



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

**Dottorato di Ricerca in Fisiopatologia Medica
XXI ciclo**

**DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA' ARTERIOSA
NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE:
RUOLO DELL'ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA
ASIMMETRICA (ADMA).
STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL
CASO-CONTROLLO**

Coordinatore:

Chiar.mo Prof. NICOLA GLORIOSO

Tutore:

Chiar.mo Prof. GIUSEPPE PASSIU

Dottorando:

Dott.ssa PATRIZIA FENU

Anno Accademico 2007/2008

INDICE

Introduzione	Pag. 3
Marcatori precoci del danno cardiovascolare nella SA..	Pag. 7
Obiettivi dello studio.....	Pag. 28
Materiali e metodi.....	Pag. 29
Risultati	Pag. 44
Discussione	Pag. 52
Conclusioni	Pag. 61
Bibliografia di riferimento.....	Pag. 62
Grafici e tabelle.....	Pag. 77
Allegati	Pag. 87

•

• DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

INTRODUZIONE

La Spondilite Anchilosante (SA) è una malattia infiammatoria cronica caratterizzata da un interessamento prevalente dello scheletro assiale (rachide e articolazioni sacroiliache), ma anche da artrite periferica ed entesite, con evoluzione verso l'anchilosi, in particolare del rachide.

Nella popolazione italiana la SA ha una prevalenza del 0.45% circa, con un rapporto M:F pari a 5:1. Alcuni studi indicano che i pazienti affetti da SA hanno una ridotta aspettativa di vita rispetto alla popolazione generale, il rischio relativo di mortalità è infatti pari all' 1.5 - 3 %; tuttavia il contributo che i disordini cardiovascolari danno all'aumentata mortalità non è stato ancora quantificato. Si ritiene comunque che, come accade in altre malattie reumatiche infiammatorie come l'artrite reumatoide, che si associano ad un incremento del rischio cardiovascolare rispetto alla popolazione generale, ciò possa accadere anche nella SA.

In letteratura sono pochi, e non concordi, i dati riguardanti il rapporto tra infiammazione e malattie cardiovascolari nella SA; l'aumentato rischio cardiovascolare in questi pazienti potrebbe essere infatti dovuto ad una alta prevalenza dei fattori di rischio convenzionali e al fatto che hanno, ovviamente, una diminuita attività fisica. Alcuni studi, tuttavia, indicano non solo come la SA sia significativamente associata a malattie cardiache (difetti di conduzione: blocco A/V e blocco di branca), ma lasciano anche

” DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

supporre che, in questi pazienti, l'infiammazione cronica stessa possa dare un contributo importante all'aumentato rischio cardiovascolare. Infatti alcuni studi dimostrerebbero come elevati livelli di Proteina-C-Reattiva (PCR) siano alla base dello sviluppo del processo aterosclerotico e come questo rappresenti un fattore di rischio indipendente.

L'aterosclerosi ha inizio con la disfunzione endoteliale che porta alla formazione della placca; tale disfunzione rappresenta la tappa fondamentale nell'aterogenesi, ed è già presente molto tempo prima della formazione e strutturazione della placca aterosclerotica. Molti studi su pazienti affetti da varie patologie, inclusa l'Artrite Reumatoide e il Lupus Eritematoso sistemico, evidenziano come la disfunzione endoteliale, si associ all'espressione clinica dell'aterosclerosi.

Essa è stata dimostrata sia con metodiche strumentali che laboratoristiche, e sembra essere più frequente e severa nei pazienti affetti da SA rispetto alle popolazioni di controllo. Recentemente sono stati proposti rapporti tra l'infiammazione presente nella SA e la disfunzione endoteliale o l'alterata funzione del microcircolo: Caliskan et al. hanno studiato la Riserva di Flusso Coronarico (CFR) come marker della funzione del microcircolo coronarico, dimostrando che una alterazione della CFR nei pazienti con SA e che i livelli di PCR e di Tumor Necrosis Factor-alfa (TNF- α), possono essere interpretati come fattori di rischio indipendenti di una ridotta CFR.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA' ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL'ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Per studiare la funzione endoteliale viene sfruttata la capacità di vasodilatazione dell'endotelio. In molti studi è stata usata la Dilatazione Flusso Mediata (FMT) dell'arteria brachiale come indice di funzione endoteliale: alterazioni di tale indice sono state dimostrate in molte patologie che rappresentano esse stesse fattori di rischio cardiovascolare, come il diabete mellito, l'ipertensione arteriosa e l'ipercolesterolemia.

Molti studi suggeriscono che anche alcune citochine proinfiammatorie, come il TNF- α e l'IL-6, che rivestono un ruolo cardine nella patogenesi della SA, possano contribuire allo sviluppo dell'aterosclerosi e al coinvolgimento cardiovascolare nei pazienti affetti da questa malattia.

Un certo interesse rivestono poi altri studi, relativamente recenti, che hanno identificato come fattore di rischio per l'aterosclerosi sistemica, anche la terapia con Methotrexate, in quanto sembra aumentare i livelli plasmatici di omocisteina.

In ogni caso, ad oggi, non è noto se nei pazienti con SA vi sia un aumento della rigidità arteriosa. Probabilmente in questi pazienti, i fattori di rischio legati alla malattia, in associazione a fattori di rischio tradizionali, determinano un danno vascolare amplificato ed accelerato, responsabile dell'eccesso di mortalità per malattie cardiovascolari.

Lo stesso effetto sul rischio cardiovascolare delle moderne terapie con farmaci anti TNF- α in pazienti affetti da SA non è noto; comunque, poichè questi farmaci sono in grado di controllare l'infiammazione,

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA' ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL'ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

potrebbero, agendo sui fattori di rischio intrinseci alla malattia, essere in grado di modificare anche l'assetto funzionale vascolare.

La SA si presenta quindi come una malattia quanto mai complessa; la ricerca, da questo punto di vista, non fa altro che confermare questa complessità, cercando di caratterizzare anche quegli aspetti apparentemente secondari, che ritrovano però tutta la loro importanza nel miglioramento della gestione, che diventa così sempre più interdisciplinare, del paziente che ne è affetto.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

MARCATORI PRECOCI DEL DANNO CARDIOVASCOLARE NELLA SA

Negli ultimi anni si fa sempre più pressante la necessità di individuare marcatori precoci della malattia cardiovascolare al fine di individuare procedure terapeutiche atte a ridurre la progressione del danno vasale già nelle fasi precoci di malattia. A tal proposito l'attenzione si è rivolta allo studio della parete vasale in quanto essa è il sito in cui avvengono le alterazioni precoci della malattia.

La disfunzione endoteliale, considerata la prima tappa nello sviluppo delle alterazioni strutturali e funzionali tipiche del processo aterosclerotico, viene estensivamente studiata sia dal punto di vista funzionale (variazioni dinamiche del tono arterioso in risposta a stimoli ischemici o farmacologici) sia dal punto di vista degli esami di laboratorio con il dosaggio di marcatori specifici della funzione endoteliale.

Negli ultimi anni numerose evidenze sperimentali hanno sottolineato il ruolo della ridotta biodisponibilità dell'ossido nitrico nello sviluppo della disfunzione endoteliale.

La rilevazione delle modificazioni dello spessore del complesso intima-media è un indicatore di malattia pre-clinica e consente di orientare l'approccio farmacologico e di monitorare l'evoluzione del danno vascolare.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Recentemente inoltre la valutazione della rigidità arteriosa ha dimostrato di fornire valide informazioni sullo stato della parete vascolare utile a consentire una stratificazione del rischio cardiovascolare che superi i limiti legati all'impiego dei fattori di rischio cardiovascolare tradizionali. Tali metodologie hanno trovato recente applicazione nello studio della malattia cardiovascolare nell'AR allo scopo di identificare quali processi patogeni e quali variabili cliniche correlate alla malattia fossero predittori indipendenti del danno vascolare e in un ultimo dell'eccesso di mortalità.

LA DISFUNZIONE ENDOTELIALE

Evidenze sperimentali e cliniche indicano che le complesse funzioni dell'endotelio siano da correlare alla sua natura di esteso organo con attività autocrina e paracrina preposto a mantenere l'omeostasi vascolare. La sua attività è rivolta sia verso la parete vasale, in quanto modula il tono e la struttura vasale rivestendo un ruolo primario nel modellamento che si osserva come risposta fisiologica alle variazioni emodinamiche, sia in stati patologici come l'aterosclerosi e l'ipertensione, sia verso il lume vasale dove modula la coagulazione e le interazioni con e tra le cellule ematiche.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

In passato l'endotelio era considerato come una barriera di diffusione tra sangue ed interstizio, oggi è considerato un dinamico modulatore della fisiologia vascolare per la sua capacità di sintetizzare e rilasciare una varietà di fattori attivi sul tono vasale, sulla permeabilità e sulla proliferazione e migrazione delle cellule endoteliali e dei miociti, in risposta a, variazioni di shear stress, sul meccanismo di angiogenesi e sul modellamento vascolare. La capacità dell'endotelio di modulare il tono vascolare e l'entità del flusso ematico in risposta stimoli nervosi, meccanici ed umorali è affidata alla sintesi ed al rilascio di un pacchetto di sostanze ad attività sia vasodilatante che vasocostrittrice.

L'ossido nitrico (NO) è la molecola chiave della funzione endoteliale in quanto è un potente vasodilatatore e inibisce l'azione vasocostrittrice di altre molecole dell'endotelio (endotelina I e angiotensina III) che determinano una alterazione vasomotoria, fenotipo pro-coagulante della superficie endoteliale, infiammazione e infine formazione della placca.

Tale radicale è prodotto e rilasciato dalle cellule endoteliali per attivazione di un "pathway" intrinseco endoteliale L-arginina/NO ad opera dell'enzima costitutivo Nitrossidosintetasi (eNOS) in risposta ad agonisti recettoriali o a modificazioni dello "shear-stress" di parete e quindi alla forza tangenziale del flusso ematico nella parete vasale. La vasodilatazione NO-dipendente è indice di funzione endoteliale

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

fisiologica ed è la risposta che si osserva dopo stimolazione con agenti farmacologici in risposta a variazioni di *shear-stress*. Una ridotta disponibilità di ossido nitrico è indice di Disfunzione Endoteliale e può attivare una cascata di eventi predisponenti lo sviluppo di aterosclerosi, trombosi ed instabilità di placca. Varie cause si riconoscono come responsabili della ridotta biodisponibilità di NO. Certamente un ruolo importante è da associare alla diminuita disponibilità plasmatica di L-arginina e dei cofattori della eNOS (ac.folico, derivati flavinici), nonché alla ridotta attività dell'isoforma endoteliale della NO-sintetasi (eNOS), enzima in grado di ottenere NO a partire dall'L-arginina, per ossidazione del suo nitrogruppo terminale guanidinico. La eNOS è in grado di sintetizzare quantità di NO in pochi secondi, in risposta ad agonisti recettoriali oppure in risposta allo *shear-stress* di parete. Un ruolo preminente nella disfunzione endoteliale va assegnato all'inattivazione dell'NO da parte dei radicali liberi dell'ossigeno. Le specie reattive dell'ossigeno reagiscono con l'NO producendo perossinitriti, molecole cito-ossidanti, che, tramite la nitratura delle proteine cellulari endoteliali, ne alterano la funzione; i perossinitriti sono anche coinvolti nell'ossidazione delle LDL, che aumentano così il loro effetto pro-aterogeno e riducono a loro volta la biodisponibilità di NO inibendone la via biosintetica tramite una alterazione della conformazione dei recettori Gi-dipendenti, con conseguente mancata attivazione della eNOS, oppure inattivando direttamente lo NO per un eccesso di anione superossido.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

In modelli animali affetti da ipertensione arteriosa, un eccesso ossidativo caratterizzato da produzione di elevate quantità di radicali liberi sotto forma di anione superossido, perossido di idrogeno e radicale ossidrilico, è associato a disfunzione endoteliale, come dimostrato da un miglioramento della vasodilatazione endotelio-dipendente dopo l'uso di antiossidanti. L'eccesso ossidativo si associa inoltre ad un aumento dei processi infiammatori e della formazione di trombi e la sua entità correla con il grado di riduzione della vasodilatazione endotelio-dipendente e con lo sviluppo di eventi cardiovascolari.

La sintesi dell'NO può essere bloccata farmacologicamente in maniera competitiva con l'N-monometil-L-arginina (L-NMMA), analogo della L-arginina. L'L-NMMA agisce, in modelli sperimentali, causando vasocostrizione, facilitando l'aggregazione cellulare e l'adesività piastrinica e promuovendo il processo aterogeno. La dimetilarginina asimmetrica (ADMA), inibitore endogeno della NOS, agisce *in vivo* con le medesime caratteristiche della L-NMMA ed è pertanto stata estensivamente studiata in modelli animali e in trials clinici per valutarne il ruolo nel processo che porta dalla disfunzione endoteliale alla malattia aterosclerotica conclamata. L'ADMA viene sintetizzata, in numerosi tipi cellulari, dalla metilazione dei residui di arginina delle proteine ad opera della proteina arginina-metil-transferasi tipo 1 (PMTRs) e viene rilasciata, in seguito alla idrolisi delle proteine, nel citosol cellulare e quindi in circolo. L'ADMA può essere metabolizzata, a livello cellulare,

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

mediante conversione in citrullina ad opera dell'enzima dimetilarginina-dimetilamminoidrolasi (DDAH). Oltre alla produzione di ADMA la metilazione della L-arginina, ad opera della PRMT tipo 2, porta alla formazione dell'isomero asimmetrico LNMMA e della dimetilarginina simmetrica (SDMA). L'LNMMA, verosimilmente in relazione alle sue basse concentrazioni nei liquidi biologici, non gioca però alcun ruolo *in vivo* nella regolazione dei livelli dell'NO. L'ADMA pertanto agirebbe come un modulatore endogeno della via metabolica dell'NO. In presenza di un incremento delle concentrazioni di ADMA sarebbe pertanto logico aspettarsi una modificazione dell'assetto vascolare mediato dalla riduzione della sintesi dell'NO. Evidenze sperimentali e cliniche dimostrano che anche minime modificazioni dei livelli plasmatici dell'ADMA sono associate con l'aterosclerosi subclinica, la disfunzione endoteliale e la rigidità arteriosa nella popolazione generale e in numerose condizioni patologiche. Nel contesto delle patologie reumatiche è stata evidenziata un'elevazione dei livelli plasmatici dell'ADMA nei soggetti affetti da Artrite Reumatoide rispetto alla popolazione di controllo e una correlazione tra i livelli dell'ADMA e lo spessore intima-media carotideo. Dagli studi clinici *cross-sectional* e dalle evidenze sperimentali emerge il ruolo dell'ADMA come di un fattore di rischio cardiovascolare suggerendo la necessità di studi ad hoc per valutare il contributo dell'ADMA nella patogenesi della disfunzione vascolare e della malattia cardiovascolare.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Diversi studi hanno evidenziato che la disfunzione endoteliale potrebbe fornire elementi prognostici per la stima del rischio cardiovascolare e potrebbe quindi rappresentare un valido marcatore di malattia cardiovascolare. La disfunzione endoteliale si verifica in risposta ai noti fattori di rischio cardiovascolare e rappresenta una prima tappa nel processo di aterogenesi vascolare precedendo sempre la aterosclerosi strutturale. Inoltre le terapie che migliorano la disfunzione endoteliale riducono l'incidenza degli eventi cardiovascolari nei pazienti con malattia coronarica stabile. Infine esistono delle modalità riproducibili per la valutazione della disfunzione endoteliale e questa possiede le caratteristiche per essere considerata un *biomarker*.

Il parametro tradizionalmente usato per misurare il grado di funzione dell'endotelio è la capacità di vasodilatazione endotelio-dipendente, ovvero indotta da agonisti (acetilcolina, bradichinina o lo *shear-stress* sulla parete vasale durante flusso iperemico) che stimolano la produzione endoteliale di sostanze vasodilatatrici. I primi studi eseguiti a livello del circolo coronario hanno utilizzato l'infusione di acetilcolina durante coronarografia. La modificazione del diametro vascolare durante infusione intracoronarica di acetilcolina, misurata con angiografia quantitativa, è stata utilizzata come indice di produzione locale di NO. È stato dimostrato che l'acetilcolina induce una vasodilatazione nelle arterie coronariche epicardiche normali, mentre è possibile osservare una vasocostrizione paradossa nelle arterie con disfunzione endoteliale. Oggi

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

è possibile utilizzare, sempre durante studio coronarografico, sostanze vasodilatatrici quali la papaverina che permettono di misurare la dilatazione coronarica dovuta allo *shear-stress* indotto dal farmaco. È inoltre, possibile quantificare l'entità della risposta ai mediatori sin qui esposti, oltre che con l'angiografia quantitativa, anche mediante tecniche più sensibili quali l'ultrasonografia ed il doppler intracoronarico. L'impiego di queste tecniche, sebbene valido in quanto utilizza agonisti endoteliali selettivi e modulabili, presenta tuttavia limitazioni dovute all'invasività della tecnica; la loro applicazione è ristretta ai pazienti che hanno una indicazione clinica alla esecuzione di una coronarografia e pertanto sono state sviluppate metodiche per valutare la vasodilatazione endotelio-dipendente in altri distretti vascolari ed in modo meno invasivo. La pletismografia venosa viene utilizzata per valutare le variazioni di flusso a livello dell'avambraccio in risposta all'infusione diretta, mediante incannulazione dell'arteria brachiale, di sostanze vasodilatatrici ad azione endotelio-dipendente, quali l'acetilcolina, la sostanza P o la bradichinina. Per la valutazione della funzione endoteliale è stata recentemente standardizzata una tecnica non-invasiva nota con il nome di *flow-mediated dilation* (FMD = dilatazione mediata dal flusso iperemico); tale metodica sfrutta l'aumento della forza tangenziale sulla parete in corso di iperemia (*shear-stress*) che determina rilascio endoteliale di NO e conseguente vasodilatazione. La tecnica prevede la visualizzazione dell'arteria brachiale in un tratto rettilineo del vaso circa

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA' ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL'ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

2 cm al di sopra della piega del gomito mediante ultrasonografia, con una sonda vascolare di 7,5 MHz; la misura del diametro vasale viene eseguita in condizioni di base e dopo un minuto di flusso iperemico, al picco della vasodilatazione mediata dallo *shear-stress*. L'iperemia viene indotta tramite occlusione meccanica dell'arteria brachiale mediante gonfiaggio di un manometro a pressioni maggiori di quelle arteriose sistemiche e successivo rilascio, dopo cinque minuti di collasso del vaso. L'esame viene svolto in regime ambulatoriale, con controllo della temperatura ambientale e dello stress emotivo del paziente. Vengono sospesi per almeno 48 ore prima del test tutti i farmaci vasoattivi, l'assunzione di caffeina ed il fumo di sigaretta, che possono inficiare la risposta del vaso allo stimolo. I maggiori vantaggi di questa tecnica consistono nella non invasività, nella facile riproducibilità e ripetibilità del test, nel basso costo e nel minor rischio rispetto ad uno studio invasivo angiografico selettivo.

È stata dimostrata una buona correlazione tra la funzione endoteliale studiata a livello periferico con la FMD e quella misurata invasivamente a livello coronarico durante coronarografia; ciò ha permesso l'applicazione estensiva dello studio della funzione endoteliale mediante FMD in pazienti affetti da aterosclerosi coronaria e con altri fattori di rischio cardiovascolare come l'ipercolesterolemia e il diabete e si è dimostrata essere un buon predittore degli eventi cardiovascolari. Poiché la presenza di disfunzione endoteliale correla con lo stato infiammatorio

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

delle pareti arteriose, sono marker di disfunzione endoteliale anche le forme solubili di mediatori dell'inflammazione, quali ICAM-1, VCAM-1 ed E-selectin, che possono essere dosate a livello plasmatico.

La valutazione della FMD brachiale è stata impiegata come metodica di valutazione per l'effetto che la terapia con farmaci inibitori del TNF-alfa esercita sulla funzione endoteliale. Si tratta di un aspetto estremamente rilevante se si considera che la dimostrazione di un'efficacia sulla disfunzione endoteliale, da parte di questi farmaci, potrebbe determinare una riduzione del rischio cardiovascolare futuro del soggetto, essendo la disfunzione endoteliale una tappa precoce nello sviluppo della patologia cardiovascolare.

Numerosi studi hanno evidenziato l'importanza dell'ispessimento medio intimale (IMT) come marker di lesione aterosclerotica in fase precoce e molti dati sono ormai acquisiti. Lo spessore intima – media (SMI) è associato, in maniera indipendente ai principali fattori di rischio cardiovascolari: età, sesso, ipertensione arteriosa, diabete, fumo, dislipidemia ecc. I soggetti con valori elevati di IMT carotideo hanno una maggiore probabilità di incorrere nel tempo in un evento cardiaco o cerebro-vascolare.

La capacità predittiva dell'IMT viene conservata anche dopo aggiustamento per i principali fattori di rischio cardiovascolare, suggerendo che le informazioni dell'IMT sono in parte indipendenti da quest'ultimi. Ad es. nel CHS (*Cardiovascular Health Study*) si è voluto

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA' ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL'ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

studiare l'associazione tra lo spessore medio-intimale carotideo e l'incidenza di infarto del miocardio o ictus in soggetti senza evidenza clinica di patologie cardiovascolari (oltre 5000 pazienti) di età uguale o superiore a 65 anni per un periodo di follow-up di 6.2 anni. In questo studio l'incidenza di eventi cardiovascolari (infarto e ictus) correlava con le misure dello SMI carotideo anche dopo aggiustamento per i fattori di rischio tradizionali.

In uno studio *cross-sectional* su soggetti senza evidenza clinica di malattia aterosclerotica i livelli dell'ADMA risultavano associati con l'IMT, mentre in uno studio prospettico in una popolazione di pazienti in dialisi i livelli basali di ADMA predicevano la progressione del danno vascolare, valutato come IMT a distanza di un anno.

Numerosi trials prospettici hanno inoltre investigato il ruolo dell'ADMA come predittore di mortalità cardiovascolare. Sulla base delle evidenze sperimentali e cliniche fin qui raccolte si può pertanto affermare che i soggetti con elevati livelli di ADMA sono a rischio per una malattia coronarica e che i pazienti con malattia coronarica accertata, che presentano elevati livelli di ADMA, sono ad aumentato rischio per eventi cardiovascolari.

SPESORE MIO-INTIMALE

Lo spessore miointimale carotideo correla con i classici fattori di rischio cardiovascolari, con il coinvolgimento aterosclerotico di altri distretti e

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

con la prevalenza di malattie cardiovascolari. Studi prospettici condotti su ampie casistiche hanno anche messo in evidenza che lo spessore miointimale è un valido predittore di eventi sia cardio che cerebrovascolari.

L'associazione tra spessore carotideo e malattia coronarica non sorprende dal momento che entrambi riconoscono una patogenesi aterosclerotica. L'ultrasonografia è attualmente la tecnica di elezione per lo studio dell'aterosclerosi preclinica grazie ai costi contenuti, alla non invasività, alla relativa semplicità di esecuzione e alla grande accuratezza nel rilevare le placche e alla accuratezza nel misurare lo spessore del complesso miointimale della parete arteriosa. Studi prospettici hanno chiaramente dimostrato che le alterazioni carotidee (placche e ispessimento mediointimale) hanno un forte valore predittivo di eventi cerebrovascolari e coronarici. In funzione di queste sue caratteristiche lo studio ultrasonografico della parete delle grosse arterie è stato estensivamente impiegato per lo studio delle alterazioni vascolari e della aterosclerosi incipiente nelle malattie reumatiche.

Questi studi, hanno in generale suggerito che i pazienti affetti da malattie reumatiche presentino, al di là dei fattori di rischio cardiovascolare tradizionali, una intrinseca tendenza, verosimilmente correlata allo stato di infiammazione sistemica cronica, a sviluppare precocemente alterazioni vascolari aterosclerotiche. In realtà non tutte le evidenze concordano con questo dato e gli studi, peraltro sporadici, su materiale

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

autoptico, sembrano non confermare le risultanze ultrasonografiche, attribuendo più alla flogosi che all'aterosclerosi il determinismo nella evoluzione di placca alla cui responsabilità si deve l'eccesso di morbilità e mortalità cardiovascolare delle malattie reumatiche.

RIGIDITÀ ARTERIOSA

La patologia delle arterie di conduttanza rappresenta una delle cause principali della morbilità e morbidità cardiovascolare. Ad oggi, i meccanismi che portano all'inizio e alla progressione delle alterazioni morfologiche e strutturali dei grossi vasi verso l'aterosclerosi, sono solo in parte conosciuti. Inoltre, considerata la natura spesso dei fattori di rischio cardiovascolare e delle alterazioni funzionali e strutturali vascolari il riconoscimento precoce delle modificazioni patologiche delle arterie di conduttanza permettere di individuare soggetti ad alto rischio di eventi cardiovascolari.

Per tanto tempo le grosse arterie sono state considerate come condotti passivi per il trasporto e la distribuzione del sangue nell'organismo. Più recentemente, invece, numerosi studi hanno dimostrato che le arterie di grosso diametro costituiscono un complesso organo con funzione di conduttanza e distribuzione (dotate anche di attività endocrine e paracrine) e di riserva pulsatile per la circolazione sanguigna. La

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA' ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL'ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

proprietà meccanica di assicurare una riserva di energia pulsatile per la circolazione sanguigna è un determinante importante della fisiologia della circolazione sia in condizione di salute che in corso di processi patologici. Lo studio delle modificazioni strutturali e funzionali delle grosse arterie elastiche è estremamente difficoltoso, in relazione alla natura pulsatile del flusso sanguigno, alla complessità strutturale della parete arteriosa e alle modificazioni dinamiche del tono della componente muscolare della parete arteriosa. Il polso arterioso può essere considerato come una modificazione dinamica indotta dalla contrazione cardiaca e si verifica alla stessa frequenza del battito cardiaco. L'eiezione di un flusso di sangue dal ventricolo sinistro attraverso l'aorta comporta delle variazioni del flusso, della pressione e del diametro in tutti i distretti dell'albero arterioso.

Il polso pressorio può essere registrato in maniera invasiva o in maniera non invasiva con un trasduttore esterno. Poiché, inoltre, la forma dell'onda della pressione pulsatoria cambia ampiezza e contorno nel tragitto dall'aorta alle arterie periferiche, il vantaggio di una metodica di misurazione non invasiva consiste nella possibilità di esplorare tali modificazioni a diversi livelli lungo l'albero arterioso. Per comprendere i determinanti del polso arterioso e dell'onda pressoria è necessario considerare l'emodinamica arteriosa e il concetto della propagazione dell'onda e dell'onda riflessa da cui dipendono i valori della pressione arteriosa sistolica e diastolica sia a livello delle arterie centrali che di

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

quelle periferiche. L'onda pressoria deve infatti essere considerata come la sovrapposizione di almeno due onde separate: la prima è la cosiddetta onda incidente che procede dall'aorta verso la periferia mentre la seconda detta onda riflessa procede in senso contrario dalla periferia (dal sito di riflessione in corrispondenza di una brusca variazione dell'impedenza) verso il cuore.

L'onda incidente dipende dalla frazione di eiezione ventricolare sinistra e dalla rigidità arteriosa, mentre l'onda riflessa è correlata alla rigidità arteriosa e al potenziale sito di riflessione. Nei giovani adulti, in cui le arterie sono molto distendibili e la velocità di propagazione dell'onda pulsatoria molto bassa, l'onda riflessa si manifesta solo in diastole. Al contrario nei soggetti anziani, in cui le arterie sono meno distendibili e la velocità dell'onda pulsatoria alta, l'onda riflessa si manifesta nella sistole generando una sovrapposizione delle due onde e un conseguente incremento della pressione sistolica e della pressione differenziale e una riduzione della pressione proto-diastolica. Questa caratteristica modificazione nella forma della onda pressoria legata all'età viene attribuita all'aumento della rigidità arteriosa e della velocità dell'onda pulsatoria con conseguente precoce ritorno al cuore delle onde riflesse. La rigidità arteriosa aumenta anche in presenza di altri fattori di rischio cardiovascolare, come l'ipertensione, ed è maggiore anche nei soggetti affetti da diabete mellito e insufficienza renale cronica .

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

La rigidità arteriosa può essere valutata in modo non invasivo tramite la misurazione della *pulse wave velocity*, che rappresenta la velocità con cui l'onda pulsatoria percorre la distanza tra due punti noti dell'albero arterioso o dell' *augmentation index* (Aix). L'Aix fornisce una stima affidabile dell'ampiezza dell'onda riflessa. Esso misura l'incremento del picco di pressione sistolica nelle fasi tardive della sistole (dovuto al precoce ritorno delle onde riflesse) in rapporto alla pressione pulsatoria. Dalla analisi della curva pressoria carotidea derivata si identifica il punto in cui le onde pressorie riflesse si fondono con l'onda incidente, determinando un picco di pressione secondario.

Il momento di arrivo dell'onda riflessa sul profilo del carotidogramma determina una incisura e viene definito *Inflection Point* o punto di inflessione. In base alla posizione relativa dell' "*inflection point*" rispetto al picco sistolico, è attribuibile un valore positivo o negativo all' *Augmentation Index*

Le onde riflesse che ritornano più precocemente ai distretti centrali si sommano all'onda sfigmica in corrispondenza della branca ascendente determinando un incremento pressorio che ha il suo picco in telesistole, dando luogo a una morfologia del carotidogramma detta "a picco pressorio tardivo dominante (late peak)".

Quando invece l'onda riflessa giunge più tardivamente o perché le onde riflesse viaggiano più lentamente o perché il sito di riflessione è più distale, si fondono con l'onda sfigmica quando questa ha già determinato

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

il picco pressorio e tende a decrescere, dando luogo ad una morfologia detta a “picco pressorio precoce dominante (early peak)”; l’onda riflessa appare cioè come una deflessione che segue il picco, di ampiezza inferiore ad esso.

L’Augmentation index è quindi definito come:

$$AI=Ps-Pi/Ps-Pd \text{ in “late peak”}$$

$$Ai=Pi-Ps/Ps-Pd \text{ in “early peak”}$$

AI può essere espresso anche attraverso un’altra stima della ampiezza dell’onda pressoria riflessa: l’ *Augmentation Pressure* (AP), che esprime in termini assoluti la differenza tra il secondo e il primo picco sistolico, quindi AI può essere definito come il rapporto percentuale di AP/PP.

Nel caso di morfologia di tipo “early peak” l’ *augmentation pressure* e l’ *augmentation index* derivati dalle formule riportate sopra assumono valori negativi, come si osserva comunemente in soggetti giovani e normotesi. AP è invece uguale a zero se l’onda riflessa arriva più tardivamente e $Ps > Pi$; in tal caso infatti l’onda riflessa non apporta alcun incremento al picco di pressione sistolica sviluppato dal ventricolo sinistro.

I costi relativamente contenuti, la semplicità di esecuzione e l’acceptabilità da parte dei pazienti delle metodiche non invasive attualmente disponibili per studiare i vari markers funzionali, hanno portato ad una rapida espansione degli studi in questo campo.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Dati sul potenziale impatto dell'aumento della rigidità arteriosa sugli eventi clinici cardiovascolari cominciano ad essere disponibili. Diversi studi condotti su varie popolazioni hanno dimostrato una correlazione significativa tra la velocità dell'onda pulsatoria e i cosiddetti fattori di rischio cardiovascolare maggiori (età, ipertensione, diabete, fumo di sigaretta). Analogamente una significativa "interazione" è stata dimostrata tra la velocità dell'onda pulsatoria e i fattori di rischio cardiovascolare minori (pressione pulsatoria, frequenza cardiaca, circonferenza della vita, ipertrofia ventricolare sinistra, omocisteinemia e sedentarietà). Inoltre la velocità dell'onda pulsatoria risulta associata con l'evidenza clinica di danno d'organo. Nei pazienti diabetici un incremento della velocità dell'onda pulsatoria è correlato alla entità della microalbuminuria suggerendo che la disfunzione renale sia associata con una modificazione delle proprietà viscoelastiche delle arterie di conduttanza e con un aumentato rischio cardiovascolare. La velocità dell'onda pulsatoria sembra inoltre un valido determinante dell'ipertrofia ventricolare sinistra. È noto infatti che lo sviluppo e la regressione della ipertrofia ventricolare sinistra nei pazienti ipertesi non sono funzione esclusiva della pressione arteriosa, ma sono modulati anche dalle proprietà meccaniche e viscoelastiche dell'aorta. Un aumento dell'*afterload* cardiaco, potrebbe essere conseguenza della riduzione della distensibilità arteriosa. Infatti una ridotta distensibilità arteriosa è stata dimostrata essere responsabile di uno sproporzionato incremento della

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

pressione arteriosa sistolica che è un importante componente dello stress ventricolare sinistro. Un incremento della pressione sistolica e della pressione pulsatoria, una ridotta pressione diastolica e l'ipertrofia ventricolare sinistra sono riconosciuti come predittori indipendenti di morbilità e mortalità cardiovascolare nella popolazione generale.

Laurent e coll. hanno recentemente descritto circa 2000 pazienti seguiti nel tempo per un follow-up medio di 9 anni, nei quali la velocità dell'onda pulsatoria carotido-femorale era stata misurata all'ingresso nello studio dimostrando che la velocità dell'onda sfigmica era statisticamente associata con la mortalità per tutte le cause e con la mortalità cardiovascolare.

Benché la gran parte dei dati presenti in letteratura si riferisca alla velocità di propagazione dell'onda pulsatoria in alcuni studi clinici, è stato studiato il potenziale predittivo degli eventi cardiovascolari della determinazione dell'Aix e della AP. Tali studi hanno dimostrato che sia l'Aix che l'AP hanno presentato una buona capacità di predizione degli eventi cardiovascolari nella popolazione di pazienti con malattia coronarica e con insufficienza renale. Due grossi studi di outcome cardiovascolare hanno recentemente valutato il maggior valore predittivo della rilevazione della pressione centrale aortica, ottenuta mediante tonometria radiale con il sistema SphigmoCor®, rispetto alla rilevazione della pressione brachiale tramite sfigmomanometro.

“ DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA' ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL'ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Il sotto-studio CAFE (Conduit Artery Functional Endpoint) dell'ASCOT (Anglo- Scandinavian Cardiac Outcomes Trial) dimostrava che la riduzione degli eventi cardiovascolari con un nuovo regime terapeutico (amlodipina più peridopril vs atenololo più tiazidico) era legato alla riduzione delle pressioni arteriose centrali, valutate con il sistema SphigmoCor®, ottenute con la nuova combinazione di farmaci. Le due strategie terapeutiche invece non mostravano sostanziali differenze di efficacia sulla riduzione dei valori pressori arteriosi valutato in periferia. Gli autori concludevano che nella coorte CAFE la pressione arteriosa centrale era un determinante significativo dell'insieme di eventi cardiovascolari e renali.

Il secondo studio, derivato dallo Strong Heart Study commissionato dallo National Heart Lung and Blood Institute per investigare il rischio di malattia cardiovascolare tra le tribù indiane americane in una popolazione di 2400 soggetti seguiti prospetticamente per una media di quattro anni, dimostrava che la rilevazione delle pressioni centrali, ottenuta mediante tonometria da appianazione con SphigmoCor® risultava più predittiva degli eventi cardiovascolari rispetto alla determinazione dei valori pressori brachiali con sfigmomanometro.

Ciononostante ulteriori studi, su grosse casistiche e per periodi di follow-up più estesi, sono necessari per approfondire l'importanza della rigidità arteriosa nel predire gli eventi clinici cardiovascolari e capire se la valutazione sofisticata della meccanica delle grandi arterie offra

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA' ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL'ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

informazioni aggiuntive rispetto alla semplice rilevazione della pressione sistolica o della pressione pulsatoria.

Alcuni ricercatori hanno recentemente condotto lo studio delle proprietà meccaniche della parete arteriosa, quale marcatore di malattia cardiovascolare, nelle popolazioni di pazienti affetti da Spondilite Anchilosante. L'unico studio cross-sectional ad ora pubblicato, condotto su una casistica di 60 pazienti, non ha messo in evidenza alcuna differenza riguardo alla rigidità arteriosa tra i pazienti affetti da SA ed i controlli.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

OBIETTIVI

Obiettivo principale del nostro studio è di valutare se i pazienti affetti da SA presentano un processo di aterosclerosi accelerato rispetto ai controlli, indipendente dai fattori di rischio cardiovascolare tradizionali o, comunque, attribuibile anche alla malattia di base; di stimare se presentano una condizione di disfunzione endoteliale indipendente dai fattori di rischio cardiovascolare tradizionali; se i livelli plasmatici di ADMA risultano più elevati rispetto alla popolazione di controllo e se possono essere interpretati come predittori indipendenti dell'aterosclerosi subclinica, della disfunzione endoteliale e della rigidità arteriosa.

Obiettivo secondario è valutare le seguenti ipotesi: se i livelli dell'ADMA sono correlati con l'attività di malattia, con lo stato funzionale e con lo stato flogistico; se l'entità dell'aterosclerosi subclinica, il grado di disfunzione endoteliale e la rigidità arteriosa possono essere messi in relazione con l'attività di malattia, con lo stato funzionale e con lo stato flogistico.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

MATERIALI E METODI

PAZIENTI E CONTROLLI

Sono stati valutati 17 pazienti consecutivi affetti da Spondilite Anchilosante classificata secondo i criteri di New York del 1984. Sono stati esclusi tutti i pazienti con età inferiore a 18 anni, con storia di eventi cardiovascolari (sindrome coronaria acuta, angina instabile, ictus, attacco ischemico transitorio, procedure di rivascularizzazione, tromboendarteriectomia, ischemia sintomatica arteriosa periferica), diabete, ipertensione arteriosa non controllata, insufficienza renale (GFR stimato con la formula di Cockcroft e Gault $>$ di 60ml/h), malattie epatiche e/o incremento asintomatico delle transaminasi, infezioni in corso (acute o croniche), modificazione della terapia per la SA nel mese precedente all'inclusione nello studio malattie o condizioni concomitanti che, nell'opinione dello sperimentatore, potevano rendere il paziente incapace di completare lo studio.

I controlli, tutti soggetti maggiori di 18 anni di età, sono stati incrociati in maniera stretta, per età (\pm 5 anni), sesso, classe di Indice di Massa Corporea (BMI), fattori di rischio cardiovascolare tradizionali (fumo, ipercolesterolemia, ipertensione arteriosa, storia familiare di eventi cardiovascolari precoci), tipo di antiipertensivo e statina.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Sia i pazienti che i controlli hanno firmato il consenso informato per la partecipazione allo studio.

In tutti i soggetti arruolati (pazienti e controlli) sono stati valutati i livelli plasmatici di ADMA, l'aterosclerosi subclinica, la disfunzione endoteliale e la rigidità arteriosa.

La valutazione clinica è stata effettuata al momento della visita di screening; i campioni di sangue sono stati prelevati il giorno in cui sono state fatte le valutazioni strumentali.

PARAMETRI CLINICI

Tutti i soggetti arruolati nello studio sono stati sottoposti ad anamnesi ed esame fisico obiettivo ed elettrocardiogramma; per tutti è stata compilata una cartella con i dati demografici, gli eventuali fattori di rischio cardiovascolari, la presenza o no di ipertensione arteriosa e ipercolesterolemia e le terapie effettuate in passato e quelle attuali.

Per la caratterizzazione clinica dei pazienti arruolati nello studio al fine di definire la positività per l'HLA-B27, l'attività, la severità e la disabilità, sono stati registrati i seguenti parametri:

- HLA-B27.
- Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI)
- Bath Ankylosing Spondylitis Metrology Index (BASMI)
- Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI)

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

- Italia version of Healt Assessment Questionnaire (HAQ-S).
- Bath Ankylosing Spondylitis Global Score (BAS-G)
- Conta Articolare.

BASDAI: *Valutazione dell'attività di malattia.* Si tratta di un indice composito di attività di malattia costituito da sei “items” che indagano l'intensità del dolore a livello del collo, della schiena, delle coxo-femorali e delle articolazioni periferiche, il dolore provocato dal contatto/pressione, nonché l'intensità della rigidità mattutina. Le risposte generano un punteggio compreso in un range da 0 a 10, dove 0 corrisponde ad una “attività assente” e 10 ad una “massima attività”. Il paziente impiega, mediamente, 4-5 minuti per la compilazione del questionario. La valutazione è stata eseguita sempre dallo stesso operatore.

BASMI: *Valutazione della compromissione funzionale.* È un indice antropometrico composito, proposto per la valutazione della mobilità del rachide e dell'coxo-femorale. Esso è costituito da 5 misurazioni cliniche rappresentate dalla distanza trago-parete, dalla flessione lombare ottenuta mediante il test di Shöber modificato, dalla rotazione cervicale, dalla flessione laterale del busto e dalla distanza intermalleolare. Ad ognuna delle singole misurazioni vengono assegnati valori compresi fra 0 e 2. Il

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

punteggio finale potrà, pertanto, variare da 0 (migliore mobilità) a 10 (peggiore mobilità). La valutazione è stata eseguita sempre dallo stesso operatore.

BASFI: è costituito da 10 “items” presentati su scale analogiche visive (VAS) di 100 mm (range 0-100). Il questionario, esplora il grado di difficoltà riscontrato nello svolgimento di specifiche attività della vita quotidiana, mediante domande strutturate secondo la formula: “È in grado di...?”. Gli ancoraggi estremi delle VAS per le risposte ai quesiti sono strutturati come “Facilmente” (score 0) o “È impossibile” (score 100). La compilazione del questionario richiede 3-4 minuti. Il punteggio della scala viene calcolato come media dei punteggi dei 10 items ed è compreso, pertanto, in un range di 0-100. La valutazione è stata eseguita sempre dallo stesso operatore.

HAQ: comprende 20 “items” riguardanti altrettanti atti della vita quotidiana, suddivisi in 8 differenti categorie: lavarsi e vestirsi, alzarsi, mangiare, camminare, igiene, raggiungere oggetti, afferrare e altre attività. La versione dell’HAQ modificata per le spondiloartriti (HAQ-S) include due ulteriori domini che valutano la funzionalità del collo e della schiena. Ogni “item” consente 4 possibili risposte, in relazione al grado di difficoltà che comporta l’azione richiesta:

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

0 = senza difficoltà;

1 = con qualche difficoltà;

2 = con molta difficoltà;

3 = non possibile.

Per ogni singola categoria viene considerato il punteggio più alto; la somma dei punteggi diviso il numero di categorie rappresenta il punteggio finale dell'HAQ-S, che può variare, quindi, da un minimo di 0 a un massimo di 3. Il questionario viene completato in 4-5 minuti, senza particolari difficoltà di comprensione. La valutazione è stata eseguita sempre dallo stesso operatore.

BAS-G: *Stato globale di salute.* Si tratta di un indice composto costituito da due “items” concernenti lo stato generale di salute; il primo quesito concerne lo stato globale di salute riferito all'ultima settimana, mentre il secondo agli ultimi sei mesi. Le possibili risposte (0 = nessun effetto; 100 = gravissimi effetti) generano un punteggio ottenuto dalla media dei singoli valori. La valutazione è stata eseguita sempre dallo stesso operatore

Conta articolare: viene riportato il numero di articolazioni dolenti alla mobilizzazione passiva o alla pressione sulla interlinea articolare esprimendo il valore numerico: 0= non dolente; 1= dolente. Viene riportato il numero di articolazioni tumefatte (ipertrofia sinoviale,

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

versamento articolare) esprimendo il valore numerico: 0= non tumefatta.

La valutazione è stata eseguita sempre dallo stesso operatore.

PARAMETRI DI LABORATORIO

Per tutti i soggetti arruolati nello studio è stato valutato, il profilo lipidico (comprendente il dosaggio del colesterolo totale, LDL, HDL ed i trigliceridi), gli indici di funzione epatica (ALT e AST), la funzionalità renale (creatinina, azotemia), la glicemia, l'insulinemia che sono stati eseguiti presso il laboratorio di Malattie del Metabolismo dell'Università di Sassari; gli indici di flogosi: Velocità di Eritrosedimentazione (VES) e la Proteina C Reattiva (PCR), l'emocromo, il dosaggio della vitamina B12, dell'acido folico e la tipizzazione HLA B27 che sono stati eseguiti con metodica standard sempre presso un laboratorio centralizzato di riferimento.

Il dosaggio dell'ADMA, dell'SDMA, dell'Omocisteina, della Cisteina ed dell'acido urico, sono stati eseguiti presso il laboratorio di Biochimica Clinica dell'Università di Sassari.

Per tutti i soggetti è stato calcolato il BMI.

La stima del filtrato glomerulare (GFR) è stata calcolata sia nel gruppo dei casi che nei controlli con la formula di Cockcroft-Gault: [140-

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

età(anni)] x peso(Kg) / 72 x creatinina (mg/dl). Nelle donne il risultato del rapporto è stato moltiplicato per 0,85.

I campioni di sangue sono stati prelevati al mattino a digiuno tra le 8:00 e le 10:00 nella stessa giornata di esecuzione delle valutazioni strumentali.

DOSAGGIO ADMA, DIMETIL-ARGININA SIMMETRICA (SDMA), ARGININA, OMOCISTEINA E CISTEINA

I livelli plasmatici di ADMA, SDMA, omocisteina e cisteina sono stati determinati impiegando la tecnica dell'elettroforesi capillare.

I campioni di sangue venoso sono stati prelevati ed evacuati in provette contenenti EDTA, centrifugati a 3000 giri per 5 minuti a 4°C. Il plasma ottenuto è stato mescolato con 50 mmol di IS omoarginina (50 µmol/L come concentrazione finale). Alle proteine precipitate è stato poi aggiunto una diluizione ACN/ammoniaca (900 µmol/L, 90:10). Dopo centrifugazione a 300 giri per 5 minuti, il supernatante è stato evaporato nel vuoto e il residuo è stato ridisciolti con 500 µL di acqua filtrata in Vivaspin 500 (concentratore per centrifugazione, membrana in polietersulfone) mediante centrifugazione a 3000 per 20 minuti per rimuovere i residui delle proteine. Dopo essere stati filtrati, i campioni sono stati evaporati sottovuoto ed il residuo è stato ridisciolti in 50µL di acqua e iniettato per l'elettroforesi capillare (CE). La CE è stata eseguita con un sistema PACE MDQ equipaggiato con un *diode array detector* (Beckman Coulter, Milano, Italia). Il sistema è stato dotato di un 30 kV

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

di alimentazione con un limite di corrente di 300 mA. L'analisi è stata effettuata in un fuso capillare di silice, 75 mm ID e 60,2 cm di lunghezza, iniettando 1 s d'acqua seguita da 10 s di campione. La separazione è stata effettuata in un 50mmol / L tampone Tris titolato con 1 mol / L di acido fosforico al ph di 2.30, 15 ° C ad una polarità normale di 15 kV.

Il termine elettroforesi indica la migrazione differenziata di molecole elettricamente cariche all'interno di un campo elettrico, è noto che molte molecole di interesse biologico e farmaceutico possiedono gruppi ionizzabili, così che queste possono esistere in soluzione sia come cationi che come anioni. L'apparecchiatura è composta da un capillare di silice fusa di diametro molto piccolo, contenente un tampone appropriato, le cui estremità pescano in due serbatoi separati, contenenti due elettrodi, responsabili della generazione del campo elettrico. Il funzionamento è il seguente: una piccola quantità di soluzione contenente il campione (solitamente 5-30nl) viene introdotta dall'estremità anodica di un capillare in silice fusa contenente un tampone appropriato. L'introduzione si ha applicando una differenza di pressione fra le estremità del capillare, mentre la separazione viene applicato una differenza di potenziale tra le due estremità del capillare. Le molecole del campione cominciano quindi a migrare con velocità differenti lungo il capillare e la migrazione elettroforetica vede lo spostamento dei cationi (+) verso il catodo (-), mentre gli anioni(-) si muovono verso l'anodo(+). La corsa elettroforetica degli analiti viene monitorata mediante U.V.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

L'operatore era all'oscuro delle caratteristiche cliniche della popolazione oggetto di studio.

VALUTAZIONI STRUMENTALI

ATEROSCLEROSI SUBCLINICA:

VALUTAZIONE DELLO SPESSORE INTIMA-MEDIA CAROTIDEO (IMT)

Per tutti i soggetti reclutati è stato misurato lo spessore mio-intimale medio e lo spessore mio-intimale massimo a livello carotideo. Lo studio ultrasonografico della carotide è stato eseguito utilizzando un ecografo Toshiba Sonolayer SSA-270, dotato di sonda lineare da 7.5 MHz. A soggetto in posizione supina e collo in leggera iperestensione, si sono identificati la carotide comune, il bulbo carotideo e le porzioni extracraniche della carotide interna ed esterna. Sono stati registrati tre valori a livello della carotide destra e della carotide sinistra in tre segmenti carotidei (carotide comune, bulbo e carotide interna). I tracciati Mmode della porzione distale dell'arteria carotide comune, ad un centimetro dal bulbo carotideo, guidati dall'immagine bidimensionale con il contemporaneo tracciato ECG, consentono la misurazione dello spessore medio intinale, l'individuazione di placche e lo studio della motilità parietale. Dalle misurazioni effettuate (3-5) cicli è stata calcolata la media.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Un valore massimo di spessore mio-intimale uguale o superiore a 0.85 mm viene considerato come ispessimento mio-intimale. Lo spessore parietale relativo dell'arteria è stato calcolato secondo la formula:

$$2 \times \text{spessore della parete lontana in telediastole} / \text{diametro telediastolico}$$

Sono state effettuate scansioni di entrambe le carotidi per identificare la presenza e le dimensioni di placche aterosclerotiche.

Sono state considerate placche le lesioni caratterizzate da ispessimento focale che superasse di almeno il 50% lo spessore del complesso medio-intimale contiguo. Le misurazioni dello spessore della parete arteriosa non sono mai state ottenute a livello di placche aterosclerotiche.

Tutte le misurazioni sono state eseguite dallo stesso operatore che era all'oscuro delle caratteristiche cliniche della popolazione oggetto dello studio

DISFUNZIONE ENDOTELIALE:

VASODILATAZIONE FLUSSO MEDIATA DELL'ARTERIA BRACHIALE

(FMV)

In tutti i soggetti è stata studiata l'arteria brachiale destra. Prima di eseguire la tonometria dell'arteria brachiale è stata rilevata la pressione arteriosa brachiale con sfigmomanometro convenzionale modello Riva-Rocci. Sono state rilevati tre valori pressori a distanza di cinque minuti

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA' ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL'ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

l'uno dall'altro e il valore di riferimento considerato è stato quello risultante dalla media delle ultime due rilevazioni pressorie.

L'ECG è stato monitorato per tutta la durata dell'esame e il diametro dell'arteria è stato misurato al termine della diastole (in concomitanza con l'inizio del complesso QRS sul tracciato dell'ECG). Per ciascuna valutazione sono stati esaminati tre cicli cardiaci e il valore registrato è stato ottenuto dalla media delle tre determinazioni. I pazienti e i controlli sono stati valutati in posizione supina con il braccio disteso dopo aver riposato sdraiati per almeno 10 minuti. L'arteria brachiale è stata visualizzata in scansione longitudinale approssimativamente 5 cm al di sopra della fossa ante-cubitale. Si sono quindi ottenute due immagini al basale. Successivamente il manicotto della pressione, posizionato intorno al braccio 5 cm al di sopra della zona oggetto della scansione, è stato gonfiato fino ad una pressione di 200mm per 5 minuti. Il manicotto è stato quindi sgonfiato determinando un'iperemia reattiva che ha quindi causato un aumento dello stress di parete e una dilatazione dell'arteria brachiale. Le immagini così ottenute sono state videoregistrate per 5 minuti iniziando un minuto dopo aver sgonfiato il manicotto. Dopo ulteriori 10 minuti di riposo, è stata somministrata una dose singola di nitroglicerina sublinguale (0,4 mg, equivalente ad un puff di Natispray) ed è stato registrato il diametro dell'arteria brachiale per 3 minuti al fine di valutare la vasodilatazione endotelio-indipendente.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA' ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL'ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

La vasodilatazione flusso-mediata (FMV) e la vasodilatazione endotelio-indipendente sono state espresse come modificazione percentuale rispetto al, valore basale.

Tutte le misurazioni sono state eseguite dallo stesso operatore che era all'oscuro delle caratteristiche cliniche della popolazione oggetto dello studio.

RIGIDITÀ ARTERIOSA:

TONOMETRIA D'APPLANAZIONE DELL'ARTERIA RADIALE

L'arteria radiale sinistra è stata appianata con una sonda ad alta fedeltà (Millar pressure tonometer, PWV Medical, Sydney, Australia) e l'onda pressoria rilevata è stata registrata con un sistema computerizzato di analisi dell'onda (SphygmoCor, PWV Medical, Sydney, Australia). L'onda periferica analizzata è la risultante di 10-12 derivazioni e da questa è stata derivata l'onda pressoria centrale. Successivamente il sistema di analisi dell'onda computerizzata ha permesso di ottenere i valori di augmentation index (Aix), l'integrale pressione sistolica e diastolica-tempo e il tempo di ritorno al centro dell'onda riflessa (tempo di transito). Aix è definito come la differenza tra il secondo (cioè quello aumentato in condizioni di rigidità arteriosa) ed il primo picco sistolico, espressa in percentuale sulla pressione pulsatoria. Per l'analisi statistica è stata utilizzata una media di due letture.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITÀ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL'ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

La tonometria per appianazione si basa sul principio che nel momento in cui il trasduttore appiana la superficie curva di un vaso, si crea un equilibrio tra gli stress intraluminali che agiscono sulla parete del vaso e la forza che agisce sul vaso stesso. Il tonometro incorpora sulla sua punta un micromanometro di tipo piezoelettrico, inserito in un materiale ceramico rigido, fissato ad una estremità e libero di muoversi dall'altra che protrude sulla superficie del manometro. Movimenti dell'estremità libera determinano una deformazione del materiale, che si traduce in una modificazione della resistenza elettrica proporzionale alla deformazione subita. L'appianamento della superficie curva dell'arteria, bilanciando lo stress circonferenziale della sua parete, consente una accurata registrazione della pressione interna. La morfologia dell'onda pressoria è strettamente corrispondente a quella ottenuta dalla registrazione intra-arteriosa .

L'applicazione di una funzione di trasferimento generalizzata, validata alla forma d'onda pressoria periferica consente di derivare la forma d'onda a livello dell'aorta ascendente. Successivamente dalla analisi della forma dell'onda pressoria carotidea e dei valori di pressione arteriosa periferica vengono derivati gli ulteriori parametri emodinamici carotidei.

Tutte le misurazioni sono state eseguite dallo stesso operatore che era all'oscuro delle caratteristiche cliniche della popolazione oggetto dello studio.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA' ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL'ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

ANALISI STATISTICA

L'analisi dei dati è stata condotta con il software SPSS (Version 11.1; SPSS Inc, Chicago, Ill). È stata considerata significativa una p per test a due code inferiore a 0,05.

La normalità della distribuzione dei dati è stata valutata con l'*1-sample Kolmogorov-Smirnov test* e l'uniformità della varianza (eteroscedasticità) è stata valutata con il test di *Levine*. Per le variabili che presentavano una distribuzione non normale (omocisteina, VES, PCR e folati) si è proceduto alla trasformazione logaritmica (\log_{10}) dei dati. I valori sono stati presentati come medie \pm DS per le variabili con distribuzione normale e come mediana (range interquartile, IQR) per le variabili con distribuzione non normale. Il test *t di Student* a due code per dati indipendenti è stato impiegato per il confronto delle medie tra i due gruppi nel caso di uguale varianza e il *Mann Whitney U-test* nel caso di diversa varianza.

Il gruppo dei casi inoltre è stato suddiviso in due sottogruppi in funzione della terapia con inibitori del TNF-alpha. Le variabili con distribuzione normale sono state confrontate tra i tre gruppi così ottenuti (controlli, casi in terapia con anti-TNF-alpha e casi non in terapia con anti-TNF-alpha) con la *one-way ANOVA analysis*. Nel caso di significativa differenza tra le medie intergruppo l'analisi post-hoc è stata condotta con il *Tukey's*

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

honestly significant difference test. Per il confronto delle proporzioni è invece stato impiegato il test di χ^2 .

Per l'analisi delle correlazioni bivariate tra variabili è stato calcolato il coefficiente di correlazione ρ di *Pearson* nel caso di variabili con distribuzione normale e il coefficiente di correlazione di *Spearman* nel caso di variabili con distribuzione non normale.

La regressione multipla lineare con *stepwise method* è stata impiegata nel gruppo dei pazienti con SA per valutare il valore di predizione delle singole variabili demografiche, cliniche e di laboratorio. Sono state inserite nel modello di regressione lineare multipla le variabili indipendenti che mostravano una correlazione bivariata con significatività pari a $p < 0,1$.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

RISULTATI

PAZIENTI E CONTROLLI

Sono stati studiati 17 pazienti affetti da SA e 17 controlli incrociati per età (± 5 anni), sesso e fattori di rischio cardiovascolare maggiori (fumo, ipertensione, diabete, dislipidemia). L'età media dei pazienti con SA era di 39 ± 11 anni (range 20-58) e la durata media di malattia di 114 ± 108 mesi (range 12-360). I parametri antropometrici, di laboratorio, la terapia e gli indici di attività di malattia dei pazienti con SA sono sintetizzati nella TABELLA I.

Non esistevano tra i due gruppi differenze significative per quanto riguarda i parametri antropometrici: in particolare era presente una sostanziale equivalenza dell'indice di massa corporea (BMI) (26 ± 4.4 nei pazienti *vs* 24 ± 4 nei controlli, $p = 0.1$). Il profilo lipidico dei casi e dei controlli è risultato sovrapponibile (colesterolo totale 167.94 ± 28.12 mg/dl nei casi *vs* 178.82 ± 32.25 mg/dl nei controlli, $p = 0.3$; colesterolo HDL 48.53 ± 9.52 mg/dl nei casi *vs* 56.12 ± 15.32 mg/dl nei controlli, $p = 0.09$; colesterolo LDL 107.06 ± 27.39 mg/dl nei casi *vs* 109.71 ± 23.14 mg/dl nei controlli, $p = 0.7$). I pazienti affetti da SA non hanno inoltre mostrato valori più elevati di insulino-resistenza basale, calcolata con il modello HOMA, rispetto ai controlli (IRI-HOMA 10 ± 3.2 nei pazienti *vs* 8.62 ± 2.98 nei controlli, $p = 0.2$). La funzione renale espressa come GFR

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

stimato non mostrava significative differenze nel gruppo dei pazienti rispetto a quello dei controlli (120 ± 26 ml/min/1.73 m² nei casi vs 104 ± 30 ml/min/1.73 m² nei controlli, $p = 0.1$).

Due pazienti in ciascun gruppo risultavano affetti da ipertensione arteriosa e solo un paziente nel gruppo di controllo assumeva la statina. Come da protocollo, alla raccolta della storia clinica e alla valutazione della documentazione clinica non risultavano precedenti eventi cardiovascolari e/o cerebrovascolari.

I dati demografici, clinici e di laboratorio sono sintetizzati nella TABELLA II.

ADMA, SDMA E OMOCISTEINA

I livelli dell'ADMA sono risultati significativamente più elevati nei pazienti affetti da SA rispetto ai controlli (0.65 ± 0.10 μmoli/L nei casi vs 0.54 ± 0.07 μmoli/L nei controlli, $p = 0.001$). Al contrario i livelli della SDMA (0.36 ± 0.07 μmoli/L nei casi vs 0.42 ± 0.09 μmoli/L) e dell'omocisteina [$7.023(6.190-10.064)$ nei casi vs $9,846(7,765- 11,775)$ nei controlli] sono risultati significativamente più elevati nei controlli ($p = 0.046$ e 0.011 rispettivamente). I livelli medi di arginina (precursore dell'ADMA e della SDMA) non risultavano differenti nei due gruppi (74.3 ± 15.5 μmoli/L nei casi vs 70.1 ± 11.7 μmoli/L nei controlli, $p =$

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

0.3). L'analisi della varianza (ANOVA) nel gruppo di controllo e nei sottogruppi dei casi in funzione della terapia con inibitori del TNF-alfa, non ha dimostrato differenze significative della concentrazione plasmatica di ADMA in relazione alla terapia (TABELLA III). Nel gruppo dei pazienti è stata dimostrata una correlazione bivariata ADMA e Aix ($p = 0.032$). L'analisi di regressione non ha mostrato una correlazione lineare tra le due variabili suddette ($R = 0.3, p = 0.2$). Nel totale della popolazione studiata l'ADMA ha dimostrato una correlazione inversa con la creatinina plasmatica ($R = 0.5, p = 0.003$), ma nessuna correlazione con la funzione renale stimata con il GFR (GRAFICO I). Inoltre, sempre nel campione complessivo, era presente un'associazione bivariata significativa tra l'ADMA, l'Aix, la VES, la PCR e la creatinina plasmatica. L'analisi di regressione lineare multipla inserendo come variabili predittrici "Aix, VES, PCR e creatinina" ha dimostrato che un modello comprendente VES e livelli plasmatici di creatinina rendeva ragione di circa il 30% della variazione dei livelli plasmatici di ADMA nella popolazione complessiva ($R = 0.751, R^2 = 0.564, \Delta R^2 = 0.289, F = 0.529, p = 0.000$) (TABELLA IV).

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA' ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL'ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

IMT

Lo spessore medio mio-intimale dei pazienti con SA è risultato sovrapponibile a quello dei controlli (mIMT 0.64 ± 0.1 mm nei casi vs 0.67 ± 0.10 mm nei controlli, $p = 0.5$).

Inoltre non vi erano differenze nel mIMT nei pazienti trattati con inibitori del TNF- α rispetto ai soggetti non trattati (mIMT 0.66 ± 0.09 mm nei pazienti in terapia con anti-TNF- α vs 0.62 ± 0.1 mm nei pazienti che non venivano trattati con inibitori del TNF- α , $p = 0.6$) (TABELLA III).

Nella popolazione generale lo spessore mio-intimale medio è risultato essere correlato in maniera lineare con l'età dei soggetti ($R = 0.528$, $p = 0.001$) e con l'AP ($R = 0.376$, $p = 0.029$).

Il modello di regressione multipla costruito inserendo entrambe le variabili indicava l'età come predittore più solido delle variazioni del mIMT ($R = 0.528$, $R^2 = 0.279$, $\Delta R^2 = 0.17$, $F = 12.4$, $p = 0.001$) (GRAFICO II- TABELLA V).

Restringendo l'analisi bivariata ai casi, lo spessore mio-intimale è risultato associato con AP ($r = 0.572$, $p = 0.016$), età dei pazienti ($r = 0.53$, $p = 0.026$), abitudine al fumo ($r = 0.615$, $p = 0.009$) colesterolo totale ($r = 0.589$, $p = 0.013$), colesterolo LDL ($r = 0.535$, $p = 0.027$),

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

BASMI ($r = 0.490$, $p = 0.046$), BASDAI ($r = 0.519$, $p = 0.033$), BASFI ($r = 0.643$, $p = 0.005$), HAQs ($r = 0.617$, $p = 0.008$) (TABELLA VI).

Inserendo nel modello di regressione lineare multipla le suddette variabili l'analisi con metodo *stepwise backward* ha identificato l'AP e il fumo ($R = 0.822$, $R^2 = 0.676$, $\Delta R^2 = -0.059$, $F = 14.6$, $p = 0.000$) come predittori indipendenti dei valori di IMT nei pazienti con SA (TABELLA VI).

PRESSIONE CENTRALE E RIGIDITÀ ARTERIOSA

Dal confronto tra casi e controlli non sono emerse differenze significative negli indici di rigidità arteriosa. L'AP, ovvero il contributo pressorio, valutato in termini assoluti, dell'onda riflessa al picco di pressione sistolica in aorta, è risultato lievemente minore nei pazienti con SA rispetto alla popolazione di controllo, ma tale differenza non aveva significatività statistica (AP pari a 6.8 ± 4.9 mm Hg nei casi *vs* 8.4 ± 6.3 mm Hg nei controlli, $p = 0.4$). Allo stesso modo, il valore dell'Aix che esprime il contributo pressorio dell'onda retrograda in termini percentuali rispetto al valore pressorio sistolico in aorta, non era differente nei due gruppi di pazienti (Aix pari a 23 ± 27 % nei pazienti con SA *vs* 19.2 ± 18.3 % nei controlli, $p = 0.6$). L'analisi della varianza per gruppi non ha

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITÀ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL'ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

dimostrato differenze significative dell'AP e dell'Aix in funzione della terapia con TNF- α .

Il valore dell'AP è risultato come detto in precedenza un predittore solido dello spessore mio-intimale medio nella popolazione complessiva dello studio e nei pazienti con SA. Inoltre all'analisi bivariata condotta nella popolazione complessiva, l'AP ha dimostrato una correlazione significativa con l'età dei soggetti ($r = 0.524, p = 0.001$), con i livelli di colesterolo totale ($r = 0.417, p = 0.014$) e LDL ($r = 0.363, p = 0.035$) e con la presenza di elevati valori pressori [$r = 0.474, p = 0.05$] - (AP $14,75 \pm 3.59$ mm Hg nei soggetti ipertesi *vs* 6.7 ± 5.92 nei soggetti normotesi, $p = 0.006$).

L'analisi di regressione lineare multipla inserendo nel modello come variabili predittive dell'AP nella popolazione complessiva il mIMT, l'età, il colesterolo totale, il colesterolo LDL e la presenza di ipertensione ha indicato come questi ultimi con la sola eccezione dell'IMT siano solidi predittori della AP ($R = 0.654, R^2 = 0.428, \Delta R^2 = 0.349, \Delta R^2 = -0.007, F = 5.423, p = 0.002$) (TABELLA VII). La AP nel gruppo dei pazienti con SA è risultata associata, all'analisi bivariata, con la cisteina ($r = 0.639, p = 0.006$), con il mIMT ($r = 0.449, p = 0.042$), con l'età dei soggetti ($r = 0.577, p = 0.015$), con il colesterolo totale ($r = 0.754, p = 0.000$), con il colesterolo LDL ($r = 0.673, p = 0.03$) e con la presenza di ipertensione ($r = 0.509, p = 0.037$). All'analisi di regressione multipla il modello che prediceva in maniera più significativa l'incremento della AP

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA' ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL'ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

comprendeva i livelli di cisteina e il colesterolo totale ($R = 0.878$, $R^2 = 0.771$, $AR^2 = 0.738$, $\Delta R^2 = -0.024$, $F = 23.58$, $p = 0.000$) (TABELLA VIII).

L'Aix è risultato associato con l'età dei soggetti nel campione complessivo ($r = 0.460$, $p = 0.006$) Nei pazienti affetti da SA l'Aix è risultato associato con l'SDMA ($r = 0.511$, $p = 0.006$) e l'analisi di regressione ha mostrato una correlazione lineare tra le due variabili ($R = 0.511$, $R^2 = 0.261$, $AR^2 = 0.212$, $\Delta R^2 = 0.261$, $F = 5.304$, $p = 0.036$).

DISFUNZIONE ENDOTELIALE

Non sono state osservate differenze significative tra i casi e i controlli anche per quanto riguarda la funzione endoteliale, valutata ecograficamente come entità della risposta iperemica dell'arteria radiale alla compressione (FMD $13.1 \pm 4.7\%$ nei casi *vs* $14.4 \pm 6.9\%$ nei controlli, $p = 0.5$), in termini assoluti e in rapporto alla vasodilatazione indotta da nitrati (FMD/NMD ratio $68.8 \pm 21.7\%$ nei casi *vs* $66.3 \pm 25.4\%$ nei controlli, $p = 0.7$) Non è stata riscontrata inoltre nessuna differenza significativa per la FMD, all'analisi ANOVA, in rapporto alla terapia con inibitori del TNF- α

Nel gruppo complessivo dei soggetti esaminati la FMD e il rapporto FMD/NMD sono risultati significativamente ridotti nei pazienti fumatori ($11.2 \pm 4\%$ nei fumatori *vs* $21 \pm 5.2\%$ nei non fumatori, $p = 0.036$ per la

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA' ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL'ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

FMD e $57.6 \pm 18.7\%$ nei fumatori vs $74.5 \pm 24.1\%$ nei non fumatori, $p = 0.036$ per il rapporto FMD/NMD) (TABELLA IX).

Mentre nei pazienti con SA questa differenza è risultata significativa solo per il rapporto FMD/NMD (51.5 ± 10.7 nei fumatori vs 80.8 ± 19.2 nei non fumatori, $p = 0.002$).

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

DISCUSSIONE

I pazienti affetti da SA presentano un'aspettativa di vita ridotta rispetto alla popolazione generale in relazione a un incremento della mortalità per eventi cardiovascolari.

L'impegno cardiovascolare tipico della malattia (aortite, insufficienza valvolare aortica e turbe della conduzione) e l'incidenza dei tradizionali fattori di rischio vascolare globale non sono però sufficienti a spiegare tale eccesso di morbilità e mortalità.

La dimostrazione che il processo aterosclerotico, a parità di score di rischio, risulta più accelerato nei pazienti affetti da differenti malattie reumatiche (LES, AR) fa ritenere che meccanismi correlati all'alterazione del processo immunitario e alla regolazione della flogosi svolgano un ruolo importante nel controllo dello stato di salute vascolare.

Si è peraltro raggiunta una considerevole sicurezza nel ritenere l'infiammazione sistemica uno dei fattori determinanti della riduzione della risposta vasodilatatrice e dell'acquisizione di un fenotipo endoteliale pro-trombotico.

La disfunzione endoteliale è stata infatti dimostrata in maniera convincente in pazienti con malattie reumatiche in fase precoce, tanto da essere considerata una spia sensibile dell'impegno vascolare infiammatorio e dell'attività di malattia. Si ritiene che in questi soggetti i livelli delle citochine pro-infiammatorie, le alterazioni dell'assetto coagulativo e la riduzione della riserva riparativa endoteliale (testimoniata dai ridotti livelli

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

dei progenitori delle cellule endoteliali) siano responsabili dell'alterazione della funzione endoteliale.

In maniera particolare la riduzione della disponibilità dell'ossido nitrico, mediatore centrale della funzione endoteliale, sembra essere causa delle modificazioni che conducono al danno aterosclerotico precoce, al mantenimento e alla evoluzione della placca.

L'enzima responsabile della sintesi dell'ossido nitrico (eNOS, nitrossido sintetasi endoteliale) risente dell'influenza di numerosi stimoli sia in acuto che in cronico. Nell'ultimo decennio, si è dimostrato che i livelli plasmatici di un inibitore endogeno della eNOS, l'ADMA, sono strettamente correlati ai fattori di rischio cardiovascolare tradizionali ed emergenti, predicono in maniera estremamente sensibile l'incidenza degli eventi cerebro- e cardiovascolari e sembrano avere un significato importante nella definizione prognostica.

L'elevazione dell'ADMA è stata infatti dimostrata in numerosi *setting* clinici, quali l'IRC, il diabete, l'ipertensione arteriosa e l'iperomocisteinemia, che sono gravati da un'elevata incidenza di eventi cardiovascolari.

Inoltre l'ADMA sembra essere correlata in maniera diretta con altri indicatori vascolari (come lo spessore mio-intimale), che vengono solitamente impiegati per la stratificazione del rischio cardiovascolare. In uno studio prospettico a sei anni (Furuki K et al. 2008), condotto su 700 pazienti senza malattie cardiovascolari, si è dimostrato che i livelli di

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

ADMA sono i soli predittori della progressione dello spessore miointimale.

Recentemente è stato dimostrato nei pazienti affetti da AR, esenti da fattori di rischio aterosclerotico e vascolare, un incremento dei livelli plasmatici medi di ADMA rispetto a una popolazione di controllo. In maniera estremamente suggestiva tale incremento era strettamente correlato con la riduzione della riserva riparatrice endoteliale.

Tale osservazione permetterebbe di ipotizzare la possibilità che, nei soggetti affetti da uno stato di infiammazione sistemica, come caratteristicamente si verifica nei pazienti con AR, esistano delle vie ancora non completamente chiarite che conducono precocemente a danno vascolare. Per la prima volta i nostri dati dimostrano che i pazienti affetti da SA condividono con i pazienti affetti da AR questo profilo di rischio. Abbiamo infatti dimostrato nel nostro gruppo di soggetti affetti da SA, rispetto al gruppo di controllo, una elevazione, indipendente dai fattori di rischio aterosclerotico, dei livelli plasmatici di ADMA.

Il riscontro di iperomocisteinemia è oggi considerato un valido predittore di mortalità cardiovascolare e un mediatore di danno vascolare. Evidenze in modelli animali sperimentali e *in vivo* nell'uomo dimostrano che i livelli di omocisteina plasmatica sono inversamente associati con la disponibilità dell'ossido nitrico. Secondo alcuni Autori l'omocisteina regolerebbe l'attività della PRMT-I e della DDAH determinando così un incremento dei livelli di ADMA e di conseguenza una riduzione dei livelli di NO.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Wei JC et al. nel 2007, hanno dimostrato, in pazienti affetti da SA, livelli aumentati di omocisteina rispetto ai controlli. Tale aumento risultava in diretta correlazione con la terapia assunta e in maniera inversa con i livelli di ac. folico e vitamina B12.

Recentemente in uno studio più numeroso (Gonzales-Lopez et al., 2008), si è evidenziata, nei pazienti con SA, una relazione significativa tra gli alti livelli plasmatici di omocisteina, lo score di disabilità (HAQs) e i livelli di VES. Nello stesso studio non si dimostrava alcuna relazione con la terapia assunta.

Nel nostro campione abbiamo invece rilevato livelli di omocisteina significativamente più elevati nei controlli rispetto ai pazienti. Si può ritenere che, nei soggetti affetti da SA, altri fattori, indipendenti dalla via dell'omocisteina, siano in grado di determinare un incremento dell'ADMA. Abbiamo poi analizzato i livelli di ADMA dei nostri pazienti, dividendoli in due sottogruppi a seconda che assumessero o no la terapia con inibitori del TNF-alfa; l'analisi della varianza (ANOVA) non ha tuttavia dimostrato alcuna differenza dei valori dell'ADMA in funzione di questa terapia.

L'analisi del campione complessivo ha mostrata una correlazione inversa tra l'ADMA ed i valori di creatinina plasmatici, ma nessuna correlazione con la funzionalità renale misurata con il GFR. Questo dato è in apparente contraddizione con i dati della letteratura. Nel 1992 Vallance et al, mettevano in evidenza un aumento significativo dei valori di ADMA in

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

pazienti affetti da insufficienza renale e correlavano tale dato con un aumentato rischio cardiovascolare legato all'inibizione dell'NO. Anche gli studi più recenti confermano un aumento dei livelli di ADMA correlati con una peggiore funzionalità renale.

I pazienti con SA vanno incontro ad aterosclerosi precoce; i recenti progressi nelle tecniche ultrasonografiche hanno reso possibile la scoperta delle lesioni precoci dell'aterosclerosi che predicono la malattia ischemica cardiaca. Un metodo non invasivo per valutare tali lesioni è rappresentato dalla misurazione dello spessore mio-intimale (IMT) delle arterie carotidi comuni.

Nella nostra popolazione di studio, non abbiamo rilevato delle differenze significative nelle misure dello spessore mio-intimale; inoltre non vi erano differenze tra i pazienti trattati con inibitori del TNF-alfa e quelli non trattati con tali farmaci. I dati presenti in letteratura, riguardo l'IMT nei pazienti con SA sono pochi e non chiari. Sari T et al. (2006) non hanno evidenziato differenze statisticamente significative nei due gruppi per quanto riguarda lo spessore mio-intimale; l'IMT risultava invece correlato positivamente con l'età e con il BASMI dei pazienti.

Recentemente Jung-Yoon Choe et al. hanno esaminato l'IMT e altri parametri di elasticità arteriosa della carotide in 28 giovani pazienti affetti da SA, esenti da fattori di rischio cardiovascolare classici, confrontandoli con 27 controlli; i risultati dello studio non hanno evidenziato valori di IMT significativamente più elevati nei pazienti rispetto ai controlli; al

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA' ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL'ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

contrario un *trend* di significatività per un più precoce ispessimento mio-intimale è stato dimostrato in uno studio più numeroso (Mathieu S. et al., 2008), nel quale gli Autori dimostravano anche una riduzione, tendente alla significatività, della rigidità arteriosa definita come Aix.

È noto che l'incremento della rigidità arteriosa a livello della aorta è un predittore affidabile di mortalità cardiovascolare. Negli studi di valutazione delle terapie antiipertensive e, secondo alcuni Autori, anche nella pratica clinica, la misurazione della pressione centrale dovrebbe sostituire quella della misurazione periferica come indicatore di efficacia farmacologica, in quanto indice più reale del post-carico cardiaco. In generale inoltre la misurazione della pressione centrale con metodiche di facile ripetibilità, come la tonometria dell'arteria radiale, fornisce informazione fruibile e immediata nella stima del danno aterosclerotico e nella stratificazione del rischio. Dal nostro studio non sono emerse differenze significative riguardo la rigidità arteriosa tra il gruppo dei pazienti ed i controlli indipendentemente dalla terapia e dalla attività di malattia e dagli indici di flogosi. Di un certo interesse è anche il dato che mostra che, nei pazienti studiati, i livelli di ADMA risultavano associati, anche se non in maniera lineare, con gli incrementi dell'Aix. Numerosi studi in letteratura hanno rivalutato il peso che la disfunzione endoteliale potrebbe giocare nel determinismo della *stiffness* arteriosa. Recentemente è stato dimostrato che l'impiego di farmaci antiipertensivi che migliorano la funzione endoteliale, valutata come disponibilità di ossido nitrico, sono

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

in grado di rallentare la catena degli eventi che portano dall'incremento della rigidità arteriosa alla riduzione della funzione cardiaca, passando per l'incremento del post-carico e l'ipertrofia miocardica.

Nei nostri pazienti affetti da SA come è lecito attendersi, la rigidità arteriosa stimata come AP, ha dimostrato una forte associazione con l'età dei soggetti e i valori pressori. Risulta invece suggestivo il dato dell'associazione della rigidità arteriosa con i valori di colesterolemia. A questo riguardo va sottolineato che in uno dei primi studi pubblicati sull'argomento (Saba PS et al, 1999), non si mettevano in luce differenze tra i normocolesterolemici ipertesi e gli ipercolesterolemici ipertesi in termini di spessore mio-intimale carotideo, *stiffness* carotidea e AIx. Studi successivi (Mizuguchi Y, Oishi Y, et al 2008; Dilaveris P, Giannopoulos G et al 2007; Kilkman I, Cockcroft JR et al 2007), hanno invece dimostrato che nei pazienti con ipercolesterolemia vi è un' aumentata rigidità arteriosa e che la terapia con le statine migliora tale parametro, non solo attraverso una riduzione dei livelli di colesterolo, ma verosimilmente anche in virtù del noto effetto pleiotropico (riduzione della flogosi, attività antiossidante) tipico di tali farmaci.

Nel nostro studio non abbiamo trovato alcuna differenza tra i pazienti ed i controlli per quanto riguarda la vasodilatazione flusso mediata (FMD) e non abbiamo rilevato alcuna differenza significativa di tale parametro rispetto all'assunzione della terapia con inibitori del TNF-alfa.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

L'unico studio che analizza la FMD come marker di disfunzione endoteliale in pazienti affetti da SA, è stato effettuato da Sari T. et al (2006). Gli autori non evidenziarono alcuna differenza tra i pazienti ed i controlli per quanto riguardava lo spessore intima-media, ma dimostrarono una diminuzione significativa della vasodilatazione flusso-mediata nei pazienti affetti da SA. Inoltre nei pazienti studiati, l'impiego dei farmaci anti-TNF-alfa non sembrava influire sulla capacità vasodilatatoria dell'arteria brachiale, similmente a quanto riportato da altri Autori (Mathieu S., 2008). È noto che l'uso cronico di nicotina influenza la risposta iperemica allo stimolo ipossico: Zeiter AM et al.(1995), in uno studio ormai datato, hanno mostrato come vi sia una significativa riduzione della FMD in soggetti fumatori che non presentino alterazioni coronariche angiograficamente evidenti rispetto al gruppo dei non fumatori.

Similmente anche nel nostro campione complessivo e nei pazienti affetti da SA, abbiamo dimostrato una riduzione della FMD assoluta e in rapporto a quella farmaco indotta, nei soggetti fumatori rispetto ai non fumatori.

Complessivamente nei pazienti affetti da SA, in accordo con il dato strutturale dello spessore mio-intimale, la risposta di vasodilatazione e la rigidità arteriosa non appaiono mostrare significative differenze qualitative e quantitative rispetto al gruppo di controllo. Al contrario i livelli di ADMA, in maniera indipendente dai livelli della flogosi e dalla attività di

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

malattia, dimostrano una significativa e spiccata tendenza all'elevazione nei pazienti affetti da SA.

CONCLUSIONI

L'analisi dei dati derivanti dal nostro studio, pur con i limiti legati al disegno osservazionale e allo scarso potere statistico, suggerisce per la prima volta il ruolo dell'elevazione dell'ADMA come spia e/o mediatore di danno vascolare nei pazienti affetti da SA. Tale incremento non trova giustificazione nelle alterazioni del metabolismo della cisteina, né pare associato ad un impegno aterosclerotico precoce.

Sono necessari studi prospettici per valutare il peso dell'elevazione dell'ADMA nel determinismo degli eventi cardiovascolari nei pazienti affetti da SA e l'utilità della sua determinazione, per la stratificazione prognostica e la definizione dell'approccio terapeutico.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA' ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL'ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Bibliografia di riferimento

- Adji A, O’rourke MF. Determination of central aortic and pulse pressure from the radial artery pressure waveform. *Blood Press Monit* 2004; 9:115-121.
- Agewall S. Is impaired flow-mediated dilatation of the brachial artery a cardiovascular risk factor? *Curr Vasc Pharmacol* 2003; 1:107-9.
- Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulation. *J Am Coll Cardiol*. 1995; 26:1235-1241.
- Bal A, Unlu E, Bahar G, et al. Comparison of serum IL-1 β , IL-2, IL-6, and TNF- α levels with disease activity parameters in ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol* 2007; 26: 211-5
- Belcaro G, Nicolaidis AN, Laurora G et al. Ultrasound morphology classification of the arterial wall and cardiovascular events in a 6 years Follow-up study. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 851-856.
- Boger RH. The emerging role of ADMA as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovasc Res* 2003; 59: 824-33.
- Bond MG, Barnes RW, Wiley WA, Wilmoth SK, Chambless LE, Howard G et al 1991. High-resolution B-mode ultrasound reading

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

- metodos in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) cohort. The ARIS study Group. *J Neuroimaging* 1:68-73.
- Braun J, Pham T, Sieoer J, et al. ASAS Working GROUP. International ASAS consensus statement for the use of anti-tumour necrosis factor agents in patints with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:817-24.
 - Braun J, Bollow M, Remlinger G, et al. Prevalence of spondyloarthropaties in HLA-B27 positive and negative blood donors. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 58-67.
 - Calin A, Garrett S, Whitelock H, Kennedy LG, O’Hea J, Mallorie P, et al. A new approach to defining functional ability in ankylosing spondylitis: the development of the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index. *J Rheumatol* 1994; 21: 2281-5.
 - Caliskan M, Erdogan D, Gullu H, et al. Impaired coronary microvascular and left ventricular diastolic functions patients with ankylosing spondylitis. *Atherosclerosis* 2008;196: 306-12.
 - Celermajer DS et al. Non- invasive detection of endotelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 1111-1115
 - Chen CH, Nevo E, Fetics B et al. Estimation of central aortic pressure waveform by mathematical transformation of radial

· DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

tonometry pressure: validation of generalized transfer function. *Circulation* 1997;95:1827–1836.

- Chen X, Touyz RM, Park JB, Schifflin EC. Antioxidant effects of vit C and are associated with altered activation of vascular NADPH oxidase and superoxide dismutase in stroke-prone SHR. *Hypertension* 2001; 38:606-64.
- Chenglong Han, Don W, Robinson Jr, Monica V.Hackett, L Clark, et al. Cardiovascular disease and risk factors in patients with rheumatoid arthritis, psoritic arthritis, and ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 2006, 33:2167-72.
- Chirinos JA, Zambrano JP, Chakko S et al. Aortic pressure augmentation predicts adverse cardiovascular events in patients with established coronary artery disease. *Hypertension*. 2005; 45:980-985.
- Choi HK, Hernan MA, Seeger JD, Robins JM, Wolfe F. Methotrexate and mortality in patients with rheumatoid arthritis: a prospective study. *Lancet* 2002; 359: 1173-7.
- Corcetti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial dependent flow-mediated vasodilatation of the brachial artery: a report the international brachial artery reactivity task force. *J Coll. Cardiol* 2002; 39:257-265.

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

- Cooke JP, Tsao PS: Is NO an endogenous antiatherogenic molecule? *Arterioscler Thromb*;1994 14: 653-655,
- Daltroy LH, Lasron MG, Roberts WN, Liang MH. A modification of the Health Assessment Questionnaire for the spondyloarthropathies. *J Rheumatol* 1990; 17: 946-50.
- Divecha H, Sattar N, Rumley A, et al. Cardiovascular risk parameters in men with ankylosing spondylitis in comparison with non-inflammatory control subjects: relevance of systemic inflammation. *Clin Sci (London)* 2005; 109:171-6
- Devereux RB, Vaeber B, Roman MJ. Conclusions on the measurement of arterial wall thickness: anatomic, physiologic and methodologic considerations. *J Hypertension* 1992;10 (suppl 6): S119-S121.
- Darné B, Girerd X, Safar M et al. Pulsatile versus steady component of blood pressure: a cross-sectional and prospective analysis on cardiovascular mortality. *Hypertension* 1989;13:392-400.
- Divecha H, Sattar N, Rumley A, Cherry L, et al. Cardiovascular risk parameters in men with ankylosing spondylitis in comparison to non-inflammatory control subjects: relevance of systemic inflammation. *Clin Sci (London)* 2005; 109:171-6.

- Dilaveris P, Giannopoulos G, Riga M, Synetos A et al. Beneficial effects of statins on endothelial dysfunction and vascular stiffness. *Curr Vasc Pharmacol* 2007; 5(3): 227-237.
- Dogra G, Rich L, Stanton K et al. Endothelium dependent and independent vasodilatation studies at normoglycaemia in type I diabetes mellitus with and without microalbuminuria. *Diabetologia* 2001;44:593-601.
- Eklund KK. Mast cells in the pathogenesis of rheumatic diseases and as potential targets for anti-rheumatic therapy. *Immunol Rev* 2007;217:38-52.
- Fang J, Madhavan S, Cohen H, Alderman MH. Measures of blood pressure and myocardial infarction in treated hypertensive patients. *J Hypertens* 1995; 13:413-419.
- Fries JF, Spitz PW, Kraines RG, Holman HR. Measurement of patient outcome in arthritis. *Arthritis Rheum* 1980; 23: 137-45.
- Francois RJ, Neure L, Sieper J, et al. Immunohistological examination of open sacroiliac biopsies of patients with ankylosing spondylitis : detection of tumor necrosis factor α in two patients with early disease and transforming growth factor β in three more advanced cases. *Ann Rheum Dis* 2006; 65:713-20.
- Furuki K, Adachi H, Enomoto M, Otsuk M, et al. Plasma level of asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a predictor of carotid intima-media thickness progression: six years prospective study

- using carotid ultrasonography. *Hypertension Res* 2008;931(6): 1185-9.
- Garret S, Jenkison T, Kennedy LG, Whitelock H, Gaisford P, Calin A. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis. The Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity. *J Rheumatol* 1994; 21: 2286-91.
 - Gedikli O, Ozturk S, Ymaz H, Baykan M et al. Relationship between arterial stiffness and myocardial damage in patients with newly diagnosed essential hypertension. *Am J Hypertension* 2008,989-93.
 - Geroulakos G, O'Gorman DJ, Kalodiki E et al. The carotid intima-media thickness as a marker of severe symptomatic coronary artery disease. *Eur Heart J* 1994;15: 781-785.
 - Galkina E, Ley K. Vascular adhesion molecules in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:2292-301.
 - Gonzales-Lopez L, Sanchez-Hernandez JO, Aquilar-Chavez EA, et al. Hiperhomocysteinemia in ankylosing spondylitis : prevalence and association with clinical variable. *Rheumatol Int* 2008;28(12): 1223-1228.
 - Griending KK, Fitzgerald GA. Oxidative stress and cardiovascular injury. Part I: Basic mechanisms and in vivo monitoring of ros. *Circulation* 2003; 108:1912-1916

- Handa N, Matsumoto M, Maeda H et al. Ultrasonic evaluation of early carotid atherosclerosis. *Stroke* 1990;21:1567-1572.
- Hayashi T, Nakayama Y, Tsumura K et al. Reflection in the arterial system and the risk of coronary heart disease. *Am J Hypertens* 2002;15:405– 409.
- Jones SD, Steiner A, Garret SL, Calin A. The Bath ankylosing spondylitis patient global score (BAS-G). *Br J Rheumatol* 1996; 35: 66-71.
- Jenkinson TR, Mallorie PA, Whitelock HC, Kennedy LG, Garrett SL, Calin A. Defining spinal mobility in ankylosing spondylitis (AS): the Bath AS Metrology Index. *J Rheumatol* 1994; 21: 1694-8.
- Kannel WB, Stokes J. Hypertension as a cardiovascular risk factor. In: Robertson JIS,ed. *Handbook of hypertension: Epidemiology of hypertension*. Vol. 6. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science Publishing; 1985:15-34.
- Kim WJ, Kim H, Suk K, Lee WH. Macrophages express granzyme B in the lesion areas of atherosclerosis and rheumatoid arthritis. *Immunol Lett* 2007;111:57-65.
- Kilkinon I, Cockcroft JR, et al. Cholesterol, lipids and arterial stiffness. *Adv Cardiol* 2007; 44: 261-77.
- Klimiuk PA, Sierakowski S, Latosiewicz R et al. Soluble adhesion molecules (ICAM-1, VCAM-1, and E-selectin) and vascular

- endothelial growth factor (VEGF) in patients with distinct variants of rheumatoid synovitis. *Ann Rheum Dis* 2002;61:804-9.
- Kullo IJ, Gau GT, Tajik AJ. Novel risk factors for atherosclerosis. *Mayo Clin Proc* 2000; 75:369-80
 - Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R et al. Aortic stiffness is an independent predictor of allcause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension* 2001;37:1236- 1241.
 - London GM, Blacher J, Pannier B et al. Arterial wave reflections and survival in end-stage renal failure. *Hypertension* 2001;38:434–438.
 - Lehtinen K. Mortality and causes of death in 398 patients admitted to hospital with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 174-6.
 - Leiper J, Vallance P. Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res* 1999;43:542-8.
 - Lindstedt KA, Mäyränpää MI, Kovanen PT. Mast cells in vulnerable atherosclerotic plaques: a view to a kill. *J Cell Mol Med* 2007;11:739-58.
 - Malesci D, Niglio A, Mennillo GA, et al. High prevalence of metabolic syndrome in patients with ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol* 2007; 26:710- 4.

- Mattace-Raso FUS, van der Cammen TJM, Hofman A et al. Arterial stiffness and risk of coronary heart disease and stroke: the Rotterdam Study. *Circulation* 2006;113:657–663.
- Mathieu S, Joly H, Baron G, Journadre A, Dubost JJ et al. Trend towards increased arterial stiffness or intima-media thickness in ankylosing spondylitis patients without clinically evident cardiovascular disease. *Rheumatology* (Oxford) Aug 2008;47(8):1203-7
- Miyazaki A, Matsuoka H, Cooke JP. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor. A novel marker of atherosclerosis. *Circulation* 1999;99:1141-6.
- Mizuguchi Y, Oishi Y, Miyoshi et al. *Circ.J* 2008; 72: 538-44:
- Morrow DA, Ridker PM. C-reactive protein, inflammation, and coronary risk. *Med Clin North Am* 2000; 84: 149-61.
- Murgu JP, Westerhof N, Giolma JP et al. Aortic input impedance in normal man: relationship to pressure waveforms. *Circulation* 1980;62:105-116.
- Nagyhegyi G, Nadas I, Banyai F, Luzsa G, Geher P, Molnar J, et al. Cardiac and cardiopulmonary disorders in patients with ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1988; 6: 17-26.

- O'Rourke MF, Kelly RP: Wave reflection in the systemic circulation and its implication in ventricular function. *J Hypertension* 1993;11:327-337.
- Pauca A, O'Rourke M, Kon ND. Prospective evaluation of a method for estimating ascending aortic pressure from the radial artery pressure waveform. *Hypertension* 2001;38:932–937.
- Peters MJ, van der Horst-Brisma IE, Dijkmans BA, Nurmohamed MT. Cardiovascular risk profile patients with spondyloarthropathies, particularly ankylosing spondylitis and psoriatic arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 2004; 34:585-92.
- Radford EP, Doll R, Smith PG. Mortality among patients with ankylosing spondylitis not given X-ray therapy. *N Engl J Med* 1977; 11; 572-6.
- Rees DD, Palmer RM, Hodson HF, Moncada S. A specific inhibitor of nitric oxide formation from L-arginine attenuates endothelium-dependent relaxation. *Br J Pharmacol* 1989;96:418-424.
- Ricotta JJ, Bryan FA, Bond MG et al. Multicenter validation study of real-time (B-mode) ultrasound, arteriography, and pathologic examination. *J Vasc Surg* 1987;6:512-520.
- Ridker PM, Hennekes CH, Buring JE, Rifai NJ. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N. Engl J Med* 2000; 342:836-43.

- Roman MJ, Ganau A, Saba PS et al. Impact of arterial stiffening on left ventricular structure. *Hypertension* 2000 Oct;36:489-94.
- Roman MJ, Devereux RB, Kizer JR et al. Central pressure more strongly relates to vascular disease and outcome than does brachial pressure: the Strong Heart Study. *Hypertension* 2007;50:197-203.
- Saga J, Nakamura S, Nishioka K et al. Relationship between augmentation index and flow-mediated vasodilatation in the brachial artery. *Hypertension Res* 2008; 31(7): 1293-8.
- Saba PS, Roman J, Longhini C, Ganau A et al. Carotid intima-medial thickness and stiffness are not affected by hypercholesterolemia in uncomplicated essential hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19(11): 2788-94.
- Sari I, Okan T, Akar S, Cece H, Atay C, Secil M, et al. Impaired endothelial function in patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45:283-6
- Salonen JT, Salonen R: Arterial wall thickness, carotid atherosclerosis and the risk of myocardial infarction and cerebrovascular stroke. In "Intima media-thickness and atherosclerosis, predicting the risk" Touboul PJ, Crouse JR Eds. *The Partenon Publishing Group*. New York-London, 1996.
- Sattar N, McCarey DW, Capell H, McInnes IB. Explaining how “high-grade” systemic inflammation accelerates vascular risk in rheumatoid arthritis. *Circulation* 2003;108;2957-63.

- Siebenhofer A, Kemp CRW, Sutton AJ et al. The reproducibility of central aortic blood pressure measurements in healthy subjects using applanation tonometry and sphygmocardiography. *J Hum Hypertens* 1999;13:625– 629.
- Smith A, Karalliedde J, De Angelis L et al. Aortic pulse wave velocity and albuminuria in patients with type 2 diabetes. *J Am Soc Nephrol* 2005 Apr;16:1069-75.
- Surdacki A, Aksoyek S, Calguneri M, Oto A, Kes S. Echocardiographic evidence of cardiac involvement in ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol* 2002; 21: 129-34.
- Surdaki A, Lobenhoffer JM, Wloch A, Marewicz E, et al. Elevated Plasma Asymmetric Dimethyl-L- Arginine levels are linked to endothelial progenitor cell-depletion and carotid atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 2007. 56;(3) 809-819.
- Van Doornum S, McColl G, Wicks IP. Accelerated atherosclerosis: an extraarticular feature of rheumatoid arthritis? *Arthritis Rheum* 2002, 46, 862-73.
- Van der Wal AC, Becker AE, van der Loos CM et al. Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation* 1994;89:36–44.

· DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

- Van Der Linden SM, Vanlkeburg HA, et al. Evaluation of diagnosis criteria for ankylosing spondylitis: a proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum* 1984; 27; 361-8.
- Vazquez-Del MM, Garcia- Gonzales A, Munoz-Valle JF, et al. Interleukin 1 beta (IL-1beta), IL-10, tumor necrosis factor- alpha, and cellular proliferation index in peripheral blood mononuclear cells in patients with ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 2002; 29: 522-6.
- Verna S, Buchanon MR, Anderson TJ. Endothelial function testing AS a biomarker of vascular disease. *Circulation* 2003; 108:1054-2059.
- Vermeersch ST, Rietzscheler DE, Buyzere MC, et al. Age and gender related patterns in carotid-femoral PWV and carotid and femoral stiffness in large healthy middle-age population. *J Hypertension* 2008; 26:1411-19
- Vinsonneau U, Brondex A, Mansourati J, Saraux A, et al. Cardiovascular disease in patients with spondyloarthropathies. *Joint Bone Spine* 2008; 75:18-21.
- Watanabe T, Tokonuga O, Fan JL et al. Atherosclerosis and macrophages. *Acta Pathol JPN* 1989;39:473-486.
- Wei JC, Jan MS, Huang YZ, Yang CC et al. Plasma levels homocysteina status in patients with ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol* 2007;26(5) 739-42

- Witteman JC, Grobbee DE, Valkenburg HA, et al. J-shaped relation between change in diastolic pressure and progression of aortic atherosclerosis. *Lancet* 1994;343:504-507. Wolfe F, Mitchell DM, Sibley JT, Fries JF, Bloch DA, Williams CA et al. The mortality of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1994 Apr;37(4):481-94.
- Weber T, Auer J, O'Rourke MF et al. Arterial stiffness, wave reflections, and the risk of coronary artery disease. *Circulation* 2004;109:184–189.
- Widlasnsky ME, Gokce N, Keaney Jr JF, et al. The clinical implications of endothelial dysfunction in the human coronary and peripheral circulation. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 1235-41.
- Williams B, Lacy PS, Thom SM et al. CAFE Investigators; Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial Investigators; CAFE Steering Committee and Writing Committee. Differential impact of blood pressure-lowering drugs on central aortic pressure and clinical outcomes: principal results of the Conduit Artery Function Evaluation (CAFE) study. *Circulation* 2006;113:1213-25.
- Willum Hansen T, Staessen JA, Torp-Pedersen C et al. Prognostic value of aortic pulse wave velocity as index of arterial stiffness in the general population. *Circulation* 2006;113:664–670.

- Zeiter AM, Schachinger V, Minners J et al. Long term cigarette smoking impairs endothelium-dependent coronary arterial vasodilator function. *Circulation* 1995; 92(5): 1094-100.
- Zhang YX, Cliff WJ, Schoel GI, Higgins G. Coronary c-reactive protein distribution: its relation to development of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1999; 145:375-9.
- Zoccali C, Bode-Böger SM, Mallamaci T, Benedetto FA, Tripepi G, Malatino L et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase predicts mortality in end stage renal disease (ESRD). *Lancet* 2001;358:2113-7.
- Zinellu A, Sotgia S, Zinellu E, Pinna A, Carta F, et al. High-throughput CZE-UV determination of arginine and dimethylated arginines in human plasma. *Electrophoresis* 2007; 28:1942-8.

GRAFICI E TABELLE

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

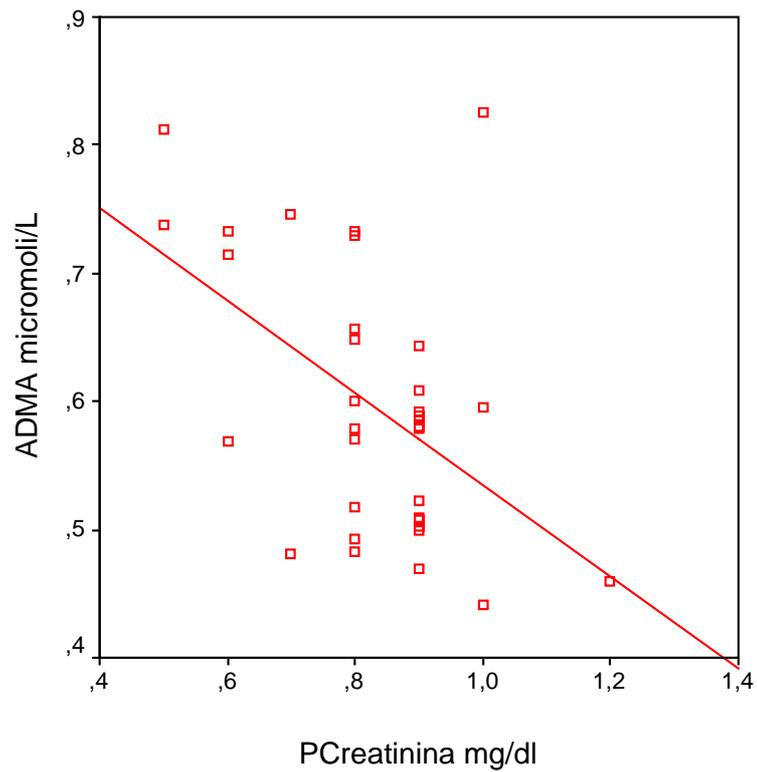


GRAFICO I: Scatterplot Creatinina - ADMA
 $R = 0.5$
 $p = 0.003$

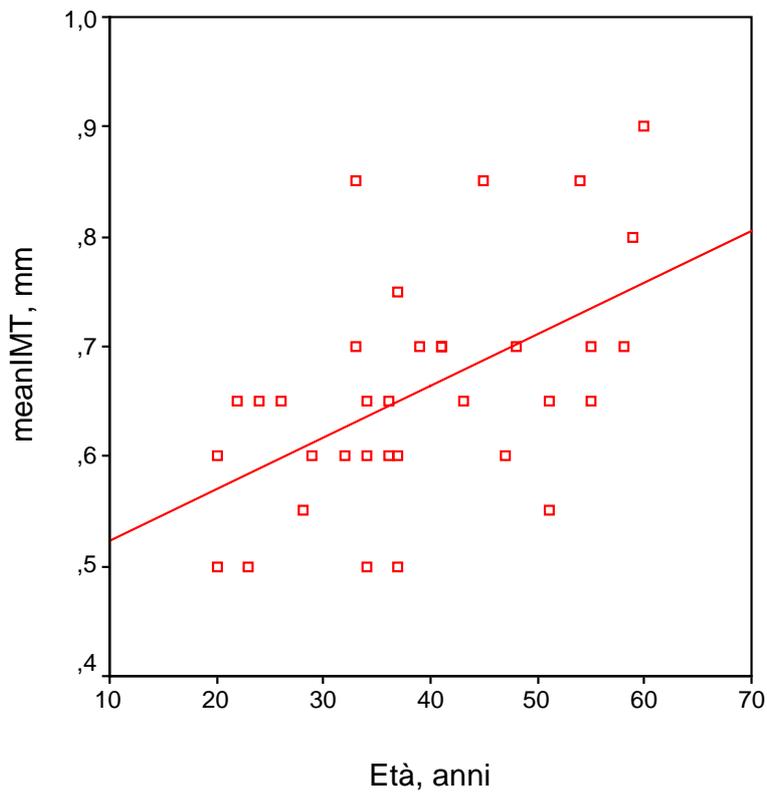


GRAFICO II: Scatter plot creatinina-mIMT
 $R = 0.528$
 $P = 0.001$

	SA (n=17)
Età, anni (range)	39 ± 11 (20-58)
M/F	7/7
Durata di malattia, mesi	114 ± 108
Positività HLA-B27, n(%)	14(82.3%)
Terapia con anti-TNF alfa, n(%)	10(58.8%)
BASMI	3.7 ± 3
BASFI	71 ± 20
BASDAI	2.7 ± 2.8
BAS-G	5.3 ± 2.9
HAQs	0.6 ± 0.7

TABELLA I: Variabili cliniche, di laboratorio e di stadiazione di malattia nei pazienti con SA.

I valori sono presentati come media ± DS (range).

	SA (n=17)	Controlli (n=17)	<i>p</i>
Età, anni	39 ± 11	38 ± 12	0.8
Sesso n(%) femmine	7(41.2%)	7(41.2%)	1
Body mass index, Kg/m ²	26 ± 4.4	24 ± 4	0.1
GFR stimato, ml/min/1.73 m ²	120 ± 26	104 ± 30	0.1
SBP, mm/Hg	118 ± 11	122 ± 12	0.3
DBP, mm/Hg	77 ± 8	76 ± 9	0.6
Fumo, n(%)	7(41.2%)	7(41.2%)	1
Glicemia, mg/dl	97.06 ± 10.96	96.06 ± 7.55	0.7
Colesterolo totale, mg/dl	167.94 ± 28.12	178.82 ± 32.25	0.3
Colesterolo HDL, mg/dl	48.53 ± 9.52	56.12 ± 15.32	0.09
Colesterolo LDL, mg/dl	107.06 ± 27.39	109.71 ± 23.14	0.7
Trigliceridi, mg/dl	61 ± 32.30	57.71 ± 29.79	0.7
VES, median (IQR) mm/h	7 (2.5-18)	3 (2-5.5)	0.07
PCR, median (IQR) mg/dl	0.5 (0.2-0.9)	0.2 (0.1-0.4)	0.039
IRI, HOMA model	10 ± 3.2	8.62 ± 2.98	0.2
Statine, n(%)	-	1(5.8%)	0.3
Anti-ipertensivo (%)	2(11.7%)	2(11.7%)	1

TABELLA II: Caratteristiche demografiche e fattori di rischio cardiovascolare nei casi e nei controlli

I valori sono presentati come media ± DS per le variabili con distribuzione normale e come mediana (range interquartile, IQR) per le variabili con distribuzione non normale.

	SA in terapia con anti-TNF-alpha (n=10)	SA non in terapia con anti-TNF-alpha (n= 7)	Controlli (n=17)
ADMA, $\mu\text{mol/L}$	0.66 \pm 0.09†	0.63 \pm 0.11†	0.54 \pm 0.07
mIMT, mm	0.66 \pm 0.09	0.62 \pm 0.1	0.67 \pm 0.1
AP, mmHg	8.8 \pm 4.2	4 \pm 4.7	8.4 \pm 6.3
AIx,%	31.3 \pm 31	11.2 \pm 16.1	19.2 \pm 18.3
FMD,%	13.9 \pm 5.6	11.9 \pm 3.0	14.4 \pm 6.9
NMD, %	20.1 \pm 4.5	18.2 \pm 4.0	21.5 \pm 4.6
FMD/NMD ratio,%	69.9 \pm 23.6	67.1 \pm 20.3	66.3 \pm 25.4

TABELLA III. Confronti ADMA e variabili emodinamiche nei tre gruppi ANOVA e analisi *post-hoc* con *Tukey's test*.
†*p* = 0.004 vs controlli

	R	R²	AR²	ΔR²	F	<i>p</i>
Mod 1 VES	0.525	0.276	0.253	0.276	12.189	0.001
Mod 3 VES, creatinina	0.751	0.564	0.536	0.289	20.529	<0.001

TABELLA IV: modello di regressione multipla lineare
Stewise method,
Variabile dipendente: concentrazioni plasmatiche ADMA nella popolazione generale
Variabili fuori dal modello: AIx, PCR

“ DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

	R	R ²	AR ²	ΔR ²	F	<i>p</i>
Mod 1	0.544	0.296	0.250	0.296	6.5	0.004
Mod 2	0.528	0.279	0.257	-0.017	12.4	0.001

TABELLA V: modello di regressione multipla lineare mIMT
 Stewise backward method,
 Variabile dipendente: mIMT nella popolazione generale
 Mod 1 Variabili indipendenti: età ,AP
 Mod 2 Variabili indipendenti: età

	R	R²	AR²	ΔR²	F	p
Mod 2	0.892	0.796	0.592	0.000	3.9	0.036
Mod 3	0.892	0.796	0.637	0.000	5.0	0,014
Mod 4	0.892	0.795	0.673	-0.000	6.4	0.005
Mod 5	0.886	0.785	0.687	-0.011	8.0	0.002
Mod 6	0.869	0.755	0.674	-0.029	9.2	0.001
Mod 7	0.858	0.736	0.675	-0.020	12	0.000
Mod 8	0.822	0.676	0.630	-0.059	14.6	0.000

TABELLA VI: modello di regressione multipla lineare mIMT

Stewise backward method,

Variabile dipendente: mIMT nei pazienti con SA

Mod 2 Variabili indipendenti: HAQs, AP, BASMI, fumo, BASDAI, colesterolo LDL, BASFI, colesterolo tot

Mod 3 : HAQs, AP, BASMI, fumo, BASDAI, colesterolo LDL, BASFI

Mod 4 : HAQs, AP, BASMI, fumo, BASDAI, BASFI

Mod 5 : HAQs, AP, fumo, BASDAI, BASFI

Mod 6 : HAQs, AP, fumo, BASDAI

Mod 7 : HAQs, AP, fumo,

Mod 8 : AP, fumo

	R	R²	AR²	ΔR²	F	p
Mod 1	0.905	0.819	0.771	0.819	7.555	0.003
Mod 2	0.904	0.817	0.734	-0.002	9.851	0.001
Mod 3	0.900	0.811	0.748	-0.007	12.582	0.000
Mod 4	0.892	0.795	0.748	-0.015	16.832	0.000
Mod 5	0.878	0.771	0.738	-0.024	23.548	0.000

TABELLA VII: modello di regressione multipla lineare AP

Backward method,

Variabile dipendente: AP nei pazienti con SA

Mod 1 Variabili indipendenti: Ipertensione, meanIMT, CYS, Età, Colesterolo totale, Colesterolo LDL

Mod 2 Variabili indipendenti: Ipertensione, CYS,età, Colesterolo totale, Colesterolo LDL

Mod 3 Variabili indipendenti: Ipertensione, CYS, Colesterolo totale, Colesterolo LDL

Mod 4 Variabili indipendenti: CYS, Colesterolo totale, Colesterolo LDL

Mod 5 Variabili indipendenti: CYS, Colesterolo totale

	R	R²	AR²	ΔR²	F	p
Mod 1	0.659	0.434	0.333	0.434	4.301	0.005
Mod 2	0.654	0.428	0.349	-0.007	5.423	0.002

TABELLA VIII: modello di regressione multipla lineare

Stewise backward method,

Variabile dipendente: livelli AP nella popolazione generale

Mod 1 mIMT, Colesterolo totale, colesterolo LDL, ipertensione arteriosa, età

Mod 2, Colesterolo totale, colesterolo LDL, ipertensione arteriosa, età

	Fumatori	Non fumatori	<i>p</i>
Campione complessivo	n = 14	n=20	
mIMT, mm	0.70 ± 0.10	0.63 ± 0.09	0.05
AP, mmHg	6.9 ± 5.6	8.1 ± 5.7	0.5
Aix,%	18.5 ± 17	23 ± 26	0.5
FMD,%	11.2 ± 4	21 ± 5.2	0.036
NMD, %	19.6 ± 3.4	21.5 ± 4.6	0.3
FMD/NMD ratio,%	57.6 ± 18.7	74.5 ± 24.1	0.035
Pazienti con SA	n = 7	n = 10	
mIMT, mm	10.6 ± 3.4	14.8 ± 4.9	0.008
AP, mmHg	6.4 ± 5.2	7.1 ± 4.9	0.7
Aix,%	15.8 ± 16.7	28.1 ± 32.6	0.3
FMD,%	10.6 ± 3.4	14.8 ± 4.9	0.07
NMD, %	20.6 ± 3.9	18.5 ± 4.6	0.3
FMD/NMD ratio,%	51.5 ± 10.7	80.8 ± 19.2	0.002

TABELLA IX: Indici vascolari e uso di tabacco nella popolazione complessiva e nei pazienti con SA
mIMT, spessore miointimale medio. AP, Augmentation pressure. Aix, Augmentation index. FMD, flow mediated dilatation. NMD, nitrate mediated dilatation.

ALLEGATI

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI)

Risponda a ciascuna domanda indicando la risposta con una crocetta sulla linea graduata da 0 a 100. Tutte le domande si riferiscono al grado di limitazione che la malattia le ha provocato nell'ultima settimana

1. È in grado di mettere i calzini o i collanti senza l'aiuto di un'altra persona o di attrezzi particolari?

FACILE 0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 IMPOSSIBILE

2. È in grado di piegarsi per raccogliere una matita o un oggetto dal pavimento senza l'impiego di attrezzi particolari?

FACILE 0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 IMPOSSIBILE

3. È in grado di raggiungere o prendere un oggetto su una mensola posta al di sopra della testa senza l'aiuto di un'altra persona o di attrezzi particolari?

FACILE 0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 IMPOSSIBILE

4. È in grado di alzarsi da una sedia senza braccioli senza aiutarsi con le braccia o senza l'aiuto di un'altra persona?

FACILE 0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 IMPOSSIBILE

5. È in grado di alzarsi in piedi dalla posizione coricata senza l'aiuto di un'altra persona?

FACILE 0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 IMPOSSIBILE

6. È in grado di stare in piedi per 10 minuti senza l'aiuto di un'altra persona e senza avvertire difficoltà?

FACILE 0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 IMPOSSIBILE

7. È in grado di salire 12-15 gradini senza l'utilizzo del corrimano o di un bastone, mettendo un piede su ciascun gradino?

FACILE 0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 IMPOSSIBILE

8. È in grado di guardare alle spalle girando il collo, senza dover girare l'intero corpo?

FACILE 0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 IMPOSSIBILE

9. È in grado di effettuare esercizi fisici (es. esercizi nell'ambito della fisioterapia, attività sportiva, tempo libero)?

FACILE 0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 IMPOSSIBILE

10. È in grado di svolgere le comuni attività della vita quotidiana al proprio domicilio o nel posto di lavoro?

FACILE 0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 IMPOSSIBILE

Totale: _____

'THE BATHAS METROLOGY INDEX (BASMI)

	Mild 0	Moderate 1	Severe 2
Cervical rotation (Mean of L & R)	> 70 degrees	20 –70 degrees	< 20 degrees
Tragus to wall (Mean of L & R)	< 15cm	15 – 30 cm	> 30 cm
Lumbar side flexion (Mean of L & R)	> 10cm	5 – 10 cm	< 5 cm
Lumbar flexion (modified schobers)	> 4 cm	2 – 4 cm	< 2 cm
Intermalleolar distance	> 100cm	70 – 100 cm	< 70 cm

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

The Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI)

a If you are currently taking medication for your AS, please give the name and dose that is on the bottle/packet.

b Please mark on the line below to indicate the effectiveness of the medication in relieving your symptoms.

NO EFFECT _____ VERY EFFECTIVE

Please draw a mark on each line below to indicate your level of ability with each of the following activities during the past week

	SCORE/10
<p>1 How would you describe the overall level of fatigue/tiredness you have experienced?</p> <p>NONE _____ VERY SEVERE</p>	<div style="border: 1px solid black; height: 100%; width: 100%;"></div>
<p>2 How would you describe the overall level of AS neck, back or hip pain you have had?</p> <p>NONE _____ VERY SEVERE</p>	
<p>3 How would you describe the overall level of pain/swelling in joints other than neck, back or hips you have had?</p> <p>NONE _____ VERY SEVERE</p>	
<p>4 How would you describe the overall level of discomfort you have had from any areas tender to touch or pressure?</p> <p>NONE _____ VERY SEVERE</p>	
<p>5 How would you describe the overall level of discomfort you have had from the time you wake up?</p> <p>NONE _____ VERY SEVERE</p>	
<p>6 How long does your morning stiffness last from the time you wake up?</p> <p style="text-align: center;"> 0 ½ 1 1½ 2 or more hours </p>	
MEAN OF 5&6	<div style="border: 1px solid black; height: 20px; width: 100%;"></div>
TOTAL OF 1 TO 4 ADDED TO MEAN OF 5&6 (TOTAL OUT OF 50)	<div style="border: 1px solid black; height: 20px; width: 100%;"></div>
TOTAL / 5 (BASDAI SCORE)	<div style="border: 1px solid black; height: 20px; width: 100%;"></div>

HEALT ASSESSMENT QUESTIONNAIRE (HAQ-S)

Vorremmo che Lei indicasse con una crocetta **SEMPRE** sul quadrato corrispondente alla risposta che meglio descrive la Sua reale condizione **RIFERITA ALL'ULTIMA SETTIMANA**.

Punteggio	E' in grado di:	Senza difficoltà (0 pt)	Con qualche difficoltà 1 (pt)	Con molta difficoltà 2 (pt)	No 3 (pt)
Tot__	Vestirsi da solo, allacciarsi le scarpe e abbottonarsi gli abiti?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Lavarsi i capelli?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tot__	Alzarsi da una sedia senza braccioli?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Salire e scendere dal letto?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tot__	Tagliare la carne?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Portare alla bocca un bicchiere o una tazza piena?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Aprire una confezione di latte?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tot__	Passeggiare su un terreno in piano?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Salire cinque gradini?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tot__	Lavare ed asciugare tutto il corpo?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Farsi un bagno nella vasca?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Utilizzare i servizi igienici da solo?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tot__	Raggiungere e prendere un oggetto del peso di circa due chili (per esempio un sacchetto di zucchero posto sopra la Sua testa)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Chinarsi per raccogliere un indumento caduto a terra?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tot__	Aprire la portiera della macchina?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Aprire un barattolo già aperto in precedenza?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Aprire e chiudere un rubinetto?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tot__	Fare delle commissioni e fare spesa?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Salire e scendere dalla macchina?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Svolgere lavori quali passare l'aspirapolvere o pulire un cortile?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Totale _____					

DOTT.SSA PATRIZIA FENU – TITOLO DELLA TESI: “ DISFUNZIONE ENDOTELIALE E RIGIDITA’ ARTERIOSA NEI PAZIENTI CON SPONDILITE ANCHILOSANTE: RUOLO DELL’ACCUMULO DELLA DIMETIL-ARGININA ASIMMETRICA (ADMA). STUDIO ESPLORATIVO CROSS-SECTIONAL CASO-CONTROLLO.”
TESI DI DOTTORATO IN FISIOPATOLOGIA MEDICA – XXI CICLO – UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI