitor Cell Number. *PLoS One*, 2015. 10(8): p. e0134602.
30. Lo Gullo A, Mandraffino G, Sardo MA. Circulating progenitor cells in rheumatoid arthritis: association with inflammation and oxidative stress. *Scand J Rheumatol*. 2014;43(3):184-93.
31. Assalin, H.B., et al., Impact of the length of vitamin D deficiency on cardiac remodeling. *Circ Heart Fail*, 2013. 6(4): p. 809-16.
32. Gisondi, P., et al., Vitamin D status in patients with chronic plaque psoriasis. *Br J Dermatol*, 2012. 166(3): p. 505-10.
33. Pilz, S., et al., Association of vitamin D deficiency with heart failure and sudden cardiac death in a large cross-sectional study of patients referred for coronary angiography. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008. 93(10): p. 3927-35.
34. Aletaha, D., et al., 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis*, 2010. 69(9): p. 1580-8.
35. Taylor, W., et al., Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from a large international study. *Arthritis Rheum*, 2006. 54(8): p. 2665-73.
36. Langley RG, Ellis CN. Evaluating psoriasis with psoriasis area and severity index, psoriasis global assessment, and lattice system physician's global assessment. *J Am Acad Dermatol* 2004;51:563-9.
37. Fleischmann RM, v.d.H.D., Gardiner PV, Szumski A, Marshall L, Bananis E., DAS28-CRP and DAS28-VES cut-offs for high disease activity in rheumatoid arthritis are not interchangeable. *RMD Open*, 2017 Jan.

38. Mancia, G., et al., 2007 ESH-ESC Practice Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: ESH-ESC Task Force on the Management of Arterial Hypertension. *J Hypertens*, 2007. **25**(9): p. 1751-62
39. Imbalzano, E., et al., Left ventricular function in hypertension: new insight by speckle tracking echocardiography. *Echocardiography*, 2011. **28**(6): p. 649-57.
40. Castaneda, S., M.T. Nurmohamed, and M.A. Gonzalez-Gay, Cardiovascular disease in inflammatory rheumatic diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2016. **30**(5): p. 851-869.
41. Dessein, P.H., et al., Traditional and nontraditional cardiovascular risk factors are associated with atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 2005. **32**(3): p. 435-42.
42. Ikonomidis, I., et al., Increased benefit of interleukin-1 inhibition on vascular function, myocardial deformation, and twisting in patients with coronary artery disease and coexisting rheumatoid arthritis. *Circ Cardiovasc Imaging*, 2014. **7**(4): p. 619-28.
43. Ikonomidis, I., et al., Lowering interleukin-1 activity with anakinra improves myocardial deformation in rheumatoid arthritis. *Heart*, 2009. **95**(18): p. 1502-7.
44. Midtbø H, S.A., Matre K, Kvien TK, Gerdtts E., Disease activity is associated with reduced left ventricular systolic myocardial function in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.*, 2017 Feb.
45. Agca, R., et al., *EULAR recommendations for cardiovascular disease risk management in patients with rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory joint disorders: 2015/2016 update*. *Ann Rheum Dis*, 2017. **76**(1): p. 17-28.
46. Solomon, D.H., et al., *Disease activity in rheumatoid arthritis and the risk of cardiovascular events*. *Arthritis Rheumatol*, 2015. **67**(6): p. 1449-55.
47. Fernandez-Gutierrez, B., et al., *Cardiovascular disease in immune-mediated inflammatory diseases: A cross-sectional analysis of 6 cohorts*. *Medicine (Baltimore)*, 2017. **96**(26): p. e7308.
48. Ikonomidis I, M.G., Papadavid E, Varoudi M, Andreadou I, Gravanis K, Theodoropoulos K, Pavlidis G, Triantafyllidi H, Parissis J, Paraskevidis I, Rigopoulos D, Lekakis J., *Similarities in coronary function and myocardial deformation between psoriasis and coronary artery disease: the role of oxidative stress and inflammation*. *Can J Cardiol.*, 2015 Mar.
49. Haugaa, K.H. and T. Edvardsen, *Global longitudinal strain: the best biomarker for predicting prognosis in heart failure?* *Eur J Heart Fail*, 2016. **18**(11): p. 1340-1341.
50. Kul S, K.G., Guvenc TS, Kavas M, Demircioglu K, Yilmaz Y, Yakar HI, Kanbay A, Boga S, Caliskan M., *Coronary flow reserve is reduced in sarcoidosis*. *Atherosclerosis.*, 2017 Sep.
51. Santos-Gallego, C.G., A.J. Weiss, and J. Sanz, *Non-cardiac sarcoid actually affects the heart by reducing coronary flow reserve*. *Atherosclerosis*, 2017. **264**: p. 74-76.
52. González-Gay MA, G.-J.C., Llorca J., *Carotid ultrasound in the cardiovascular risk stratification of patients with rheumatoid arthritis: when and for whom?* *Ann Rheum Dis.*, 2012 Jun.
53. Fent GJ, G.J., Plein S, Buch MH., *The role of non-invasive cardiovascular imaging in the assessment of cardiovascular risk in rheumatoid arthritis: where we are and where we need to be*. *Ann Rheum Dis.*, 2017 Jul.
54. Gorcsan, J., 3rd and H. Tanaka, *Echocardiographic assessment of myocardial strain*. *J Am Coll Cardiol*, 2011. **58**(14): p. 1401-13.
55. Bellavia D, P.P., Abraham TP, Al-Zahrani GB, Dispenzieri A, Oh JK, Bailey KR, Wood CM, Lacy MQ, Miyazaki C, Miller FA Jr., *Evidence of impaired left ventricular systolic function by Doppler myocardial imaging in patients with systemic amyloidosis and no evidence of cardiac involvement by standard two-dimensional and Doppler echocardiography*. *Am J Cardiol.*, 2008 Apr.

56. Ikonomidis I, A.G., Stamatelopoulos K, Lekakis J, Revela I, Venetsanou K, Marinou M, Monaco C, Cokkinos DV, Nihoyannopoulos P., *Additive prognostic value of interleukin-6 at peak phase of dobutamine stress echocardiography in patients with coronary artery disease. A 6-year follow-up study.* Am Heart J., 2008 Aug.
57. Maradit-Kremers, H., et al., *Cardiovascular death in rheumatoid arthritis: a population-based study.* Arthritis Rheum, 2005. **52**(3): p. 722-32.
58. Ikonomidis, I., et al., *Inhibition of interleukin-1 by anakinra improves vascular and left ventricular function in patients with rheumatoid arthritis.* Circulation, 2008. **117**(20): p. 2662-9.
59. Frieler, R.A. and R.M. Mortensen, *Immune cell and other noncardiomyocyte regulation of cardiac hypertrophy and remodeling.* Circulation, 2015. **131**(11): p. 1019-30.
60. Gardner, D.G., S. Chen, and D.J. Glenn, *Vitamin D and the heart.* Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2013. **305**(9): p. R969-77.
61. Tamez H, Z.C., Packham D, Wenger J, Bhan I, Appelbaum E, Pritchett Y, Chang Y, Agarwal R, Wanner C, Lloyd-Jones D, Cannata J, Thompson BT, Address D, Zhang W, Singh B, Zehnder D, Pachika A, Manning WJ, Shah A, Solomon SD, Thadhani R., *Vitamin D reduces left atrial volume in patients with left ventricular hypertrophy and chronic kidney disease.* Am Heart J., 2012 Dec.
62. B. Prietl, G.T., T.R. Pieber, K. Amrein., *Vitamin D and Immune Function.* Nutrients., 2013 Jul.
63. Norman PE, P.J., *Vitamin D and cardiovascular disease.* Circ Res., 2014 Jan.
64. J. Gambardella, G.S., *Integrating diet and inflammation to calculate cardiovascular risk. atherosclerosis.*, 2016 Oct.
65. Costa, S.P., et al., *Quantification of the variability associated with repeat measurements of left ventricular two-dimensional global longitudinal strain in a real-world setting.* J Am Soc Echocardiogr, 2014. **27**(1): p. 50-4.

