



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI CATANIA

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale
Dottorato di Ricerca Internazionale in
“Medicina Sperimentale Clinica e Fisiopatologia Cellulare”
XXVI ciclo
(Coordinatore: Prof. Enzo S. Vicari)

Tesi di Dottorato

Struttura e funzione arteriosa nelle malattie infiammatorie
croniche intestinali

Dott.ssa Stefania Rastelli

Tutor

Prof. Pietro Castellino

Coordinatore

Prof. Enzo Saretto Vicari

Anno Accademico 2013/2014

1. INTRODUZIONE

Recentemente sta emergendo un ruolo sempre più importante dell'infiammazione nella patogenesi delle malattie cardiovascolari, la principale cause di morte nel mondo. I livelli circolanti di globuli bianchi e mediatori dell'infiammazione, come la proteina C-reattiva e l'interleuchina-6, sono, infatti aumentati sia nei pazienti con malattie cardiovascolari conclamate che in quelli con fattori di rischio cardiovascolare. Inoltre, la proteina C-reattiva ad alta sensibilità predice l'outcome sia nei pazienti con malattia coronarica che nei soggetti sani. Molti lavori si sono occupati del rapporto tra infiammazione e la struttura e funzione vascolare (rigidità arteriosa e disfunzione endoteliale). La disfunzione endoteliale, caratterizzata da una ridotta biodisponibilità di ossido nitrico, è considerata, infatti, un evento chiave nello sviluppo delle placche ateromatose [1] e predice l'outcome in pazienti con malattia cardiovascolare [2] o ipertensione [3]. Recentemente, grande attenzione è stata anche posta sulla rigidità arteriosa come misura surrogata di rischio cardiovascolare [4]. La rigidità delle grandi arterie elastiche, misurata attraverso la pulse wave velocity o l'augmentation index, è, infatti, associata ad un aumentato rischio cardiovascolare in vari setting clinici [5-9]. L'indurimento delle grandi arterie può rappresentare la prima tappa nello sviluppo del processo di aterosclerosi, in parte attraverso cambiamenti meccanici all'interno della parete vascolare ed in parte attraverso una riduzione dello shear stress [10]. Molti autori hanno dimostrato come la disfunzione endoteliale e l'aumentata rigidità arteriosa siano presenti nei pazienti con vasculiti sistemiche acute o in diverse patologie caratterizzate da infiammazione cronica, come l'artrite reumatoide e le malattie infiammatorie croniche intestinali. E' verosimile che parte

dell'aumentato rischio cardiovascolare riportato nei pazienti con infiammazione cronica possa essere spiegato dalla rigidità arteriosa. Inoltre, è stato riportato che riducendo l'infiammazione per mezzo di un'efficace terapia immunosoppressiva si assiste alla normalizzazione della funzione endoteliale e della rigidità arteriosa [11-14].

L'infiammazione può provocare l'indurimento delle grandi arterie attraverso un gran numero di meccanismi. E' stato recentemente dimostrato che diversi fattori circolanti di derivazione endoteliale, incluso l'ossido nitrico e l'endotelina 1, influenzano la rigidità delle grandi arterie provocandone la cosiddetta *regolazione funzionale*. Come riportato sopra, in presenza di infiammazione si ha, infatti, la comparsa di disfunzione endoteliale, la quale può portare ad un indurimento funzionale delle grandi arterie a causa di una riduzione della biodisponibilità di ossido nitrico ed un'aumentata attività di mediatori, come l'endotelina 1, aventi l'effetto opposto. La disfunzione endoteliale può causare diversi cambiamenti nella matrice extracellulare inclusa la proliferazione delle cellule muscolari lisce e l'aumentata sintesi delle proteine strutturali come il collagene. Un aumento dei mediatori dell'infiammazione promuove quindi infiltrazione di leucociti nelle arterie e cambiamenti fenotipici delle cellule muscolari lisce. Entrambe queste cellule rilasciano metalloproteinasi come la MMP9 che sono responsabili del degrado dell'elastina. Una perdita dell'elastina o delle lamelle elastiche dalla media può provocare un aumento della rigidità arteriosa. In presenza di infiammazione, le cellule muscolari lisce dei vasi sanguigni esprimono markers degli osteoblasti, possono assorbire fosfati e produrre bioapatite, con conseguente calcificazione della media e ridotta elasticità vascolare. E' inoltre possibile che la composizione di proteoglicani e lo stato di idratazione

differisca nelle arterie infiammate rispetto ai vasi normali, con conseguente alterazione delle proprietà biomeccaniche delle grandi arterie. Infine, l'infiammazione perivascolare e l'infiltrazione cellulare attorno ai vasa vasorum può portare ad ischemia vasale, in particolare in presenza di una trombo-occlusione che può anche promuovere il rimodellamento della matrice ed in fine l'irrigidimento della parete vasale.

Nel corso degli ultimi anni, diversi lavori hanno riportato come i pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali presentino ispessimento media-intimale (**Figura 1.1**) [15,16] e disfunzione endoteliale (**Figura 1.2 Pannello A**) [17-19] che migliora dopo la somministrazione di farmaci anti TNF-alfa (**Figura 1.2 Pannello B**) [19]. Nelle malattie infiammatorie croniche intestinali, il morbo di Crohn e la rettocolite ulcerosa, le cellule endoteliali dei piccoli vasi dell'intestino sono danneggiate da un'anomala risposta immunologica che causa un'infiammazione cronica seguita da episodi di infiammazione acuta durante i periodi di riattivazione della malattia. Recentemente, Hatoum et al. [18] hanno osservato la presenza di disfunzione endoteliale nelle aree cronicamente infiammate dell'intestino ma non nei vasi isolati da segmenti affetti da processi infiammatori acuti, ipotizzando che sia necessario uno stimolo infiammatorio prolungato per determinare un danno endoteliale. Inoltre, i livelli di proteina C reattiva risultano correlati con l'estensione della malattia nei pazienti con rettocolite ulcerosa e sono in grado di predire la necessità di una resezione chirurgica sia nei pazienti con rettocolite ulcerosa che in quelli con Morbo di Crohn [20]. Ad oggi pochi sono i lavori in cui si è valutato se la rigidità arteriosa sia aumentata nei soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali.

2. LA RIGIDITÀ ARTERIOSA

Le grandi arterie, oltre alla funzione di far procedere il sangue fino alla periferia, hanno anche un ruolo critico nel fornire un'adeguata riserva vascolare ad ogni contrazione ventricolare per mezzo dell'accoppiamento ventricolo-vascolare. Questo fenomeno è di primaria importanza poiché il flusso diastolico nelle arterie può rappresentare oltre la metà dell'output cardiaco. La caratteristica struttura istologica dell'aorta gioca un ruolo chiave nello smorzare il flusso pulsatorio di sangue proveniente dal ventricolo sinistro attuando le due classiche funzioni di reservoir e sistema di conduzione (modello di Windkessel). La rigidità arteriosa può, quindi, essere assimilata alla resistenza alla deformazione. L'aorta toracica e le sue immediate diramazioni sono ricche in fibre elastiche (*arterie elastiche*) che consentono lo stoccaggio dello stroke volume in corrispondenza di ciascun impulso sistolico; le porzioni più distali dei vasi diventano sempre più rigide, con una maggior componente di fibre muscolari (*arterie muscolari*).

La pulse wave velocity è una misura della rigidità di un distretto arterioso, correlata al modulo elastico della parete arteriosa (che rappresenta la rigidità intrinseca della parete stessa), la geometria delle arterie (spessore e raggio) ed alla densità del sangue. La pulse wave velocity può essere determinata misurando il tempo di transito dell'onda pulsatoria (pulse transit time) a partire dalle onde pressorie acquisite in corrispondenza di due siti lungo un segmento vascolare (**Figure 2.1**) [21]. La distanza (ΔL) divisa per il tempo impiegato dall'onda a percorrerla (ΔT) rappresenta la pulse wave velocity che è inversamente correlata con la compliance vascolare. Più è rigido il vaso, maggiore sarà la velocità dell'onda sfigmica al suo interno. La pulse wave velocity carotido-femorale (*arteria elastica*) rappresenta una misura

diretta della rigidità aortica ed è usata come un test diagnostico per valutare il danno d'organo, come indicato fin dall'edizione del 2007 delle Linee Guida della European Society of Cardiology (ESC)/European Society of Hypertension (ESH) per la gestione del paziente iperteso [22], mentre la pulse wave velocity carotido-radiale (*arteria muscolare*) non è stata ancora validata per la valutazione del rischio cardiovascolare.

2.1 La rigidità arteriosa nelle malattie caratterizzate da infiammazione cronica

2.1.1 Artrite reumatoide

L'artrite reumatoide è una malattia infiammatoria sistemica a patogenesi autoimmune e ad eziologia sconosciuta associata ad aterosclerosi precoce ed aumentata morbilità e mortalità cardiovascolare [23,24]. Questa infiammazione provoca la comparsa di disfunzione endoteliale, complicanze vascolari e perdita dell'elasticità arteriosa ed è un fattore di inizio e progressione dell'aterosclerosi. Alcuni studi mostrano come l'elasticità arteriosa sia ridotta in pazienti con artrite reumatoide [25-26]. Recentemente, è stato anche riportato che, in giovani pazienti affetti da artrite reumatoide (21-34 anni, durata media di malattia 14 ± 13 mesi), la pulse wave velocity carotido-femorale sia aumentata e l'elasticità arteriosa diminuita rispetto ai controlli (8.3 ± 0.6 m/s vs 7.5 ± 0.6 m/s; $p=0.03$) [27]. In giovani pazienti affetti da artrite reumatoide il tempo di propagazione dell'onda sfigmica è significativamente ridotto rispetto ai controlli ($p=0.02$) [27]. Infine, l'uso di farmaci anti TNF-alfa è in grado di normalizzare dopo 12 settimane la rigidità arteriosa [28-29].

2.1.2 Lupus eritematoso sistemico

Il lupus eritematoso sistemico è una malattia autoimmune infiammatoria cronica che colpisce le giovani donne associata ad un' aumentata malattia aterosclerotica vascolare [30]. Nel lupus eritematoso sistemico, il livello di infiammazione cronica è correlato con lo sviluppo dell'aterosclerosi [31]. Gli anticorpi antifosfolipidi (una famiglia di autoanticorpi che riconosce varie combinazioni di fosfolipidi e proteine leganti fosfolipidi) e i complessi immuni possono ritrovarsi frequentemente nei pazienti con lupus eritematoso sistemico [32]. In questa malattia, benché alcuni autori [33] suggeriscano che gli anticorpi antifosfolipidi non siano associati ad un' aumentata aterosclerosi ed alla rigidità arteriosa, questi anticorpi potrebbero danneggiare le arterie [30]. Questi complessi antigene-anticorpo si legano a recettori endoteliali, provocando un'upregolazione di molecole di adesione come la E-selectina, la molecola di adesione intercellulare 1 (ICAM-1) e la molecola di adesione vascolare 1 (VCAM-1). Inoltre, le lipoproteine a bassa densità (LDL), lipoproteina A e CD40-CD40L hanno un ruolo nella patogenesi dell'aterosclerosi, trombosi e processo infiammatorio [34-37]. Recentemente è stato riportato che la pulse wave velocity carotido-femorale è aumentata nelle donne in premenopausa con lupus eritematoso sistemico (età media 34 ± 10 vs 30 ± 9 anni, durata media di malattia 5 ± 5 anni), rispetto ai controlli (9.0 ± 2.1 m/s vs 8.1 ± 0.9 m/s; $p=0.04$) [38].

2.1.3 Granulomatosi di Wegner

La granulomatosi di Wegner è un malattia rara che colpisce 1 ogni 30.000-50.000 persone che si manifesta spesso con infiammazione delle alte vie

aeree o del polmone e può progredire con un'inflammatione dei vasi sanguigni [39-43]. Esiste una forte e specifica associazione tra la granulomatosi di Wegner e la presenza di anticorpi anticitoplasma (ANCA) verso un antigene target definito proteinasi 3 (PR3-ANCA) presente all'interno dei granuli azzurrofilo dei granulociti e dei lisozimi dei monociti [40]. Dopo l'attivazione dei neutrofili da parte della citochina, questo enzima trasloca sulla superficie cellulare dove interagisce con gli antigeni e attiva i neutrofili [41]. De Leeuw et al. [44] hanno dimostrato che l'aterosclerosi è aumentata nei pazienti affetti da granulomatosi di Wegner. Infine, è stato recentemente dimostrato che la pulse wave velocity carotido-femorale è aumentata in questi pazienti [45].

2.1.4 Psoriasi

La psoriasi è una malattia infiammatoria cronica della pelle che colpisce il 2-3% della popolazione caucasica [46]. Questa malattia è mediata da linfociti T, citochine infiammatorie e cellule dendritiche ed è caratterizzata da un'aumentata proliferazione dei cheratinociti e da alterazioni della vascolatura del derma [47]. L'artrite psoriasica è una malattia infiammatoria associata a psoriasi, generalmente sieronegativa per il fattore reumatoide, che colpisce equamente uomini e donne. La prevalenza dell'artrite psoriasica tra i pazienti affetti da psoriasi varia dal 6% al 42% [48]. È stato dimostrato che la psoriasi e l'artrite psoriasica sono associate ad un'aumentata mortalità e morbilità cardiovascolare [49], almeno in parte spiegabile con l'aumento della pulse wave velocity carotido-femorale [50-51].

2.1.5 Febbre mediterranea familiare

La febbre mediterranea familiare è un disordine autosomico recessivo virtualmente ristretto ad un certo gruppo etnico originario dell'oriente: ebrei sefarditi, armeni, arabi e turchi [52]. E' caratterizzata da episodi ricorrenti di sierositi, dolore toracico, e artrite solitamente accompagnati da febbre [52]. La complicazione principale dei pazienti non trattati è lo sviluppo di amiloidosi [52]. Nella maggior parte dei pazienti con febbre mediterranea familiare il trattamento con colchicina previene gli attacchi febbrili e lo sviluppo dell'amiloidosi [53]. Durante gli attacchi febbrili si sviluppa una risposta acuta che si manifesta con un marcato aumento della velocità di sedimentazione eritrocitaria, proteina C-reattiva, amiloide A, fibrinogeno e leucociti [52]. Dal punto di vista istopatologico la febbre mediterranea familiare è caratterizzata da un'inflammatione con infiltrazione di neutrofili [52]. In questi pazienti la pulse wave velocity carotido-femorale è leggermente aumentata rispetto ai controlli (8.5 ± 1.7 m/s vs 7.8 ± 0.9 m/s $p=0.05$) [54-55]. E' stata, inoltre, trovata una correlazione significativa tra pulse wave velocity ed età ($p < 0,001$, $r=0.67$), indice di massa corporea ($p < 0,001$, $r=0.52$) e leucociti ($p < 0.001$, $r=0.66$). La febbre mediterranea familiare è una malattia autosomica recessiva caratterizzata da mutazioni nel gene MEFV localizzato sul cromosoma 16 [56]. Il gene codifica per una proteina di 781 aminoacidi chiamata pirina espressa in cellule della linea mieloide, importante nella regolazione della secrezione di interleuchina 1, una citochina fondamentale nei meccanismi dell'inflammatione. Sebbene il ruolo del gene MEFV nello sviluppo degli attacchi di febbre mediterranea familiare non sia ancora noto, il suo malfunzionamento porta ad inflammatione. E' stato suggerito che nella febbre mediterranea familiare qualsiasi minimo stimolo porti ad una reazione infiammatoria non controllata con attivazione del complemento, a causa della

manca di un inibitore del C5a, e ad eccessivo rilascio di fattore di necrosi tumorale [57-58]. Il processo infiammatorio di febbre mediterranea familiare è anche causato dal leucotriene B₄, un potente mediatore dell'infiammazione acuta [59]. I leucociti circolanti svolgono ruoli importanti nel processo dell'aterosclerosi considerata una malattia infiammatoria [60]. È stata, infine, riportata un'associazione positiva tra la conta dei leucociti totali, aterosclerosi coronarica ed arteriopatie [61,62].

2.1.6 Sarcoidosi

La sarcoidosi è una malattia infiammatoria sistemica multiorgano, caratterizzata da infiltrazione dei linfociti T negli organi colpiti, formazione di granulomi e distorsione della microarchitettura normale. L'aspetto istologico dei granulomi mostra una zona centrale con macrofagi, cellule epitelioidee e cellule giganti multinucleate oltre alla attivazione di linfociti CD4 e una zona periferica con macrofagi, fibroblasti, linfociti CD4 e CD8 [63-67]. La prevalenza di sarcoidosi varia da 9 a 64 per 100.000 soggetti (in Svezia e in Italia, rispettivamente) [64]. Sebbene la sarcoidosi sia nota per essere una malattia sistemica infiammatoria che può colpire qualsiasi organo, si è ritenuto per diverso tempo che non coinvolgesse i vasi. Tuttavia, alcuni autori hanno suggerito che si possa sviluppare una vasculite durante la sarcoidosi [68,69]. In uno studio, la angioite granulomatosa e la microangiopatia sono stati riportate nel 31% dei pazienti con sarcoidosi con interessamento cutaneo [65]. La coesistenza di sarcoidosi e vasculite suggerisce che entrambe possano avere una origine eziopatogenetica comune. L'infiammazione della sarcoidosi può compromettere la funzione endoteliale, la compliance arteriosa e l'elasticità delle arterie ed agire come un fattore che

contribuisce all'inizio ed alla progressione dell'aterosclerosi. Recentemente è stato dimostrato come la pulse wave velocity carotido-femorale sia maggiore nei pazienti con sarcoidosi rispetto al gruppo di controllo (10.0 ± 1.7 vs 9.1 ± 1.2 m/s; $p=0.04$) [70].

2.1.7 Malattia di Bechet

La malattia di Bechet è un disordine cronico multisistemico caratterizzato da afte orali e genitali, lesioni dermatologiche ed uveite [71]. In alcuni pazienti le complicanze vascolari, che possono includere trombosi venosa profonda e arteriosa ed aneurismi aortici, possono dominare il quadro clinico [71]. La causa della malattia vascolare nella malattia di Bechet è sconosciuta. Studi di istopatologia hanno riportato che la lesione predominante è la vasculite; le pareti dei vasi e del tessuto perivascolare sono infatti infiltrate da linfociti, monociti, plasmacellule e neutrofili [71]. Studi recenti suggeriscono che i leucociti attivati possano contribuire al danno vascolare nella malattia di Bechet [72]. In vivo, i neutrofili dei pazienti affetti da tale patologia possono provocare lisi delle cellule endoteliali [72]. Nei pazienti con Bechet la concentrazione dei prodotti circolanti di perossidazione lipidica risulta aumentata [73]. Orem et al. [74] hanno studiato la lipoproteina (a) e il loro rapporto con l'attività di malattia in pazienti con Bechet, concludendo che le fluttuazioni dei livelli della lipoproteina nel plasma in relazione all'attività di malattia possano essere un fattore di rischio che contribuisce allo sviluppo delle complicanze trombotiche in pazienti con malattia di Bechet. Un altro studio, ha riportato che i livelli di autoanticorpi rivolti contro le LDL ossidate sono significativamente più elevati nei pazienti rispetto ai controlli [75]. Questi

autoanticorpi possono essere coinvolti nello sviluppo di disfunzione endoteliale e di patologia vascolare nella Bechet [75].

La perossidazione lipidica è stata trovata aumentata durante il periodo di attività rispetto al periodo inattivo della malattia. Pertanto, i pazienti con Bechet attiva risultano essere molto più sensibili agli eventi aterogeni di quelli in fase di inattività e dei soggetti di controllo. La pulse wave velocity carotido-femorale non sembra essere aumentata nei pazienti con malattia di Bechet rispetto ai controlli (8.4 ± 1.4 vs 8.5 ± 1.1 m/s; $p=NS$) [76].

2.1.8 Sclerosi sistemica

La sclerosi sistemica è un disturbo generalizzato clinicamente eterogeneo che colpisce il tessuto connettivo della pelle ed il tratto gastrointestinale, polmoni, cuore e reni. E' caratterizzata da alterazioni del microcircolo, disturbi del sistema immunitario e da massiccia deposizione di collagene [77]. La disfunzione endoteliale e la vasculopatia dei piccoli e grandi vasi sono fattori patogeni cruciali nella sclerosi sistemica. Timár et al. [78] hanno dimostrato un aumento della augmentation index e della pulse wave velocity aortica in pazienti con sclerosi sistemica rispetto a controlli sani, appaiati per età e sesso. Cypiene et al. [79] hanno dimostrato che i pazienti con sclerosi sistemica hanno, oltre ad un aumento di augmentation index e pulse wave velocity, una minore vasodilatazione endotelio dipendente (tecnica dipendente dagli ultrasuoni che misura la vasodilatazione mediata dall'ossido nitrico della arteria brachiale in risposta all'aumento dello shear stress della parete arteriosa).

2.1.9 Arterite di Takayasu

L'arterite di Takayasu è una rara malattia infiammatoria cronica che colpisce principalmente l'aorta e i suoi rami [80,81]. Le arterie succlavia, renale e le carotidi possono anch'esse essere coinvolte. L'infiammazione dei grandi vasi sanguigni porta ad un indebolimento ed allungamento segmentale dei vasi fino alla formazione di aneurismi. I vasi possono anche ridursi di calibro o chiudersi completamente. L'arterite di Takayasu è più comune nelle donne che negli uomini e di solito inizia nella seconda o terza decade [81]. La diagnosi di arterite di Takayasu è basata su diverse valutazioni strumentali, tra cui l'angiografia computerizzata e la risonanza magnetica. Le complicanze cardiovascolari sono la principale causa di mortalità e morbilità in pazienti con arterite di Takayasu. Ng et al. [82] hanno dimostrato che la PWV carotide-femorale e l'augmentation index sono più elevate nei pazienti con arterite di Takayasu rispetto ai controlli.

2.1.10 Malattie infiammatorie croniche intestinali

La rigidità arteriosa nei soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali è stata valutata in pochi studi, tutti pubblicati negli ultimi 3 anni (**Tabella 2.1**) [13,14,83-86]. Il primo studio che si è occupato dell'argomento è stato quello da me pubblicato nel 2012 [13]. In cui ho misurato la pulse wave velocity di un'arteria elastica (l'aorta) e di un'arteria muscolare (l'arteria brachiale) in un piccolo gruppo di soggetti con morbo di Crohn e rettocolite ulcerosa che riporto in breve. Le caratteristiche dei pazienti sono riportate in **Tabella 2.2** [13]. I pazienti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali erano relativamente giovani (30 ± 9 anni) e prevalentemente uomini [19 (59%) uomini e 13 (41%) donne]. La durata media della malattia era di 63 ± 61 mesi (range 0-267 mesi). I controlli erano ben appaiati per età e sesso

e non vi era alcuna differenza significativa tra pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali e controlli (**Tabella 2.2**) [13].

I principali dati di laboratorio dei pazienti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali sono riportati in **Tabella 2.3** [13]. I livelli di glucosio nel plasma ed il profilo lipidico erano nella norma; la VES era 18 ± 10 mm/h; i valori di proteina C-reattiva rientravano anch'essi nel range di normalità (< 3 mg/l) nel 88% dei pazienti. Tutti i pazienti con malattia in fase attiva tranne uno avevano livelli di proteina C-reattiva superiori a 3 mg/l, il valore massimo era di 5,15 mg/l. Tra i pazienti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali, il 50% (n=16) era affetto da rettocolite ulcerosa ed il 50% (n=16) da morbo di Crohn. Non vi erano differenze di carattere demografico né dei parametri arteriosi tra i pazienti con rettocolite ulcerosa e malattia di Crohn. L'88% (n=28) dei pazienti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali era in remissione, mentre il 12% (n=4) aveva una malattia in fase attiva; il 66% (n=21) non aveva avuto complicanze gastrointestinali, mentre il 22% (n=7) presentava stenosi, il 25% (n=8) fistole e il 22% (n=7) ascessi. Dei pazienti con morbo di Crohn il 19% (n=3) presentava complicanze non riguardanti il tratto gastrointestinale (due pazienti con artrite periferica e un paziente con eritema nodoso). Dei pazienti con rettocolite ulcerosa il 6% (n=1) aveva complicanze non riguardanti il tratto gastrointestinale (un paziente con eritema nodoso). In fine, il 38% (n=12) dei pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali erano stati trattati solo con salicilati, mentre il restante 62% (n=20) con salicilati e steroidi o farmaci immunosoppressori. La pressione arteriosa brachiale e la frequenza cardiaca erano paragonabili tra i pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali ed i controlli. Nonostante presentassero una pressione centrale media paragonabile

(**Figura 2.2, pannello B**) [13], i pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali avevano una pressione centrale differenziale (32 ± 6 vs 28 ± 7 mmHg, rispettivamente; $p<0.05$; **Figura 2.2, pannello A**) [13] ed una PWV carotido-femorale più elevata rispetto ai controlli (6.6 ± 1.4 vs. 6.0 ± 0.8 m/s, $p<0.05$; **Figura 2.2, pannello C**) [13]. L'augmentation index non era significativamente aumentato nei pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali. Tra i pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali, quelli che presentavano livelli di proteina C reattiva nel quartile più alto ($PCR\geq 1.32$ mg/l) avevano una pulse wave velocity carotido-femorale più elevata (7.3 ± 2.0 vs. 6.4 ± 1.0 m/s). Tuttavia, questa differenza non era statisticamente significativa ($P=0.10$). La pulse wave velocity carotido-radiale era più elevata nei pazienti con malattia in fase attiva che in quelli con malattia quiescente (9.5 ± 1.3 e 7.7 ± 1.2 m/s, rispettivamente, $p<0.05$). E' stata osservata una relazione significativa tra età e pulse wave velocity carotido-femorale sia nei pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali che nei controlli (**Figura 2.3, pannello B**) [13], mentre un'associazione tra età e pulse wave velocity carotido-radiale è stata osservata solo nelle malattie infiammatorie croniche intestinali (**Figura 2.3, pannello B**) [13] e confermata anche dopo aggiustamento per la terapia con steroidi o immunosoppressori e l'attività di malattia ($PWV=5.6+0.1 \times \text{età}$; $p<0,001$, **Tabella 2.4**) [13]. La pulse wave velocity carotido-radiale è risultata essere più elevata nei pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali rispetto ai controlli (8.5 vs 7.2 m/s, $p<0.001$). Una relazione significativa è stata osservata tra la durata di malattia e la pulse wave velocity carotido-radiale (**Figura 2.4, Pannello A**) [13]. Tra i pazienti affetti da colite ulcerosa e morbo di Crohn, non vi era differenza significativa nella pulse wave velocity carotido-femorale (6.8 vs.

6.5 m/s, rispettivamente, $p=NS$) e nella pulse wave velocity carotido-radiale (8.7 vs 8.3 m/s, $p=NS$).

All'analisi di regressione multipla eseguita sull'intera popolazione (**Tabella 2.4**) [13], le IBD erano associate alla pulse wave velocity carotido-femorale, spiegando il 10% della sua variabilità, anche dopo aggiustamento per età, l'uso di steroidi o immunosoppressori e l'attività di malattia. La presenza delle malattie infiammatorie croniche intestinali sposta il rapporto età-PWV verso l'alto (**Figura 2.3, pannello B**) [13] di 0.7 m/s. Nel modello multivariato, in cui entrambi i gruppi di pazienti erano stati considerati nel loro insieme, l'età era positivamente associata con la pulse wave velocity carotido-femorale ($R^2=0.09+0.05$ m/s per incremento di 1 anno; intervallo di confidenza al 95%, 0.10-0.08 m/s; $p<0,05$), così come la presenza delle malattie infiammatorie croniche intestinali ($R^2=0.10+0.72$ m/s se presenti; intervallo di confidenza al 95%, 0.19-1.26 m/s; $p<0.05$). Selezionando solo i pazienti con malattia in fase attiva i risultati non si modificavano.

3 LE MALATTIE INFIAMMATORIE CRONICHE INTESTINALI ED IL RISCHIO CARDIOVASCOLARE

Diversi studi hanno evidenziato come la prevalenza dei classici fattori di rischio cardiovascolare sia minore nei pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali rispetto alla popolazione generale [87-89] mentre la prevalenza di fattori di rischio non tradizionale (ad es. il numero dei globuli bianchi circolanti) sia maggiore nei pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali rispetto alla popolazione generale (**Figura 1.3** [87]). I pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali hanno, rispetto alla popolazione generale, un indice di massa corporea e livelli di colesterolemia

ridotti [87,89-91]. Questi pazienti hanno anche una prevalenza significativamente inferiore di ipertensione, diabete e obesità [87]. Di conseguenza, considerando il profilo di rischio cardiovascolare predetto dai classici fattori di rischio cardiovascolare di questi pazienti, la morbilità e mortalità cardiovascolare dovrebbero essere ridotte rispetto a quanto osservato nella popolazione generale. Tuttavia, una metanalisi ha recentemente riportato che il tasso standardizzato di mortalità, un indice statistico che paragona la mortalità dei pazienti con malattie infiammatorie intestinali con la mortalità della popolazione generale non considerando la differente prevalenza dei classici fattori di rischio cardiovascolare nei due gruppi, non sia ridotto nei pazienti con rettocolite ulcerosa o morbo di Crohn (**Figura 1.4** [92]). Inoltre, studi recenti hanno riportato un aumentato rischio di coronaropatia nei soggetti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali [87,93]. Considerati nel loro insieme, questi dati suggeriscono che meccanismi aggiuntivi rispetto a quanto considerato dai classici fattori di rischio cardiovascolare, come ad esempio l'infiammazione, potrebbero essere responsabili dell'incremento del rischio cardiovascolare nelle malattie infiammatorie croniche intestinali. In questi soggetti, il basso rischio cardiovascolare conseguente alla bassa prevalenza dei fattori di rischio tradizionali potrebbe essere almeno in parte controbilanciato da un aumento del rischio cardiovascolare associato alla presenza di infiammazione cronica. A questo riguardo, la rigidità arteriosa potrebbe rappresentare un link tra infiammazione cronica e rischio cardiovascolare.

4 RAZIONALE DELLO STUDIO

In un precedente studio ho riportato per la prima volta come in soggetti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali la rigidità arteriosa risulti essere aumentata (**Capitolo 2.1.10**) [13]. Ad oggi non è ancora chiaro quale sia il meccanismo patogenetico alla base dell'aumentata rigidità arteriosa nella rettocolite ulcerosa e nel morbo di Crohn così come se la rigidità arteriosa sia associata all'infiammazione acuta o cronica. Inoltre, non ci sono studi che riportino nelle malattie infiammatorie croniche intestinali gli effetti della terapia immunomodulatoria sulle arterie muscolari e su quelle elastiche. In altri modelli di infiammazione cronica è stato dimostrato come la rigidità aortica, ma non quella delle arterie muscolari, sia ridotta in seguito al trattamento di breve durata con farmaci anti TNF-alfa [28,29,94]. Infine, nessuno degli studi esistenti ha esaminato gli effetti a lungo termine della terapia immunomodulatoria sulla rigidità aortica.

5 OBIETTIVI DELLO STUDIO

Nello Studio 1 ho testato l'ipotesi che la rigidità delle arterie elastiche e muscolari sia associata alla presenza di infiammazione, acuta o cronica. Nello Studio 2 ho valutato se la rigidità arteriosa in soggetti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali possa essere normalizzata dopo tre anni di terapia immunomodulatoria (steroidi, azatioprina o farmaci anti TNF-alfa).

6. MATERIALI E METODI

6.1 Popolazione

6.1.1 Studio 1

Studio trasversale. Sono stati arruolati 74 soggetti con IBD (40 soggetti con rettocolite ulcerosa e 34 soggetti con Morbo di Crohn) ed 80 controlli appaiati per età, sesso ed indice di massa corporea. La diagnosi di malattie infiammatorie croniche intestinali è stata effettuata con criteri clinici, radiologici, endoscopici ed istologici ben validati in letteratura. Sono stati esclusi dallo studio individui con malattia cardiovascolare (malattia coronarica, scompenso cardiaco, stroke, TIA o claudicatio intermittens), diabete mellito, insufficienza renale cronica e dislipidemia così come i soggetti in trattamento con farmaci antiipertensivi ed i fumatori. Il protocollo è stato approvato dal comitato etico in accordo con la Dichiarazione di Helsinki e tutti i partecipanti hanno fornito il proprio consenso informato.

6.1.2 Studio 2

Studio prospettico osservazionale. Tutti i soggetti arruolati nello studio 1 sono stati considerati eleggibili per partecipare allo Studio 2. Dopo almeno 2.5 anni dalla prima valutazione è stata eseguita sia nei pazienti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali che nei controlli una seconda rivalutazione clinica ed emodinamica non invasiva (media 3.4 ± 0.5 anni, range 2.5-4.5 anni). Sono stati arruolati un totale di 32 soggetti con IBD senza fattori di rischio cardiovascolare, suddivisi in tre gruppi in base alla terapia praticata durante il follow-up (14 soggetti trattati solo con salicilati, 11 soggetti trattati

con steroidi ed azatioprina e 7 soggetti trattati con farmaci anti TNF-alfa) e appaiati per età e pulse wave velocity carotido-femorale al basale sia tra i tre gruppi di trattamento che con un gruppo di controllo di 30 soggetti senza fattori di rischio cardiovascolare. I farmaci anti TNF-alfa sono stati somministrati in quei pazienti che non hanno risposto ad altri regimi terapeutici, in accordo alle correnti linee guida terapeutiche. La terapia è stata sempre prescritta, prima della valutazione basale, da un medico esterno, per evitare bias di selezione.

6.2 Disegno dello studio

1-7 giorni prima delle valutazioni di base sono stati eseguiti esami standard di laboratorio ed il dosaggio dei livelli di proteina C reattiva. Tutti i partecipanti sono stati studiati in una stanza tranquilla a temperatura controllata di 22 °C. In ogni partecipante lo studio emodinamico non invasivo è stato condotto da un operatore blindato per tutte le informazioni cliniche inclusa la terapia. Un secondo operatore, non a conoscenza dei risultati dell'esame emodinamico, ha raccolto i dati clinici usando un questionario standardizzato.

6.3 Valutazione emodinamica non invasiva dei parametri arteriosi

Sia nello Studio 1 che nello Studio 2 le misurazioni emodinamiche non invasive sono state eseguite dopo 15 minuti di riposo. Le misurazioni della pressione brachiale sono state effettuate usando un apparecchiatura oscillometrica (Dinamap Procare 100; GE Healthcare, Milwaukee, USA). La pressione centrale è stata registrata in maniera non invasiva mediante tonometria d'appianazione dell'arteria radiale (SphygmoCor, AtCor Medical,

Sydney, Australia) [95] dopo calibrazione con la pressione diastolica e media dell'arteria brachiale controlaterale [21].

Le pulse wave velocity carotido-femorale e carotido-radiale sono state misurate con un'apparecchiatura SphygmoCor (AtCor Medical, Sydney, Australia) usando la metodica piede-piede dell'onda sfigmica, l'algoritmo intersecting tangent e la misurazione diretta tra i siti dove è stata eseguita la misurazione [96]: $PWV \text{ (m/s)} = 0.8 \times [\text{distanza diretta (m)} / \Delta t \text{ (s)}]$. L'Augmentation Index è stato calcolato come precedentemente descritto in letteratura [13] e corretto per la frequenza cardiaca usando un modello di regressione lineare (AI_{HR}).

6.4 Caratteristiche cliniche

La malattia clinicamente attiva è stata definita dalla presenza di sanguinamento rettale con un incremento della frequenza delle scariche (>3/die) o da una mucosa anormale all'esame endoscopico in soggetti con colite ulcerosa e dalla presenza di un indice di Harvey-Bradshaw ≥ 8 [97] in soggetti con Morbo di Crohn. Le ricadute della malattia sono state definite dalla riattivazione della malattia in soggetti precedentemente in remissione. La malattia è stata definita estesa dalla presenza di lesioni illeo-coliche in soggetti con morbo di Crohn o lesioni estese prossimali o alla flessura splenica, inclusa la pancolite, in soggetti con rettocolite ulcerosa all'esame endoscopico.

6.5 Analisi statistica

L'analisi statistica è stata eseguita usando il programma NCSS 2007 e PASS 2005 (Gerry Hintze, Kaysville, UT, USA). La numerosità del campione è stata

calcolata per dimostrare che i soggetti con IBD avevano la pulse wave velocity carotido-femorale più elevata rispetto ai controlli. Un campione di 74 soggetti con IBD e di 80 controlli ha consentito di ottenere una differenza statisticamente significativa (errore alfa = 0.05000 con test t a due code e due campioni) tra pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali e controlli di -0.6 m/s con un potere dello studio di 80%, dove -0.6 m/s rappresenta la differenza di PWV carotido-femorale tra IBD e controlli da me riportata nel precedente studio eseguito in soggetti giovani con IBD e senza fattori di rischio cardiovascolare [13]. Le variabili continue sono presentate con la media e la deviazione standard; le variabili categoriche sono presentate come conta e percentuale. I parametri clinici ed emodinamici sono stati paragonati usando l'analisi univariata della varianza (ANOVA) per le variabili continue ed il test del chi quadrato per le variabili categoriche. Nello Studio 2 l'ANOVA è stata usata per valutare gli effetti del trattamento sulla rigidità arteriosa. La sfericità è stata confermata con il test di Mauchly. Per confermare i risultati dell'ANOVA univariata sono stati utilizzati mixed models per misure ripetute aggiustati per età, sesso, pressione arteriosa media, frequenza cardiaca e durata del follow-up. Quando il test del mixed model era significativo ($P < 0.05$), è stato utilizzato il test di Bonferroni per valutare la differenza tra il basale e la fine del follow-up sia nei controlli che nei soggetti con IBD in accordo con il trattamento. Le analisi di regressione lineare univariata e multivariata sono state eseguite per valutare le relazioni tra PWV e parametri clinici.

6.6 Considerazioni etiche

Questo è uno studio osservazionale poiché è stato ritenuto non etico eseguire un trial randomizzato a doppio cieco dei farmaci anti TNF-alfa nei soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali che non hanno risposto ad altre terapie.

7. RISULTATI

7.1 Studio 1

7.1.1 Caratteristiche cliniche dei pazienti con IBD

I dati clinici principali sono riportati in **Tabella 7.1**. Non vi erano differenze di gruppo nelle caratteristiche cliniche tra i gruppi. Nei soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali il profilo lipidico ed i livelli di glicemia erano nel range di normalità, 27% (n=20) dei pazienti con IBD avevano una proteina C reattiva >0.8 mg/dl.

7.1.2 Parametri arteriosi

La pressione brachiale e centrale erano simili nei soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali e nel gruppo di controllo (**Tabella 7.1**). La pulse wave velocity carotido-femorale, la pulse wave velocity carotido-radiale e l'augmentation index erano significativamente più elevati sia nelle rettocolite ulcerosa che nel morbo di Crohn rispetto ai controlli. L'associazione tra età e pulse wave velocity carotido-femorale e carotido-radiale è riportata in **Figura 7.1, Pannello A e B**.

In un'analisi di regressione multipla riguardante l'intera popolazione (**Tabella 7.2**), sia la rettocolite ulcerosa che il morbo di Crohn erano importanti determinanti della pulse wave velocity carotido-femorale e carotido-radiale e spiegavano rispettivamente il 9% e il 30% della sua variabilità anche dopo aggiustamento per età, sesso, pressione arteriosa media e frequenza cardiaca. In tutti i soggetti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali è stata osservata una significativa correlazione tra durata della malattia e

pulse wave velocity carotido-femorale (**Figura 7.2**). Questo dato è stato confermato anche dopo aggiustamento per età, sesso, pressione arteriosa media e frequenza cardiaca (**Tabella 7.2**). La pulse wave velocity carotido-radiale è stata associata in modo indipendente con la proteina C-reattiva e la storia di recidiva (**Tabella 7.2**). I risultati sono stati confermati anche dopo aggiustamento per il tipo di malattie infiammatorie croniche intestinali (morbo di Crohn o rettocolite ulcerosa) e la presenza di malattia in fase attiva. Non si sono osservate differenze significative tra i gruppi nei parametri arteriosi, tra cui la rigidità arteriosa, o di terapia tra soggetti con rettocolite ulcerosa o morbo di Crohn. Tuttavia, la prevalenza di malattia estesa era leggermente superiore ($p=0.11$), laddove il colesterolo era leggermente inferiore ($p=0.12$) nei soggetti con morbo di Crohn rispetto a quelli con rettocolite ulcerosa (**Tabella 7.1**).

7.2 Studio 2

Le caratteristiche della popolazione al basale e dopo un follow-up medio di 3.4 ± 0.5 anni (range 2.5-4.5 anni) sono riportate nelle **Tabelle 7.3 e 7.4**. Sia i controlli che i soggetti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali, appaiati per età e pulse wave velocity carotido-femorale al basale, erano anche paragonabili per pressione arteriosa media e Alx_{HR} . Durante il follow-up, né la pressione media né l' Alx_{HR} erano significativamente variate nei soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali e nei controlli. Tuttavia, rispetto al basale, la pulse wave velocity carotido-femorale risultava significativamente aumentata durante il follow-up nei controlli e nei soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali trattati con salicilati, mentre

era quasi invariata in quelli trattati con steroidi e azatioprina o farmaci anti TNF-alfa (**Figura 7.3, pannello A**).

Di conseguenza, l'incremento annuo della pulse wave velocity carotido-femorale era significativamente aumentato nei soggetti trattati con salicilati rispetto a quelli trattati con steroidi e azatioprina o anti TNF-alfa (rispettivamente $P=0.004$ e $P=0.001$; **Figura 7.3, Pannello B**). Questi risultati sono stati confermati anche dopo aggiustamento per età, sesso, pressione arteriosa media, frequenza cardiaca e durata del follow-up (mixed models per misure ripetute, $P=0.003$; **Tabella 7.4**) e in un modello aggiustato anche per il tipo di malattia infiammatoria cronica intestinale (malattia di Crohn o rettocolite ulcerosa), durata della malattia e storia di recidive. La pulse wave velocity carotido-radiale non è stata modificata dal trattamento (**Tabella 7.4**).

8. DISCUSSIONE

Nel presente studio ho riportato come sia la rigidità aortica, un noto marker di rischio cardiovascolare, che la rigidità delle arterie muscolari siano aumentate nei soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali e differentemente correlate con i markers di infiammazione acuta e cronica. Solamente la rigidità aortica è normalizzata in seguito ad una terapia di lunga durata con farmaci immunomodulatori.

8.1 La rigidità arteriosa è aumentata nelle malattie infiammatorie intestinali

I risultati dello Studio 1 indicano che si ha un incremento della rigidità arteriosa nei soggetti affetti da Morbo di Crohn e rettocolite ulcerosa. In uno studio trasversale eseguito su un piccolo campione ho precedentemente misurato la PWV nei pazienti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali senza fattori di rischio cardiovascolare, riportando per la prima volta un'aumentata rigidità arteriosa in questa classe di pazienti rispetto ad un gruppo di soggetti sani di controllo [13]. Tuttavia, considerando il fatto che abbiamo arruolato nel precedente studio solo 32 soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali (16 affetti da Morbo di Crohn e 16 affetti da rettocolite ulcerosa) di età compresa tra 16 e 49 anni, la numerosità del campione non era sufficiente per generalizzare i risultati ottenuti. Al contrario, nel presente Studio 1 la popolazione presa in esame (74 soggetti) ha un sufficiente potere statistico per dimostrare che i soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali hanno un'aumentata rigidità arteriosa. Infine, la PWV è stata misurata in accordo con le ultime linee guida disponibili [96].

8.2 La rigidità arteriosa e l'infiammazione nelle malattie intestinali croniche.

Nello Studio 1, è stata riportata un'associazione tra la rigidità arteriosa e numerosi markers di infiammazione acuta e cronica. Risultati simili sono stati precedentemente riportati in soggetti sani e negli ipertesi [98,99], così come in diverse malattie caratterizzate da un'infiammazione cronica [28,100-102]. in cui l'aumento della rigidità arteriosa è indipendente dalla presenza di aterosclerosi ed è correlata alla durata della malattia. Inoltre, è stato riportato come anche uno stimolo infiammatorio acuto, moderato e transitorio come quello provocato da un vaccino possa portare ad un deterioramento delle proprietà elastiche delle arterie elastiche [103].

Le malattie infiammatorie croniche intestinali sono il risultato di una combinazione di fattori ambientali, genetici ed immunologici nei quali una risposta immune non controllata all'interno dell'intestino provoca un'infiammazione in soggetti geneticamente predisposti. Numerosi studi hanno suggerito come le malattie infiammatorie croniche intestinali siano associate non solo ad aterosclerosi precoce [15,88], un segno clinico comune a diverse malattie immunologiche e infiammatorie, ma anche ad un aumentato ispessimento dello spessore intima-media carotideo [16], iperomocisteinemia [104], insulino-resistenza [105], e disfunzione endoteliale [17] che regredisce dopo somministrazione di antagonisti del TNF alfa [19]. A tal riguardo, poiché l'ossido nitrico è un potente regolatore della rigidità arteriosa [106], la disfunzione endoteliale potrebbe spiegare almeno parte degli effetti dell'infiammazione sulla rigidità arteriosa nei soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali. Purtroppo, molti dei fattori prima

menzionati non sono stati direttamente valutati nella nostra popolazione. Quindi, il loro ruolo nella patogenesi della rigidità arteriosa non può essere direttamente chiarito dal presente studio. Tuttavia, la prevalenza dei classici fattori di rischio cardiovascolare risulta essere più bassa nei pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali rispetto alla popolazione generale, incluso un ridotto indice di massa corporea e colesterolemia, così come una minore prevalenza di ipertensione, diabete ed obesità [89,91,107]. Quindi, dato il profilo di rischio dei soggetti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali, la morbilità e la mortalità dovrebbero essere inferiori che nella popolazione generale. Tuttavia, questo non sembra corrispondere ai dati riportati in letteratura in quanto il tasso standardizzato di mortalità non è ridotto [108] ed il rischio di eventi cardiovascolari è aumentato nei soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali [87,93]. Le malattie infiammatorie croniche intestinali rappresentino un modello utile per studiare gli effetti sia dell'infiammazione cronica subclinica che dei picchi di infiammazione acuta nella patogenesi delle malattie cardiovascolari. La mia ipotesi è che nei soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali, il basso rischio cardiovascolare associato ad una bassa prevalenza dei fattori di rischio tradizionali potrebbe in parte compensare l'aumentato rischio cardiovascolare associato all'infiammazione cronica. La comprensione di questi effetti concomitanti ed inversi, per lo più non considerato nella stratificazione del rischio cardiovascolare dei soggetti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali, potrebbe spiegare il perché questi soggetti presentino un aumentato rischio cardiovascolare in assenza di un'aumentata prevalenza dei tradizionali fattori di rischio cardiovascolare. A tal riguardo, la rigidità arteriosa potrebbe rappresentare un link tra l'infiammazione cronica

ed il rischio cardiovascolare nei soggetti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali. Sono necessari studi basati su endpoints clinici forti per confermare come la riduzione della rigidità arteriosa porti ad una parallela riduzione del rischio cardiovascolare nelle malattie infiammatorie croniche intestinali così come ampiamente dimostrato in altri setting clinici. A questo riguardo, sebbene non siano statisticamente significative, l'andamento della proteina C reattiva durante il follow-up è in accordo con i restanti dati della tesi che suggeriscono una correlazione tra infiammazione e rigidità vascolare.

8.3 La rigidità arteriosa è ridotta dalla terapia immunomodulatrice nelle malattie infiammatorie croniche intestinali

Nello Studio 2 ho riportato come la terapia immunomodulatrice di lunga durata sia efficace nel ridurre la rigidità aortica nelle malattie infiammatorie intestinali. Questi risultati sono in accordo con evidenze simili precedentemente riportate nei pazienti con artrite reumatoide [28,29] che mostrano una riduzione a breve termine della PWV carotido-femorale ma non della PWV carotido-radiale dopo 12 settimane di terapia con farmaci anti TNF alfa e suggerisce che l'efficacia di questa terapia sulla riduzione della rigidità arteriosa possa essere mantenuta anche per lungo tempo. Inoltre, l'assenza della riduzione della PWV carotido-radiale durante il follow-up supporta l'ipotesi che possano essere implicati differenti meccanismi nell'irrigidimento delle arterie elastiche e muscolari in risposta all'infiammazione e potrebbe aiutare a spiegare perché la rigidità delle arterie muscolari sia maggiore di quella delle arterie elastiche in pazienti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali. I risultati qui esposti sono inoltre in

accordo con i dati che dimostrano come un'efficace terapia immunomodulatrice possa migliorare la disfunzione endoteliale nei soggetti affetti da malattie infiammatorie croniche [19] ed in altri modelli di infiammazione cronica [11,109]. Infine, i dati qui esposti dimostrano come la rigidità aortica aumenti significativamente meno nei soggetti trattati con farmaci immunomodulatori rispetto a quelli trattati solo con salicilati, suggerendo che i farmaci immunomodulatori potrebbero essere più efficaci rispetto ai salicilati nel ridurre l'infiammazione nelle malattie infiammatorie croniche intestinali e che soggetti trattati solo con salicilati potrebbero ancora avere una infiammazione subclinica.

8.4 Limiti dello studio

Il presente studio ha diversi punti di forza. Primo, questo è il primo studio in cui è stata misurata la rigidità delle arterie elastiche e muscolari nei soggetti affetti da rettocolite ulcerosa e morbo di Crohn ed è stata riportata una riduzione della rigidità arteriosa in questi soggetti dopo 3 anni di terapia immunomodulatoria. Secondo, in questo studio è stata utilizzata la metodica di riferimento per la valutazione della rigidità arteriosa (SpygmoCor; AtCor Medical, Sydney, Australia) [21]. Terzo, il potere dello Studio 1 è sufficiente per dimostrare che i soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali hanno un'aumentata rigidità aortica e l'analisi post-hoc del potere dello Studio 2 rivela che la numerosità del campione fornisce un adeguato potere dello studio (89%) per dimostrare che i farmaci immunomodulatori riducono la rigidità aortica. Infine, i risultati qui esposti evidenziano una forza di associazione, temporalità, consequenzialità, plausibilità biologica, gradiente e coerenza con studi precedenti eseguiti in altri modelli di infiammazione

cronica [28,29]. Queste caratteristiche rendono probabile che i risultati riflettano un fenomeno biologico piuttosto che un'associazione spuria [110].

Questo studio può avere qualche limitazione. Primo, potrebbe essere necessario studiare un maggior numero di soggetti per eseguire con un potere sufficiente analisi separate nei pazienti con morbo di Crohn e rettocolite ulcerosa così come in quelli con malattia in fase attiva o in remissione. Ciò nonostante, la rigidità arteriosa era comparabile tra i soggetti con morbo di Crohn e rettocolite ulcerosa ed i risultati dell'analisi multivariata rimanevano sostanzialmente immutati dopo correzione per il tipo di malattia infiammatoria cronica intestinale, durata e storia di riacutizzazione della malattia. Secondo, questo è uno studio osservazionale e, di conseguenza, l'assegnazione del tipo di trattamento ai soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali è stato, per definizione, non randomizzato. Questo riflette il fatto che non è stato considerato etico condurre uno studio randomizzato sui farmaci anti TNF-alfa nei soggetti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali che non hanno risposto alle altre classi di farmaci. Un disegno dello studio simile è stato precedentemente adottato da altri autori [28,101,109]. Noi abbiamo tentato di minimizzare i bias usando (a) un medico non a conoscenza del disegno per prescrivere la terapia immunomodulatoria, (b) un operatore blindato per la misurazione dei parametri emodinamici, (c) un secondo operatore blindato per la raccolta dei dati clinici attraverso un questionario standardizzato e (d) una procedura di matching). Tuttavia, in seguito alla natura non randomizzata del presente studio, non è possibile escludere la possibilità di una riduzione della pulse wave velocity carotido-femorale indipendente dalla terapia praticata. Infine, poiché gli esami ematochimici non erano disponibili nei controlli, non è stato

possibile eseguire una comparazione diretta dei livelli di proteina C reattiva, un biomarker di infiammazione acuta, tra i soggetti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali ed i rispettivi controlli. Tuttavia, i risultati di questo studio suggeriscono che sia necessaria una cronica infiammazione piuttosto che un episodio di infiammazione acuta per far aumentare la rigidità aortica nei soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali.

9. CONCLUSIONI

La rigidità aortica è aumentata nei soggetti con rettocolite ulcerosa ed in quelli con morbo di Crohn e può essere normalizzata da un trattamento di lunga durata con farmaci immunomodulatori. Questo dato suggerisce che un efficace controllo a lungo termine dell'infiammazione nei soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali possa ridurre il rischio cardiovascolare di questi soggetti e migliorare la rigidità arteriosa, un noto marker surrogato del rischio cardiovascolare.

10. SIGNIFICATO DELLO STUDIO

Le malattie infiammatorie croniche intestinali rappresentano un ottimo modello per studiare gli effetti dell'infiammazione cronica e di quella acuta nello sviluppo delle malattie cardiovascolari. Tutti i risultati del presente studio supportano l'ipotesi che nelle malattie infiammatorie croniche intestinali l'infiammazione sistemica sia associata ad un'aumentata rigidità arteriosa, un riconosciuto marker surrogato del rischio cardiovascolare, che la rigidità aortica può essere efficacemente ridotta dalla terapia immunomodulatoria (steroidi, azatioprina e farmaci anti TNF-alfa), come recentemente riportato in altri modelli di infiammazione cronica, e suggerisce che il controllo dell'infiammazione possa aiutare a ridurre il rischio cardiovascolare nei soggetti affetti da malattie infiammatorie croniche intestinali.

11. REFERENZE

1. Luscher TF. The Endothelium in Cardiovascular Disease. Springer-verlag: New York, 1995.
2. Suwaidi JA et al. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation* 2000;101:948–954.
3. Perticone F et al. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Circulation* 2001;104:191–196.
4. Arnett DK, Evans GW, Riley WA. Arterial stiffness: a new cardiovascular risk factor. *Am J Epidemiol* 1994;140:669–682.
5. Blacher J et al. Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. *Circulation* 1999; 99:2434–2439.
6. Laurent S et al. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension* 2001;37:1236–1241.
7. Meaume S et al. Aortic pulse wave velocity predicts cardiovascular mortality in subjects 470 years of age. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:2046–2050.
8. Cruickshank K et al. Aortic pulse-wave velocity and its relationship to mortality in diabetes and glucose intolerance: an integrated index of vascular function? *Circulation* 2002; 106:2085–2090.
9. London GM et al. Arterial wave reflections and survival in end-stage renal failure. *Hypertension* 2001; 38:434–438.
10. Glasser SP et al. Vascular compliance and cardiovascular disease: a risk factor or a marker? *Am J Hypertens* 1997;10:1175–1189.

11. Booth AD et al. Infliximab improves endothelial dysfunction in systemic vasculitis: a model of vascular inflammation. *Circulation* 2004;109:1718–1723.
12. Filer AD et al. Diffuse endothelial dysfunction is common to ANCA associated systemic vasculitis and polyarteritis nodosa. *Ann Rheum Dis* 2003;62:162–167.
13. Zanolì L, Cannavò M, Rastelli S, Di Pino L, Monte I, Di Gangi M, Boutouyrie P, Inserra G, Laurent S, Castellino P. Arterial stiffness is increased in patients with inflammatory bowel disease. *J Hypertens* 2012;30:1775-1781.
14. Zanolì L, Rastelli S, Inserra G, Lentini P, Valvo E, Calcagno E, Boutouyrie P, Laurent S, Castellino P. Increased arterial stiffness in inflammatory bowel diseases is dependent upon inflammation and reduced by immunomodulatory drugs. *Atherosclerosis*. 2014;234(2):346-51.
15. Papa A, Danese S, Urgesi R, Grillo A, et al. Early atherosclerosis in patients with inflammatory bowel disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2006;10(1):7-11.
16. Papa A, Santoliquido A, Danese S, Covino M, et al. Increased carotid intima–media thickness in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005;22(9):839-846.
17. Horowitz S, Binion DG, Nelson VM, Kanaa Y, et al. Increased arginase activity and endothelial dysfunction in human inflammatory bowel disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007;292:G1323-G1336.
18. Hatoum OA, Binion DG, Otterson MF, Gutterman DD. Acquired microvascular dysfunction in inflammatory bowel disease: Loss of nitric oxide-mediated vasodilation. *Gastroenterology*. 2003;125(1):58-69.

19. Schinzari F, Armuzzi A, De Pascalis B, Mores N, et al. Tumor necrosis factor-alpha antagonism improves endothelial dysfunction in patients with Crohn's disease. *Clin Pharmacol Ther* 2008;83(1):70-76.
20. Henriksen M, Jahnsen J, Lygren I, Stray N, et al; IBSEN Study Group. C-reactive protein: a predictive factor and marker of inflammation in inflammatory bowel disease. Results from a prospective population-based study. *Gut*. 2008;57(11):1518-23.
21. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J*. 2006;27(21):2588-605.
22. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, et al. 2007 guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2007;28:1462–1536.
23. Wållberg-Jonsson S, Johansson H, Ohman ML, Rantapää- Dahlqvist S. Extent of inflammation predicts cardiovascular disease and overall mortality in seropositive rheumatoid arthritis: a retrospective cohort study from disease onset. *J Rheumatol* 1999;26:2562-71.
24. Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation* 2001;103:1813-8.
25. Wong M, Toh L, Wilson A, et al. Reduced arterial elasticity in rheumatoid arthritis and the relationship to vascular disease risk factors and inflammation. *Arthritis Rheum* 2003;48:81-9.

26. Van Doornum S, McColl G, Jenkins A, Green DJ, Wicks IP. Screening for atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis: comparison of two in vivo tests of vascular function. *Arthritis Rheum* 2003;48:72-80.
27. Yildiz M, Soy M, Kurum T, Ozbay G. Increased pulse wave velocity and shortened pulse wave propagation time in young patients with rheumatoid arthritis. *Can J Cardiol* 2004;20:1097-100.
28. Mäki-Petäjä KM, Hall FC, Booth AD, Wallace SML, Yasmin, Bearcroft PWP, Harish S, Furlong A, McEniery CM, Brown J, Wilkinson IB. Rheumatoid arthritis is associated with increased aortic pulse-wave velocity, which is reduced by anti-tumor necrosis factor-alpha therapy. *Circulation* 2006;114:1185-1192.
29. Mäki-Petäjä KM, Elkhawad M, Cheriyan J, Joshi FR, Ostör AJ, Hall FC, Rudd JH, Wilkinson IB. Anti-tumor necrosis factor- α therapy reduces aortic inflammation and stiffness in patients with rheumatoid arthritis. *Circulation*. 2012;126(21):2473-80.
30. Selzer F, Sutton-Tyrrell K, Fitzgerald S, Tracy R, Kuller L, Manzi S. Vascular stiffness in women with systemic lupus erythematosus. *Hypertension* 2001;37:1075-82.
31. Hahn BH. Systemic lupus erythematosus and accelerated atherosclerosis. *N Engl J Med* 2003; 349: 2379-80.[41] Petri M. Epidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *J Autoimmun* 2000;15:145-51.
32. Petri M. Epidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *J Autoimmun* 2000;15:145-51.
33. Farzaneh-Far A, Roman MJ, Lockshin MD, et al. Relationship of antiphospholipid antibodies to cardiovascular manifestations of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006;54:3918- 25.

34. Manzi S, Wasko MC. Inflammation-mediated rheumatic diseases and atherosclerosis. *Ann Rheum Dis* 2000;59:321-5.
35. Tsimakis S, Brilakis ES, Miller ER, et al. Oxidized phospholipids, Lp(a) lipoprotein, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005;353:46-57.
36. Wityk RJ, Kittner SJ, Jenner JL, et al. Lipoprotein (a) and the risk of ischemic stroke in young women. *Atherosclerosis* 2000;150:389-96.
37. Henn V, Slupsky JR, Gräfe M, et al. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature* 1998;391:591-4.
38. Yildiz M, Yildiz SB, Soy M, Tutkan H. Impairment of arterial distensibility in premenopausal women with systemic lupus erythematosus. *Kardiol Pol* 2008;66:1194-9
39. Lamprecht P, Gross WL. Wegener's granulomatosis. *Herz* 2004;29:47-56.
40. Csernok E, Muller A, Gross WL. Immunopathology of ANCA-associated vasculitis. *Intern Med* 1999;38:759-65.
41. Csernok E, Ernst M, Schmitt W, Bainton DF, Gross WL. Activated neutrophils express proteinase 3 on their plasma membrane in vitro and in vivo. *Clin Exp Immunol* 1994;95:244-50.
42. Jagiello P, Gencik M, Arning L, et al. New genomic region for Wegener's granulomatosis as revealed by an extended association screen with 202 apoptosis-related genes. *Hum Genet* 2004;114:468-77.
43. Reumaux D, Duthilleul P, Roos D. Pathogenesis of disease associated with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Hum Immunol* 2004;65:1-12.
44. de Leeuw K, Sanders J-S, Stegeman C, Smit A, Kallenberg CG, Bijl M. Accelerated atherosclerosis in patients with Wegener's granulomatosis. *Ann Rheum Dis* 2005;64:753-9.

45. Yildiz M, Soy M, Kürüm T, Yildiz BS. Arterial distensibility in Wegener's granulomatosis: a carotid-femoral pulse wave velocity study. *Anadolu Kardiyol Derg* 2007;7:281-5
46. Myers W, Opeola M, Gottlieb AB. Common clinical features and disease mechanisms of psoriasis and psoriatic arthritis. *Curr Rheumatol Rep* 2004;6:306-13.
47. Gaspari AA. Innate and adaptive immunity and the pathophysiology of psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 2006;54(3 Suppl 2):S67- 80.
48. Scarpa R, Oriente P, Pucino A, et al. Psoriatic arthritis in psoriatic patients. *Br J Rheumatol* 1984;23:246-50.
49. Peters MJ, van der Horst-Bruinsma IE, Dijkmans BA, Nurmohamed MT. Cardiovascular risk profile of patients with spondylarthropathies, particularly ankylosing spondylitis and psoriatic arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 2004;34:585-92.
50. Soy M, Yildiz M, Sevki UM, Karaca N, Güfer G, Piskin S. Susceptibility to atherosclerosis in patients with psoriasis and psoriatic arthritis as determined by carotid-femoral (aortic) pulsewave velocity measurement. *Rev Esp Cardiol* 2009;62:96-9.
51. Gisondi P, Fantin F, Del Giglio M, et al. Chronic plaque psoriasis is associated with increased arterial stiffness. *Dermatology* 2009;218:110-3.
52. Sohar E, Gafni J, Pras M, Heller H. Familial Mediterranean fever: a survey of 470 cases and review of the literature. *Am J Med* 1967;43:227-53.
53. Sohar E, Pras M, Sohar E, Modan M, Cabili S, Gafni J. Colchicine in the prevention and treatment of the familial Mediterranean fever. *N Engl J Med* 1986;314:1001-5.

54. Yildiz M, Masatlioglu S, Seymen P, Aytac E, Sahin B, Seymen HO. The carotid-femoral (aortic) pulse wave velocity as a marker of arterial stiffness in familial Mediterranean fever. *Can J Cardiol* 2006;22:1127-31.
55. Yildiz M, Biteker M, Ozkan M. Assessment of aortic stiffness and ventricular functions in familial Mediterranean fever. *Anadolu Kardiyol Derg* 2008;8:395.
56. Pras E, Aksentijevich I, Gruberg L, et al. Mapping of a gene causing familial Mediterranean fever to the short arm of chromosome 16. *N Engl J Med* 1992;326:1509-13.
57. Ayesh SK, Ferne M, Flechner I, Babior BM, Matzner Y. Partial characterization of a C5a-inhibitor in peritoneal fluid. *J Immunol* 1990;144:3066-70.
58. Schatner A, Lachmi M, Livneh A, Pras M, Hahn T. Tumor necrosis factor in familial Mediterranean fever. *Am J Med* 1991;90:434-8.
59. Smith MJ, Ford-Hutchinson AW, Bray MA. Leukotriene B: a potential mediator of inflammation. *J Pharm Pharmacol* 1980;32:517-8.
60. Huang ZS, Jeng JS, Wang CH, Yip PK, Wu TH, Lee TK. Correlations between peripheral differential leukocyte counts and carotid atherosclerosis in non-smokers. *Atherosclerosis* 2001;158:431-6.
61. Nieto FJ, Szklo M, Folsom AR, Rock R, Mercuri M. Leukocyte count correlates in middle-aged adults: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) Study. *Am J Epidemiol* 1992;136:525-37.
62. Weijenberg MP, Feskens EJ, Kromhout D. White blood cell count and the risk of coronary heart disease and all-cause mortality in elderly men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:499-503.

63. Scadding JG, Mitchell DN. Sarcoidosis. 2nd ed. Chapman & Hall: London 1985.
64. Müller-Quernheim J. Sarcoidosis: immunopathogenetic concepts and their clinical application. *Eur Respir J* 1998;12:716-38.
65. Takemura T, Shishiba T, Akiyama O, Oritsu M, Matsui Y, Eishi Y. Vascular involvement in cutaneous sarcoidosis. *Pathol Int* 1997;47:84-9.
66. Gran JT. Multiorgan sarcoidosis presenting with symmetric polyarthralgia, cutaneous vasculitis, and sicca symptoms. *Scand J Rheumatol* 1997;26:225-6.
67. Muscari A, Nanni Costa A, Bozzoli C, et al. Immunologic changes in circulating leukocytes in presence of atherosclerotic disease. *Recent Prog Med* 1994;85:66-73.
68. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1135-43.
69. Asmar R, Benetos A, Topouchian J, et al. Assessment of arterial distensibility by automatic pulse wave velocity measurement: validation and clinical application studies. *Hypertension* 1995;26:485-90.
70. Balci H, Sipahi DS, Yildiz M, Metin G, Simse KG. The evaluation of the relationship between the inflammatory markers and arterial distensibility in patients with sarcoidosis. *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2010 (in press).
71. Sakane T, Takeno M, Suzuki N, Inaba G. Behçet's disease. *N Engl J Med* 1999;341:1284-91.
72. Niwa Y, Miyake S, Sakane T, Shingu M, Yokoyama M. Autooxidative damage in Behçet's disease – endothelial cell damage following the elevated

oxygen radicals generated by stimulated neutrophils. Clin Exp Immunol 1982;49:247-55.

73. Freitas JP, Filipe P, Yousefi A, Emerit I, Guerra Rodrigo F. Oxidative stress in Adamantiades-Behçet's disease. Dermatology 1998;197:343-8.

74. Orem A, Deger O, Cimsit G, Karahan SC, Akyol N, Yildirmis S. Plasma lipoprotein (a) and its relationship with disease activity in patients with Behçet's disease. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1995;33:473-8.

75. Orem A, Cimsit G, Deger O, Vanizor B, Karahan SC. Autoantibodies against modified low-density lipoprotein in patients with Behçet's disease. Dermatology 1999;198:243-6

76. Kurum T, Yildiz M, Soy M, Ozbay G, Alimgil L, Tüzün B. Arterial distensibility as determined by carotid-femoral pulse wave velocity in patients with Behçet's disease. Clin Rheumatol 2005;24:134- 8.

77. Medsger TA, Masi AT. Epidemiology of progressive systemic sclerosis. Clin Rheum Dis 1979;5:15-25.

78. Timár O, Soltész P, Szamosi S, et al. Increased arterial stiffness as the marker of vascular involvement in systemic sclerosis. J Rheumatol 2008;35:1329-33.

79. Cypiene A, Laucevicius A, Venalis A, et al. The impact of systemic sclerosis on arterial wall stiffness parameters and endothelial function. Clin Rheumatol 2008;27:1517-22.

80. Johnston SL, Lock RJ, Gompels MM. Takayasu arteritis: a review. J Clin Pathol 2002;55:481-6.

81. Arend WP, Michel BA, Bloch DA. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Takayasu's arteritis. Arthritis Rheum 1990;33:1129-34.

82. Ng WF, Fantin F, Ng C, et al. Takayasu's arteritis: a cause of prolonged arterial stiffness. *Rheumatology (Oxford)* 2006;45:741-5.
83. Akdoğan RA, Durakoğlugil ME, Kocaman SA, Çiçek Y, Durakoğlugil T, Ergül E, Rakıcı H. Increased pulse wave velocity and carotid intima-media thickness in patients with ulcerative colitis. *Dig Dis Sci.* 2013;58(8):2293-300.
84. Korkmaz H, Sahin F, Ipekci SH, Temel T, Kebapçılar L. Increased pulse wave velocity and relationship with inflammation, insulin, and insulin resistance in inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2014;26(7):725-32.
85. Theocharidou E, Mavroudi M, Soufleris K, Griva TH, Giouleme O, Athyros VG, Karagiannis A. Aortic stiffness in patients with inflammatory bowel diseases. *Hellenic Journal of Atherosclerosis* 4(3):200-207.
86. Theocharidou E, Tellis CC, Mavroudi M, Soufleris K, Gossios TD, Giouleme O, Athyros VG, Tselepis AD, Karagiannis A. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and arterial stiffness evaluation in patients with inflammatory bowel diseases. *J Crohns Colitis.* 2014;8(9):936-44.
87. Yarur AJ, Deshpande AR, Pechman DM, Tamariz L, et al. Inflammatory bowel disease is associated with an increased incidence of cardiovascular events. *Am J Gastroenterol.* 2011;106(4):741-747.
88. Van Leuven SI, Hezemans R, Levels JH, Snoek S, et al. Enhanced atherogenesis and altered high density lipoprotein in patients with Crohn's disease. *J Lipid Res.* 2007;48(12):2640-2646.
89. Geerling BJ, Badart-Smook A, Stockbrügger RW, Brummer RJ. Comprehensive nutritional status in recently diagnosed patients with inflammatory bowel disease compared with population controls. *Eur J Clin Nutr* 2000;54:514-521.

90. Levy E, Rizwan Y, Thibault L, Lepage G, et al. Altered lipid profile, lipoprotein composition, and oxidant and antioxidant status in pediatric Crohn disease. *Am J Clin Nutr.* 2000;71:807-815.
91. Jahnsen J, Falch JA, Mowinckel P, Aadland E. Body composition in patients with inflammatory bowel disease: A population-based study. *Am J Gastroenterol* 2003;98:1556-1562.
92. Dorn SD, Sandler RS. Inflammatory bowel disease is not a risk factor for cardiovascular disease mortality: results from a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 2007 Mar;102(3):662-7.
93. Haapamäki J, Roine RP, Turunen U, Färkkilä MA, Arkkila PE. Increased risk for coronary heart disease, asthma, and connective tissue diseases in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis.* 2011;5(1):41-7.
94. Moreau KL, Deane KD, Meditz AL, Kohrt WM. Tumor necrosis factor- α inhibition improves endothelial function and decreases arterial stiffness in estrogen-deficient postmenopausal women. *Atherosclerosis* 2013;230:390-396.
95. Kelly Rp, Hayward Cs, Ganis J., Daley Jm, Avolio Ap, O'Rourke Mf. Non-invasive registration of the arterial pulse waveform using high-fidelity applanation tonometry. *J Vasc Med Biol* 1989;1:142-149.
96. Van Bortel LM, Laurent S, Boutouyrie P, Chowienczyk P, Cruickshank JK, De Backer T, Filipovsky J, Huybrechts S, Mattace-Raso F, Protogerou AD, Schillaci G, Segers P, Vermeersch S, Weber T, on behalf of the Artery Society, the European Society of Hypertension Working Group on Vascular Structure and Function and the European Network for Noninvasive Investigation of Large Arteries. Expert consensus document on the

measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. *J Hyperten* 2012;30:445-448.

97. Harvey RF, Bradshaw MJ. A simple index of Crohn's-disease activity. *Lancet* 1980;1(8167):514.

98. Pietri P, Vyssoulis G, Vlachopoulos C, Zervoudaki A, Gialernios T, Aznaouridis K, Stefanadis C. Relationship between low-grade inflammation and arterial stiffness in patients with essential hypertension. *J Hypertens* 2006;24(11):2231-2238.

99. Yasmin, McEniery CM, Wallace S, Mackenzie IS, Cockcroft JR, Wilkinson IB. C-reactive protein is associated with arterial stiffness in apparently healthy individuals. *Arterioscler Thromb Vascul Biol* 2004; 24:969-974.

100. Roman MJ, Devereux RB, Schwartz JE, Lockshin MD, Paget SA, Davis A, Crow MK, Sammaritano L, Levine DM, Shankar BA, Moeller E, Salmon JE. Arterial stiffness in chronic inflammatory diseases. *Hypertension*. 2005;46(1):194-199.

101. Booth AD, Wallace S, McEniery CM, Yasmin, Brown J, Jayne DR, Wilkinson IB. Inflammation and arterial stiffness in systemic vasculitis: a model of vascular inflammation. *Arthritis Rheum* 2004;50:581-8.

102. Schillaci G, De Socio G, Pucci G, R. Mannarino MR, Helou J, Pirro M, Mannarino E. Aortic Stiffness in Untreated Adult Patients With Human Immunodeficiency Virus Infection. *Hypertension* 2008;52:308-313.

103. Vlachopoulos C, Dima I, Aznaouridis K, Vasiliadou C, Ioakeimidis N, Aggeli C, Toutouza M, Stefanadis C. Acute systemic inflammation increases arterial stiffness and decreases wave reflection in healthy individuals. *Circulation* 2005;112:2193-2200.

104. Danese S, Sgambato A, Papa A, Scaldaferrì F, Pola R, Sans M, Lovecchio M, Gasbarrini G, Cittadini A, Gasbarrini A. Homocysteine triggers mucosal microvascular activation in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol.* 2005;100(4): 886-895.
105. Bregenzer N, Hartmann A, Strauch U, Schölmerich J, Andus T, Bollheimer LC. Increased insulin resistance and beta cell activity in patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2006;12(1):53-56.
106. Wilkinson IB, Qasem A, McEniery CM, Webb DJ, Avolio AP, Cockcroft JR. Nitric oxide regulates local arterial distensibility in vivo. *Circulation* 2002;105:213-7.
107. Levy E, Rizwan Y, Thibault L, Lepage G, Brunet S, Bouthillier L, Seidman E. Altered lipid profile, lipoprotein composition, and oxidant and antioxidant status in pediatric Crohn disease. *Am J Clin Nutr.* 2000;71:807-815.
108. Dorn SD, Sandler RS. Inflammatory bowel disease is not a risk factor for cardiovascular disease mortality: results from a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2007;102(3):662-7.
109. Hurlimann D, Forster A, Noll G, Enseleit F, Chenevard R, Distler O, Bechir M, Spieker LE, Neidhart M, Michel BA, Gay RE, Luscher TF, Gay S, Ruschitzka F. Anti-tumor necrosis factor-alpha treatment improves endothelial function in patients with rheumatoid arthritis. *Circulation* 2002;106:2184-2187.
110. Bradford-Hill AB. The environment and disease: association or causation. *Proc R Soc Med* 1965;58:295-300.

Tabella 2.1 Studi che hanno valutato la rigidità arteriosa nelle malattie infiammatorie croniche intestinali.

Autore	Malattia in fase attiva / anti TNF-alfa	Pazienti, n				Pulse wave velocity, m/s				P value	
		Crohn	RU	IBD TOT.	Controlli	Crohn	RU	IBD TOT.	Controlli	a-b	c-d
Zanoli L. et al (2012) [13]	12% / 9%	16	16	32	32	---	---	6.6±1.4	6.0±0.8	---	<0.05
Akdogan RA et al. (2013) [83]	100% / 5%	---	37	37	30	---	8.9±3.0	8.9±3.0	7.2±1.7	---	<0.05
Zanoli L et al. (2014) [14]	72% / 19%	34	40	74	80	8.0±1.6	7.8±1.7	---	7.0±1.1	NS	<0.05
Korkmaz H. et al. (2014) [84]	100% / 0-5%	---	---	38	74	---	---	6.6±1.2	6.0±1.3	---	<0.05
Theocharidou E. et al. (2013) [85]	26% / 44%	43	23	66	44	6.8±1.3	6.3±1.1	6.6±1.3	6.1±0.9	NS	NS
Theocharidou E. et al. (2014) [86]	27% / 46%	29	15	44	44	7±1.2	6.3±1.2	6.8±1.2	6.4±0.9	<0.05	NS

Tabella 2.2 Principali parametri clinici della popolazione [13].

Parametri	IBD M (SD)	Controlli M (SD)	p
<i>Pazienti, n</i>	32	32	
Età, anni	30 (9)	31 (7)	NS
Sesso maschile, %	59	59	NS
Peso, Kg	67.1 (14.0)	69.0 (12.6)	NS
Altezza, m	1.68 (0.10)	1.68 (0.10)	NS
BMI, Kg/m ²	23.5 (3.6)	24.3 (2.8)	NS
Frequenza cardiaca, b/min	68 (9)	65 (10)	NS
Pressione sistolica brachiale, mm Hg	115 (10)	113 (11)	NS
Pressione diastolica brachiale, mm Hg	66 (10)	68 (8)	NS
Pressione differenziale brachiale, mm Hg	49 (10)	45 (11)	NS
Pressione media brachiale, mm Hg	82 (9)	83 (7)	NS
Pressione sistolica centrale, mm Hg	99 (11)	97 (8)	NS
Pressione diastolica centrale, mm Hg	67 (11)	69 (9)	NS
Pressione differenziale centrale, mm Hg	32 (6)	28 (7)	<0.05
Pressione media centrale, mm Hg	81 (10)	80 (9)	NS
PWV carotido-femorale, m/s	6.6 (1.4)	6.0 (0.8)	<0.05
PWV carotido-radiale, m/s	8.5 (1.2)	7.2 (1.0)	<0.001
Augmentation index, %	7.4 (10.5)	1.5 (15.4)	NS

PWV, pulse wave velocity.

Tabella 2.3 Principali dati di laboratorio dei pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali [13].

Parametri	Valori
Colesterolo totale, mg/dL	162±26
LDL, mg/dL	95±17
HDL, mg/dL	46±13
Glicemia, mg/dL	86±8
Proteina C-reattiva, mg/L	0.57 [0.35-1.32]
VES, mm/h	18±10

I dati sono riportati come media ± deviazione standard o mediana [range interquartile].

Tabella 2.4 Determinanti della rigidità arteriosa [13].

Parametri	Aumento R ²	Coeff. beta	Intervallo di confidenza	P-value	
Popolazione dello studio nel suo insieme					
<i>Variabile dipendente: PWV carotido-femorale</i> ⁽¹⁾					
età, anni	0.11	0.05	0.01	0.09	<0.05
IBD	0.10	0.90	0.23	1.58	<0.05
R ² =0.20					
Pazienti con IBD					
<i>Variabile dipendente: PWV carotido-radiale</i> ⁽¹⁾					
Età, anni	0.31	0.09	0.04	0.13	<0.001
R ² =0.41					

(1) Aggiustato per l'uso di terapia steroidea o farmaci immunosoppressori (si/no) ed attività di malattia (si/no).
Unità beta: m/s. IBD, malattia infiammatoria cronica intestinale; PWV, pulse wave velocity.

Tabella 7.1 Principali dati clinici dei soggetti arruolati nello Studio 1 [14].

Parametri	Controlli	Rettocolite ulcerosa	Morbo di Crohn	P-value
<i>Pazienti, n</i>	80	40	34	
Età, anni	38 (13)	38 (14)	36 (14)	0.74
Sesso maschile, %	50	53	47	0.90
Indice di massa corporea, Kg/m ²	24.7 (4.3)	24.6 (4.9)	23.8 (5.0)	0.62
Frequenza cardiaca, b/min	67 (11)	68 (10)	70 (11)	0.27
Pressione sistolica brachiale, mm Hg	115 (12)	118 (12)	118 (13)	0.30
Pressione diastolica brachiale, mm Hg	70 (9)	69 (10)	70 (12)	0.91
Pressione media brachiale, mm Hg	84 (10)	86 (10)	87 (13)	0.40
Pressione sistolica centrale, mm Hg	102 (12)	105 (12)	106 (16)	0.27
Pressione diastolica centrale, mm Hg	71 (9)	70 (10)	71 (12)	0.90
Alx _{HR} , %	13.8 (3.9)	17.1 (3.7) [*]	16.4 (4.0) [#]	<0.001
PWV carotido-femorale, m/s	7.0 (1.1)	7.8 (1.7) [#]	8.0 (1.6) [*]	<0.001
PWV carotido-radiale, m/s	7.2 (0.9)	8.8 (1.4) [#]	8.8 (1.3) [#]	<0.001
Proteina C-reattiva, mg/dL	---	1.12 (1.44)	0.80 (1.07)	0.29
Colesterolo totale, mg/dl	---	164 (21)	156 (19)	0.12
Glucosio plasmatico, mg/dl	---	83 (10)	84 (6)	0.50
In remissione, %	---	73	71	0.86
Malattia estesa, %	---	38	56	0.11
Durata della malattia, anni	---	5.9 (5.6)	7.0 (6.2)	0.42
Storia di riacutizzazioni, %	---	70	62	0.46
Terapia				0.92
Salicilati, %	---	38	38	
Steroidi e azatioprina, %	---	45	41	
Anti TNF alfa, %	---	17	21	

PWV, pulse wave velocity; Alx_{HR}, augmentation index corretta per la frequenza cardiaca. ^{*}P<0.001 vs. controlli; [#]P<0.05 vs. controlli.

Tabella 7.2 Analisi multivariata della rigidità arteriosa nello Studio 1 [14].

Parametri	incremento R ²	Coeff. beta	CI	P-value
Tutti i soggetti (n=154)				
<i>Variabile dipendente: PWV carotido-femorale *</i>				
IBD	0.09			
Rettocolite ulcerosa		0.77	0.39-1.15	<0.001
Morbo di Crohn		1.01	0.61-1.42	<0.001
<i>Variabile dipendente: PWV carotido-radiale *</i>				
IBD	0.30			
Rettocolite ulcerosa		1.50	1.09-1.91	<0.001
Morbo di Crohn		1.58	1.14-2.02	<0.001
<i>Variabile dipendente: Alx_{HR} #</i>				
IBD	0.16			
Rettocolite ulcerosa		3.6	2.1-5.0	<0.001
Morbo di Crohn		3.0	1.5-4.6	<0.001
IBD (n=74)				
<i>Variabile dipendente: PWV carotido-femorale *</i>				
Durata della malattia, 1 anno	0.03	0.054	0.001-0.108	<0.05
<i>Variabile dipendente: PWV carotido-radiale *</i>				
PCR, 1 mg/dL	0.05	0.26	0.04-0.47	0.02
Storia di ricadute	0.08	0.84	0.24-1.45	0.01

*Aggiustato per età, sesso, pressione arteriosa media e frequenza cardiaca; Beta unit: m/s. #Aggiustato per età, sesso, pressione arteriosa. Unità beta: %. PWV, pulse wave velocity; Alx_{HR}, augmentation index corretto per la frequenza cardiaca; CI, intervallo di confidenza; IBD, malattie infiammatorie croniche intestinali

Tabella 7.3 Principali dati clinici dei soggetti arruolati nello Studio 1 [14].

Parametri	Controlli	IBD			P-value
		Salicilati	Steroidi e azatioprina	Anti TNF-alfa	
<i>Pazienti, n</i>	30	14	11	7	
Età, anni	30 (13)	31 (6)	30 (10)	33 (9)	0.65
Sesso maschile, %	60	64	45	43	0.67
Pressione sistolica brachiale, mm Hg	113 (12)	116 (11)	114 (7)	113 (12)	0.82
Pressione diastolica brachiale, mm Hg	68 (9)	66 (10)	68 (9)	67 (10)	0.84
Pressione media brachiale, mm Hg	82 (10)	82 (9)	83 (8)	83 (11)	0.99
PWV carotido-femorale, m/s	6.9 (1.0)	7.3 (0.9)	6.9 (1.3)	7.7 (1.2)	0.29
PWV carotido-radiale, m/s	7.2 (0.8)	8.5 (1.0)	8.5 (1.9)	9.2 (1.4)	<0.001
Alx _{HR} , %	9.6 (4.8)	11.8 (6.4)	10.7 (4.4)	11.2 (5.3)	0.57
Proteina C-reattiva, mg/dL	---	0.74 (1.01)	0.60 (0.83)	1.40 (1.81)	0.36
Morbo di Crohn, %	---	36	55	43	0.64
In remissione, %	---	71	91	57	0.25
Malattia estesa %	---	29	55	57	0.31
Durata di malattia, anni	---	3.9 (4.6)	4.7 (2.7)	8.5 (7.5)	0.12
Storia di ricadute, %	---	43	73	86	0.11

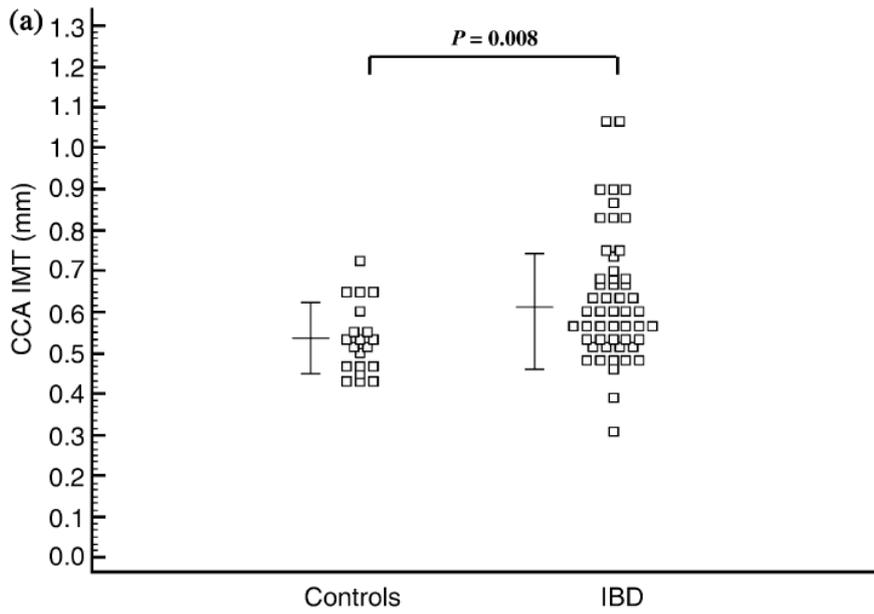
IBD, malattie infiammatorie croniche intestinali; PWV, pulse wave velocity; Alx_{HR}, augmentation index corretta per la frequenza cardiaca. *P<0.001 vs. controlli; #P<0.05 vs. controlli.

Tabella 7.4 Effetti a lungo termine della terapia immunomodulatrice sull'infiammazione e sui parametri emodinamici [14].

Parametri	Controlli		Salicilati		Steroidi e azatioprina		Anti TNF-alfa		P-value	
	Basale	Follow-up	Basale	Follow-up	Basale	Follow-up	Basale	Follow-up	1-way repeated-measures ANOVA	Mixed models per misure ripetute
<i>Pazienti, n</i>	30	30	14	14	11	11	7	7		
Pressione media brachiale, mm Hg	82 (10)	83 (7)	82 (9)	82 (9)	83 (8)	81 (9)	83 (11)	83 (10)	0.59	---
Proteina C-reattiva, mg/dL	---	---	0.74 (1.01)	1.18 (1.31)	0.60 (0.83)	0.59 (0.71)	1.40 (1.81)	0.38 (0.35)	0.04	0.04
PWV carotido-femorale, m/s	6.9 (1.0)	7.2 (1.0)*	7.2 (0.9)	7.9 (1.2) [#]	6.9 (1.3)	6.9 (1.0)	7.7 (1.2)	7.6 (1.1)	0.002	0.003
PWV carotido-radiale, m/s	7.2 (0.8)	7.2 (0.7)	8.5 (1.0)	8.9 (1.1)	8.5 (1.9)	9.0 (1.8)	9.2 (1.4)	9.2 (1.5)	0.26	---
AI _{HR} , %	9.6 (4.8)	10.1 (2.2)	11.8 (6.4)	13.6 (1.7)	10.7 (4.4)	9.0 (2.6)	11.2 (5.3)	8.7 (2.6)	0.18	---

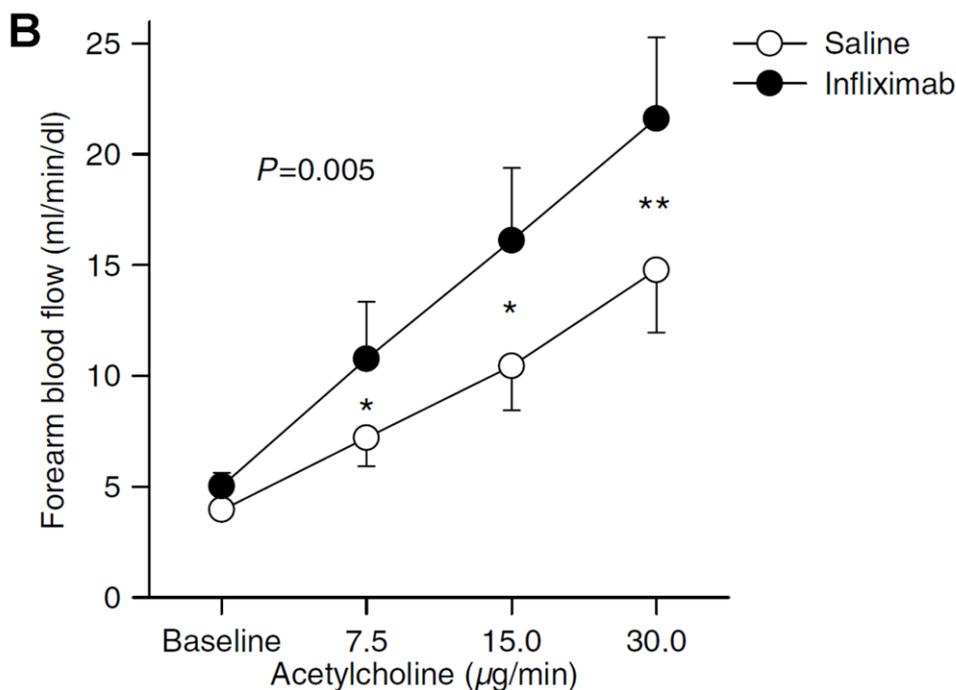
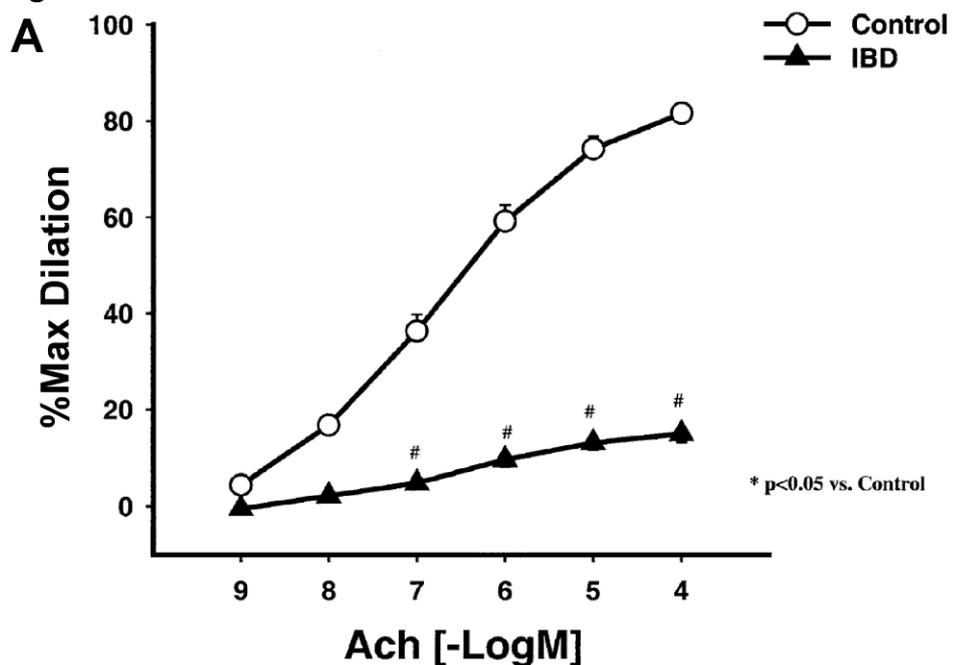
PWV, pulse wave velocity; AI_{HR}, augmentation index corretta per la frequenza cardiaca. Differenza I dati al basale ed alla fine del follow-up (test di Bonferroni): *P<0.05; [#]P<0.001.

Figura 1.1



Spessore intima-media (IMT) dell'arteria carotide comune (CCA) in pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali ed in un gruppo di controllo [16].

Figura 1.2

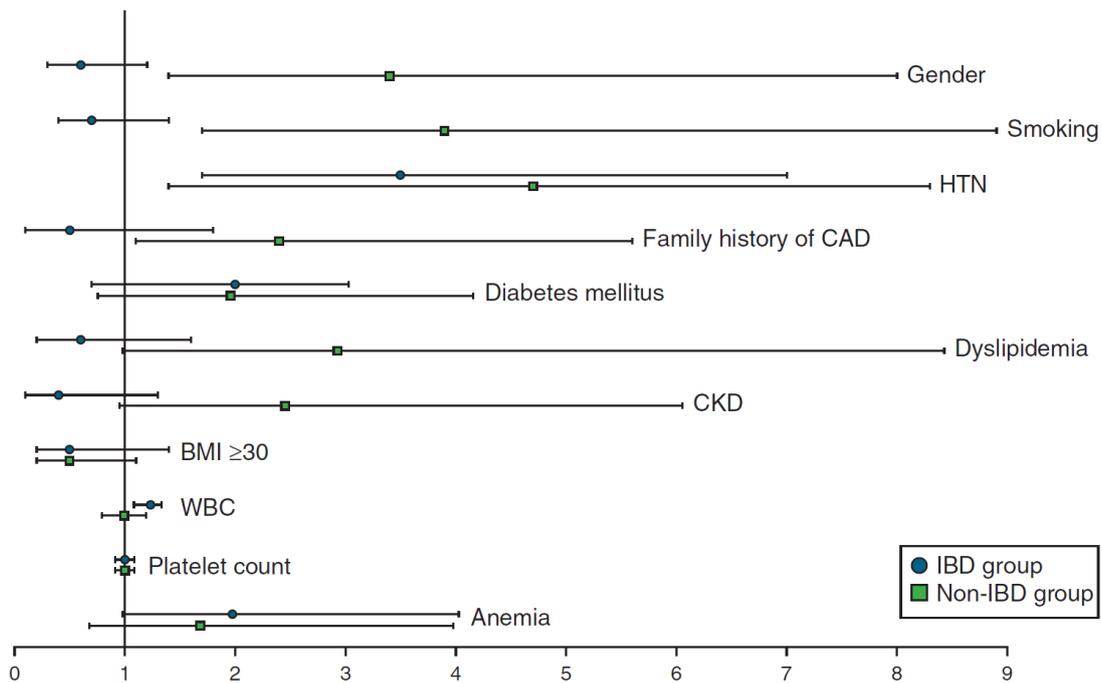


Pannello A: Risposta all'acetilcolina (Ach) in microvasi della sottomucosa dell'intestino in soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali ed in controlli. I microvasi provenienti dai controlli si dilatano in risposta a dosi crescent di acetilcolina mentre I microvasi provenienti da soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali presentano una attenuate dilatazione in seguito all'incubazione con acetilcolina (*P<0.05). I vasi erano stati precostretti con endotelina 1. L'asse Y indica la variazione percentuale dal diametro precostretto. I valori sono presentati come media \pm errore standard [68].

Pannello B: Valori di flusso sanguigno dell'avanbraccio in risposta all'infusione intrarteriosa di dosi crescent di acetilcolina in pazienti con morbo di Crohn durante una concomitante infusione di soluzione salina o infliximab (200 mg/min). I valori sono espressi

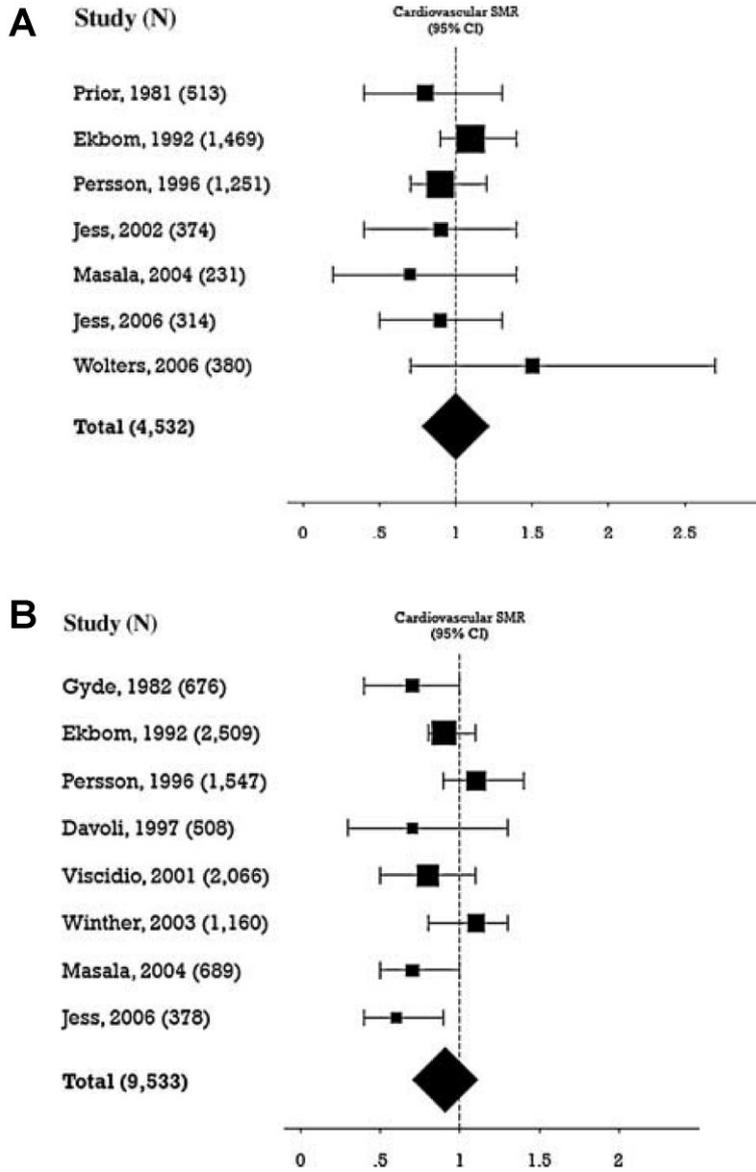
come media \pm errore standard. I valori della P si riferiscono al paragone della risposta vasale tra i due trattamenti in un esame della varianza a due code per dati ripetuti. *P<0.05; **P<0.01 all'analisi post hoc di Bonferroni [19].

Figura 1.3



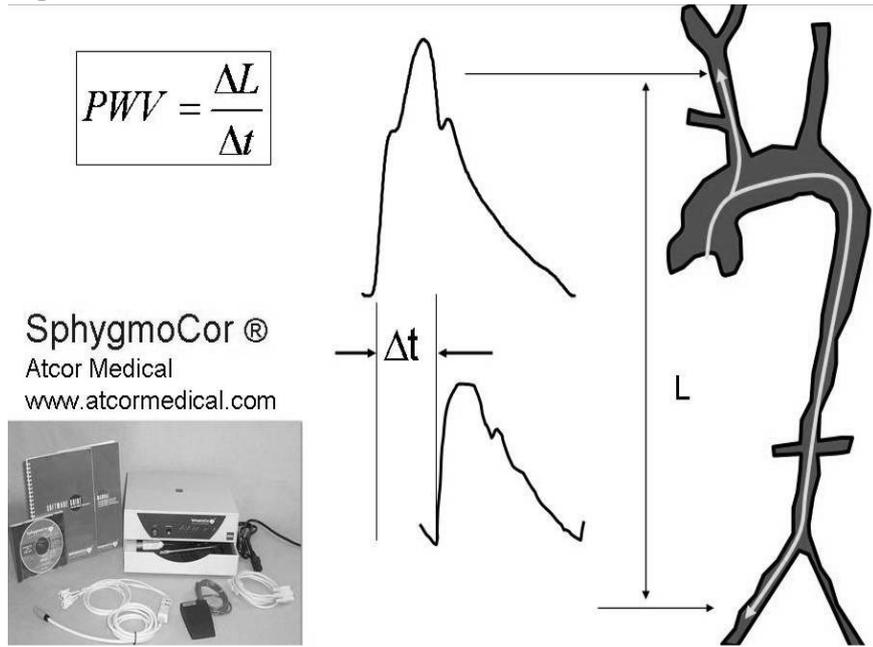
Impatto dei fattori di rischio tradizionali sugli eventi coronarici nei pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali e nei controlli. BMI, indice di massa corporea; CAD, malattia coronarica; CKD, insufficienza renale cronica; CV, cardiovascolare; HTN, ipertensione; IBD, malattie infiammatorie croniche intestinali; WBC, leucociti [87].

Figura 1.4



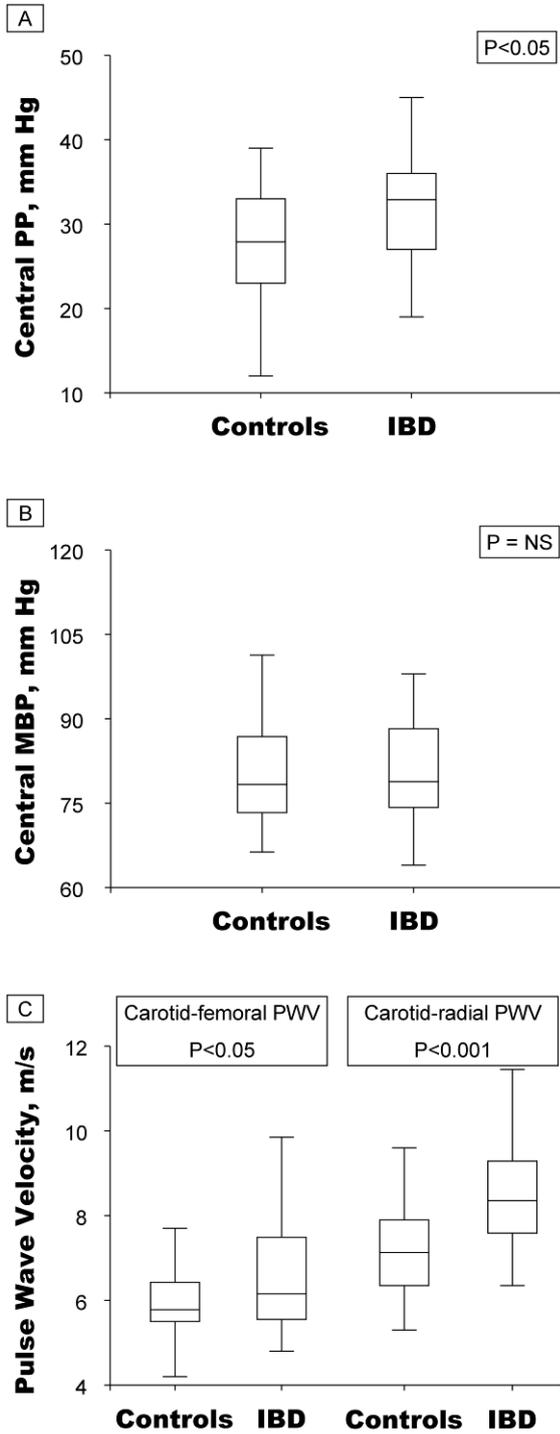
Tasso standardizzato di mortalità nei pazienti con malattia di Crohn (**Pannello A**) e rettocolite ulcerosa (**Pannello B**) [92].

Figura 2.1



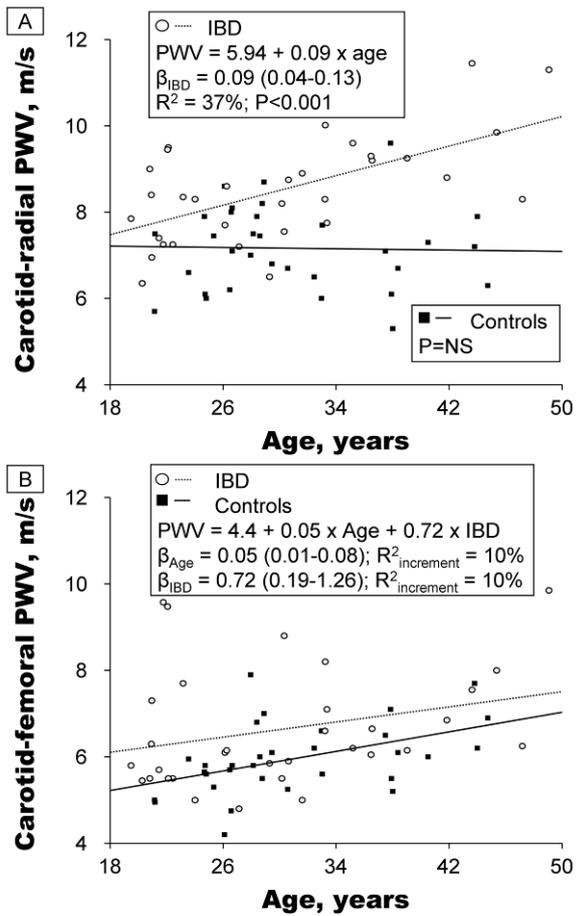
Apparecchiatura per la misurazione della pulse wave velocity (PWV).
PWV = distanza (ΔL , metri) / intervallo di tempo (Δt , secondi) [21].

Figura 2.2



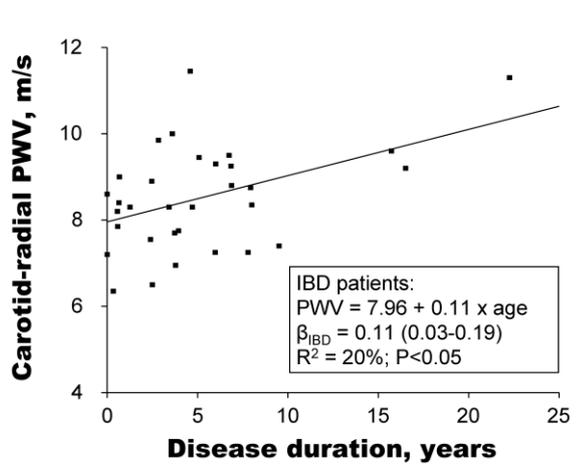
Pressione differenziale centrale (Pannello A), media (Pannello B) e rigidità arteriosa (Pannello C) nei pazienti con malattie infiammatorie croniche intestinali (IBD) e nei controlli [14].

Figura 2.3



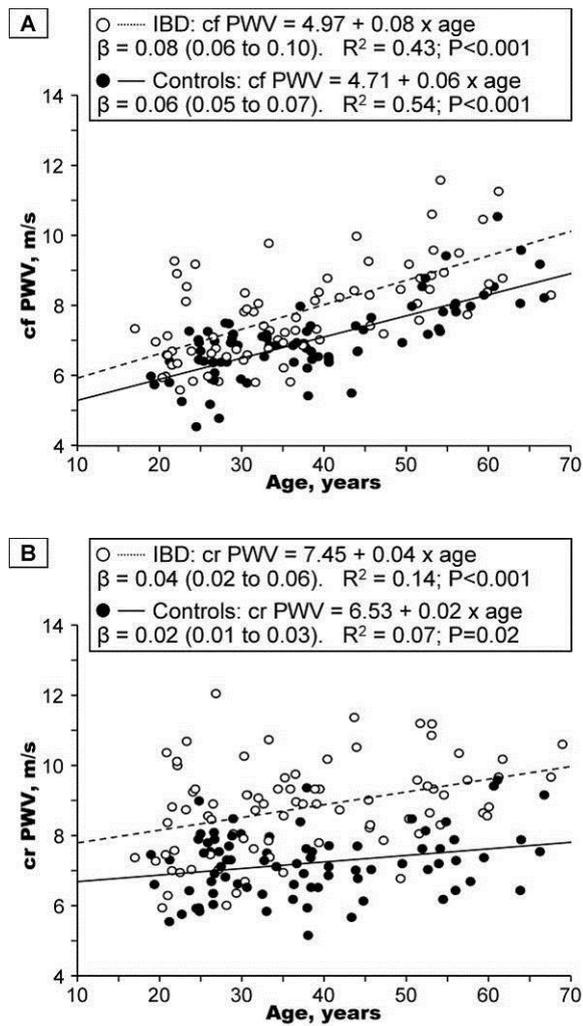
Correlazione tra l'età dei pazienti e la rigidità arteriosa. Pannello A: PWV carotido-radiale (arteria muscolare); Pannello B: PWV carotido-femorale (arteria elastica) [14].

Figura 2.4



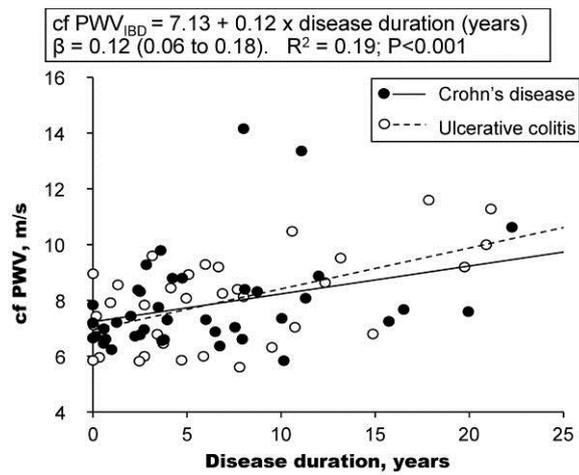
Correlazione tra durata della malattia e PWV carotido-radiale (arteria muscolare) [14].

Figura 7.1



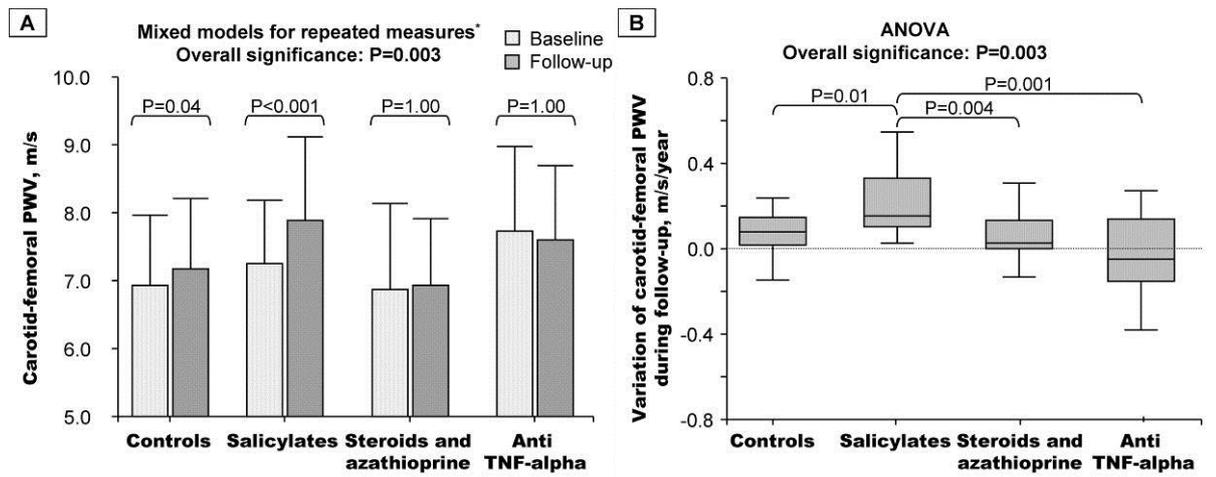
Associazione tra rigidità arteriosa ed età. Pannello A, pulse wave velocity carotido-femorale (cf PWV); Pannello B, pulse wave velocity carotido-radiale (cr PWV) [14].

Figura 7.2



Associazione tra pulse wave velocity carotido-femorale e durata della malattia nello Studio 1. Analisi cumulativa nei soggetti con malattie infiammatorie croniche intestinali considerati in un gruppo unico (cf PWV_{IBD}). Sono anche riportate le linee di regressione dei soggetti con rettocolite ulcerosa (- - -) e morbo di Crohn (-----) [14].

Figura 7.3



Variatione della pulse wave velocity carotido-femorale (PWV) durante il follow-up.
 *Aggiustato per età, sesso, pressione arteriosa media, frequenza cardiaca e durata del follow-up [14].