

Aterosclerosi subclinica in giovani pazienti con artrite reumatoide e bassa attività di malattia*

Subclinical atherosclerosis in young patients with rheumatoid arthritis and low disease activity

E. Bartoloni Bocci, S. Marchesi¹, F. Delle Monache, G. Vaudo¹, A. Giordano, F. Ragni Alunni, C. Angrisani, E. Mannarino¹, Y. Shoenfeld², R. Gerli

Centro per lo Studio delle Malattie Reumatiche e Sez. di Medicina Interna, Angiologia e Malattie da Aterosclerosi

¹Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Perugia;

²Department of Medicine B and Center for Autoimmune Diseases, Chaim Sheba Medical Center, Tel-Hashomer, Israel

SUMMARY

Background: *There is an increasing body of evidence suggesting that subjects with rheumatoid arthritis (RA) are characterized by acceleration of atherosclerotic process of arterial wall. However, all investigations performed so far to evaluate subclinical atherosclerosis in RA included subjects without selection for age and degree of disease activity that may represent confounding factors in such an evaluation.*

Objectives: *To verify signs of accelerated subclinical atherosclerosis in young subject suffering from RA but with low disease activity.*

Methods: *Thirty-two patients with RA and 28 age- and sex-matched control subjects with non-inflammatory rheumatic diseases were enrolled. Inclusion criteria were age less than 60 and low disease activity with score ≤ 3.2 according to DAS28, while subjects with traditional risk factors for and/or overt cardiovascular disease were ruled out from the study. Both patients and controls underwent evaluation of carotid and femoral artery intima-media thickness by ultrasounds.*

Results: *Patients had higher intima-media thickness than controls of all the sites evaluated at carotid artery level, whereas there were no differences at the comparison of the superficial and common femoral artery wall. At the univariate analysis, a positive correlation between LDL cholesterol levels and intima-media thickness at the carotid bifurcation was found.*

Conclusions: *Young patients with RA and low disease activity have acceleration of atherosclerosis development as shown by increased intima-media thickness of carotid artery with respect to subjects without inflammatory rheumatic disease. It is conceivable that the organic damage of arterial wall could be the result of persistent endothelial dysfunction induced by chronic inflammation and immune dysregulation which characterize RA.*

Reumatismo, 2005; 57(1):16-21

INTRODUZIONE

Vi sono ormai molte evidenze che l'artrite reumatoide (AR) è associata ad una ridotta aspettativa di vita (1, 2). La principale causa di morte è

dovuta a patologie cardiovascolari (1-4), i cui meccanismi possono essere innescati piuttosto precocemente lungo il decorso naturale della malattia reumatoide (3, 5).

Benché l'interessamento cardiaco in corso di AR possa essere molto variegato, la principale causa di morte cardiovascolare in tali pazienti sembra essere legata a malattia coronarica ischemica secondaria ad aterosclerosi (1, 5, 6). Tuttavia, il ruolo giocato dai tradizionali fattori di rischio cardiovascolare nel promuovere il processo aterosclerotico appaiono meno rilevanti nell'AR che nella popolazione generale. In realtà, l'AR sem-

*Lavoro premiato al XL Congresso SIR, Udine 2003

Indirizzo per la corrispondenza:

Prof. Roberto Gerli

Centro per lo Studio delle Malattie Reumatiche

Sez. di Medicina Interna e Scienze Oncologiche

Policlinico di Monteluce

06122 Perugia

E-mail: gerli@unipg.it

bra rappresentare di per se stessa un significativo fattore di rischio per lo sviluppo precoce di aterosclerosi e malattia cardiovascolare (7). In tale contesto, una serie di studi sperimentali, clinici ed epidemiologici hanno suggerito che l'infiammazione cronica che caratterizza l'AR ha un ruolo chiave nel promuovere un processo aterosclerotico accelerato (1-6) e non appare un caso che i meccanismi patogenetici alla base dell'aterosclerosi, che oggi si pensa dominati dal processo immuno-flogistico (8), sono per molti aspetti del tutto analoghi a quelli caratterizzanti la sinovite reumatoide (9).

Alcune osservazioni hanno suggerito che l'eccessiva mortalità è prevalentemente dimostrabile in soggetti con malattia più diffusa e grave e ciò potrebbe indurre a pensare che processi vasculitici possano essere coinvolti nel determinismo del danno vascolare (2). Al contrario, vi sono evidenze dimostranti che una disfunzione, più che una diretta infiammazione del vaso, possa essere alla base degli eventi iniziali del danno endoteliale (10). In effetti, alterazioni delle funzionalità endoteliale sono state riscontrate in diverse casistiche di pazienti con AR, indipendentemente da età, durata di malattia o sieropositività per il fattore reumatoide (11-14). Benché l'omeostasi endoteliale possa essere alterata da diversi fattori, l'opinione prevalente è che la disfunzione endoteliale nell'AR sia essenzialmente dovuta all'infiammazione (10).

Una persistente disfunzione dell'endotelio può predisporre a danno organico della parete vascolare che, in uno stadio preclinico, può essere facilmente rilevabile dalla misurazione ecografica dello spessore medio-intimale. Vi sono in tal senso alcuni studi che hanno confermato che pazienti con AR presentano un incremento dello spessore medio-intimale rispetto a soggetti di controllo di pari età e sesso (15-20). Tutti questi studi, tuttavia, hanno incluso anche soggetti molto anziani, non considerando quindi il fattore età che notoriamente influenza in modo determinante la valutazione di aterosclerosi subclinica e rappresenta quindi fattore fortemente confondente. Per tale motivo si è ritenuto interessante valutare la parete arteriosa carotidea e femorale in vari distretti con metodica ecografica non invasiva in giovani soggetti con AR. Si è pensato anche di escludere pazienti che presentavano un elevato grado di attività di malattia nei quali è già stato possibile dimostrare un incremento della mortalità cardiovascolare (2).

PAZIENTI E METODI

Sono stati arruolati, previo consenso informato, 32 pazienti di razza bianca, di cui 4 di sesso maschile e 28 femminile, seguiti ambulatoriamente per artrite reumatoide diagnosticata in accordo ai criteri classificativi dell'American College of Rheumatology (21). La durata media di malattia era di 11 ± 8 anni (media \pm DS). Ventotto soggetti di pari età (4 maschi e 24 femmine) valutati presso lo stesso ambulatorio per patologia reumatica non infiammatoria sono stati inclusi come controlli. Come criteri di inclusione, i pazienti dovevano avere un'età inferiore ai 60 anni e presentare una bassa attività di malattia con uno score ≤ 3.2 valutato secondo il DAS28 (22). Inoltre, criteri di esclusione sia per i pazienti che per i controlli erano rappresentati da: pregressa angina coronarica, precedente infarto miocardico o ictus ischemico cerebrale, storia familiare di malattia coronarica precoce almeno in un parente di 1° grado, soggetto iperteso con valori della pressione arteriosa $\geq 150/90$ mm Hg o in trattamento antiipertensivo, soggetto fumatore o che comunque aveva smesso di fumare da meno di due anni, diabete mellito secondo i criteri WHO, anamnesi positiva per iperlipemia, indice di massa corporea superiore a 30 kg/m^2 , infezioni in atto, insufficienza renale, neoplasie o altre malattie del tessuto connettivo. Nei soggetti in terapia con antiinfiammatori non steroidei, si provvedeva alla loro sospensione almeno 30 giorni prima dello studio. Al momento della valutazione dei 32 pazienti, 13 erano in trattamento con basse dosi (≤ 5 mg/die) di prednisone, 20 erano in terapia con dosi settimanali tra i 7.5 ed i 15 mg di methotrexate associati a supplementi di acido folinico, 6 con idrossiclorochina (200 mg/die), 2 con azatioprina (100 mg/die) e 2 con salazopirina (2 gr/die). Tutti i soggetti venivano sottoposti ad accurata valutazione clinica e prelievo ematico a digiuno per la determinazione di: velocità di eritrosedimentazione (VES), proteina C reattiva (PCR) e fattore reumatoide (FR) (metodica lasernefelometrica), colesterolo totale, trigliceridi (metodo enzimatico colorimetrico), colesterolo HDL (metodo enzimatico colorimetrico dopo precipitazione in glicopolietilene), colesterolo LDL (formula di Friedwald) e omocisteina (cromatografia liquida ad alta efficienza). Per una quantificazione del grado di flogosi nel tempo per ciascun paziente, oltre alla determinazione dei livelli sierici di PCR al momento dello studio, si determinava il livello medio di PCR valutando i valori della stessa in più determinazio-

ni (almeno 4/anno) durante la malattia (PCR media). Tale valore veniva poi moltiplicato per gli anni di malattia per ottenere un grado di flogosi globale per ciascun paziente (PCR media globale).

Ciascun paziente veniva sottoposto a valutazione ultrasonografica dello spessore medio intimale a carico del distretto carotideo e femorale. In dettaglio, vengono identificate la carotide comune, la biforcazione della carotide comune, la carotide interna, la femorale comune, la biforcazione della femorale comune, la femorale superficiale. Successivamente nelle sedi sopra descritte è stato misurato lo spessore medio-intimale definito dalla distanza lineare misurata perpendicolarmente all'asse lungo del vaso, tra l'interfaccia lume-endotelio e l'interfaccia media-avventizia (23).

I risultati sono espressi come media±deviazione standard (DS). È stata inoltre condotta un'analisi univariata mediante Pearson. È stata assunta come significativa una $p < 0.05$. I dati sono stati collezionati in SPSS 10.

RISULTATI

I pazienti inclusi nello studio, tutti di età inferiore ai 60 anni, presentavano, di conseguenza, un'età media inferiore a quella dei gruppi di pazienti arruolati nei precedenti studi (Tab. I) e comunque, sovrapponibile a quella dei soggetti di controllo (età

media ± SD dei pazienti: 50 ± 7 vs 48 ± 8 dei controlli, N.S.). Analogamente, non c'erano differenze statisticamente significative dell'indice di massa corporea, della pressione arteriosa e dell'omocisteina. Per quanto riguarda i livelli di lipemia, il livello medio di colesterolo totale era superiore nei pazienti per un incremento del colesterolo HDL, mentre colesterolemia LDL e trigliceridemia erano simili nei due gruppi (Tab. II).

Come dimostrato nella tabella III, lo spessore medio-intimale della parete arteriosa era significativamente aumentato a livello di tutte le sedi carotidiche valutate, mentre non si evidenziavano differenze a livello delle arterie femorali. All'analisi univariata emergeva una correlazione positiva fra i livelli di colesterolo LDL e spessore medio-intimale della biforcazione carotidea nei pazienti ($r = 0.44$; $p < 0.05$), ma non nei controlli, mentre i diversi valori di spessore medio-intimale non erano correlati con VES, PCR e FR.

DISCUSSIONE

Questo studio ha dimostrato che soggetti giovani affetti da AR, ma con bassa attività di malattia, presentano uno spessore medio-intimale della parete arteriosa delle carotidi superiore a quello riscontrabile in soggetti di controllo di pari sesso ed età. Ciò conferma che soggetti con malattia reu-

Tabella I - Comparazione delle età medie dei pazienti con AR inclusi negli studi di valutazione dello spessore medio-intimale.

| Primo Autore | Anno di pubblicazione | N° di pazienti | Età media (anni) | Deviazione standard | Range | Voce bibliografica |
|--------------|-----------------------|----------------|------------------|---------------------|-------|--------------------|
| Kumeda | 2002 | 138 | 55 | 10.7 | - | 15 |
| Park | 2002 | 53 | 55 | 3.2 | - | 16 |
| Del Rincon | 2003 | 204 | 59.6 | - | 40-83 | 17 |
| Alkaabi | 2003 | 40 | 56 | - | 37-77 | 18 |
| Nagata | 2003 | 62 | 54.5 | 11.3 | - | 19 |
| Gerli | 2004 | 87 | 63 | 10 | - | 20 |
| Bartoloni | 2004 | 32 | 50 | 7 | 27-59 | Presente studio |

Tabella II - Livelli di colesterolo e trigliceridi nei 32 pazienti con AR e nei 28 soggetti di controllo.

| Livelli plasmatici | Artrite reumatoide | Controlli | P |
|-----------------------------|--------------------|---------------|----------|
| Colesterolo totale (mmol/L) | 5.7 ± 0.9 | 5.1 ± 1.1 | < 0.05 |
| Colesterolo LDL (mmol/L) | 3.5 ± 0.8 | 3.2 ± 1.0 | N.S.* |
| Colesterolo HDL (mmol/L) | 1.6 ± 0.5 | 1.3 ± 0.4 | < 0.05 |
| Trigliceridi (mmol/L) | 1.0 ± 0.7 | 1.3 ± 0.6 | N.S. |

*N.S.: Non significativo

Tabella III - Valutazione ecografica dello spessore medio-intimale dei distretti arteriosi carotidei e femorali nei 32 pazienti con AR e nei 28 soggetti di controllo.

| Sede di valutazione | Pazienti | Controlli | P |
|-----------------------|------------|-----------|--------|
| Carotide interna | 0.74±0.19* | 0.64±0.16 | <0.031 |
| Carotide comune | 0.78±0.17 | 0.66±0.15 | <0.007 |
| Biforcazione | 0.92±0.21 | 0.71±0.20 | <0.001 |
| Carotide (media) | 0.81±0.17 | 0.67±0.16 | <0.002 |
| Femorale comune | 0.79±0.18 | 0.71±0.21 | NS |
| Femorale superficiale | 0.68±0.14 | 0.68±0.20 | NS |
| Femorale (media) | 0.73±0.14 | 0.70±0.20 | NS |
| *Media ± DS | | | |

matoide presentano un'accelerazione dei processi di aterosclerosi rispetto a quanto aspettabile nella popolazione generale. Questo dato è di notevole importanza se si considera che i risultati, a differenza di tutti i precedenti studi (15-20), sono stati ottenuti in una popolazione di pazienti selezionati per età inferiore ai 60 anni e quindi eliminando uno dei principali fattori confondenti legati all'età avanzata dei soggetti che, come noto, può giocare un ruolo decisivo nello sviluppo del processo aterosclerotico.

La valutazione ecografica dello spessore medio-intimale a livello carotideo è una delle metodiche non invasive più comunemente impiegate per la valutazione di aterosclerosi subclinica e rischio vascolare. In uno studio prospettico della durata media di 6.2 anni su un'ampia casistica di 4.476 adulti privi di apparenti rischi per malattia cardiovascolare, si è dimostrato che l'incremento dello spessore medio-intimale della parete carotidea è altamente predittiva per infarto del miocardio ed ictus ischemico (24). L'evidenza quindi di un significativo incremento di tale spessore in soggetti così giovani è molto rilevante nel dimostrare che l'AR rappresenta un fattore di rischio cardiovascolare indipendentemente dal fattore età.

I meccanismi attraverso i quali i pazienti con AR sviluppano malattia aterosclerotica così precocemente non sono ancora del tutto chiari. Il fumo rappresenta sicuramente un elemento rilevante nell'AR sia nell'induzione della produzione di fattore reumatoide che nel determinare aggravamento di malattia che, a sua volta, può rappresentare motivo favorente lo sviluppo di aterosclerosi (1, 2). Proprio per questo motivo, peraltro, in questo studio il fumo rappresentava motivo di esclusione. L'omocisteina, che è dimostrato essere importante fattore di rischio indipendente di aterosclerosi (25), presenta spesso elevati livelli plasmatici

nell'AR (26). Ciò può essere dovuto all'assunzione di methotrexate che notoriamente favorisce tale incremento (27). Tuttavia, i pazienti del presente studio non presentavano una significativa differenza dei livelli plasmatici di omocisteina rispetto a quelli dei controlli, probabilmente per il fatto che tutti i soggetti in trattamento con methotrexate assumevano supplementi di folati in grado di normalizzare l'omocisteinemia (28). Ancora, si è postulato che l'AR sia associata con un profilo lipidico aterogenico caratterizzato da incremento di colesterolo LDL ed incremento di lipoproteine LP(a) che possono esercitare un'azione protrombotica (29, 30). Nel presente studio, come era possibile aspettarsi, è stata trovata una correlazione tra i livelli di colesterolo LDL ed un incremento di spessore medio-intimale carotideo, ma solo a livello della biforcazione. I livelli di colesterolo totale, peraltro, erano incrementati nei pazienti rispetto ai controlli per un incremento del colesterolo HDL, che può essere innalzato dal trattamento corticosteroidico concomitante (31), ma che notoriamente esercita azione protettiva per malattia cardiovascolare aterosclerotica.

Benchè in questo studio siano stati selezionati solo pazienti con bassa attività di malattia, la differenza fondamentale tra i due gruppi di soggetti resta quella rappresentata dalla flogosi cronica. Esistono quindi i presupposti per pensare che l'infiammazione abbia un ruolo decisivo nel favorire il danno vascolare aterosclerotico subclinico attraverso l'induzione di una disfunzione endoteliale che, come ampiamente dimostrato, rappresenta il danno più precoce nello sviluppo della malattia aterosclerotica (32, 33). Il fatto che non sia stato possibile evidenziare una correlazione tra i livelli di PCR, intesa come livello al momento del prelievo, PCR media o globale, e spessore medio-intimale carotideo non rappresenta motivo di esclusione.

sione di tale ipotesi in quanto tali parametri sono meglio associabili al danno funzionale reversibile dell'endotelio (14), che non al danno organico ormai permanente della parete vascolare visualizzata ecograficamente. Accanto a tale ipotesi, è possibile immaginare che altri fattori di natura immunologica possano comunque avere un ruolo importante nella genesi della precoce aterosclerosi di questi soggetti, come dimostrato in patologie autoimmuni sistemiche e nella stessa AR (20, 34). A tale proposito è possibile che gli anticorpi anticardiolipina, descritti in una sottopopolazione di pazienti con AR, possano avere un importante ruolo

favorente lo sviluppo di aterosclerosi, come dimostrato di recente dal nostro gruppo in una popolazione di pazienti diversa da quella del presente studio (35).

In conclusione, i dati del presente studio sostengono precedenti osservazioni di processo aterosclerotico accelerato in soggetti con AR ed indicano che tale precocità del processo è indipendente dal fattore età. È del tutto possibile immaginare che l'alterazione della parete vascolare sia favorita da una disfunzione dell'endotelio a sua volta indotta dalla flogosi cronica anche se di bassa intensità.

RIASSUNTO

Esistono sempre maggiori evidenze che soggetti con artrite reumatoide (AR) sono caratterizzati da accelerazione del processo aterosclerotico della parete arteriosa. Tuttavia, tutti gli studi condotti sinora per valutare aterosclerosi subclinica nell'AR hanno incluso soggetti senza una selezione per età e grado di attività di malattia che possono rappresentare fattori confondenti in tale valutazione.

Obiettivi: Verificare segni di aterosclerosi subclinica accelerata in soggetti giovani affetti da AR ma con bassa attività di malattia.

Metodi: Sono stati inclusi 32 pazienti con AR e 28 soggetti di controllo di pari età e sesso affetti da malattie reumatiche non flogistiche. Criteri di inclusione comprendevano un'età inferiore ai 60 anni ed una bassa attività di malattia con uno score ≤ 3.2 secondo il DAS28, mentre erano esclusi dallo studio soggetti con tradizionali fattori di rischio o anamnesi positiva per malattia cardiovascolare. Sia i pazienti che i controlli sono stati sottoposti a valutazione ecografica dello spessore medio-intimale arterioso della carotide e della femorale.

Risultati: I pazienti avevano uno spessore medio-intimale più elevato dei controlli di tutte le sedi valutate a livello dell'arteria carotidea, mentre non vi erano differenze alla comparazione della parete arteriosa della femorale superficiale e comune. All'analisi univariata, è stata rilevata una correlazione positiva tra i livelli di colesterolo LDL ed ispessimento medio-intimale alla biforcazione della carotide.

Conclusioni: Giovani pazienti con AR e bassa attività di malattia hanno un'accelerazione dello sviluppo di aterosclerosi come dimostrato da incremento dello spessore medio-intimale dell'arteria carotidea rispetto a soggetti privi di malattia reumatica infiammatoria. È concepibile pensare che il danno organico della parete arteriosa possa essere il risultato di una persistente disfunzione endoteliale indotta dalla flogosi cronica che caratterizza l'AR.

Parole chiave - Artrite reumatoide, aterosclerosi, spessore medio-intimale, ecografia.

Key words - Rheumatoid arthritis, atherosclerosis, intima-media thickness, ultrasounds.

BIBLIOGRAFIA

1. Van Doornum S, Mc Coll G, Wicks IP. Accelerated atherosclerosis. An extraarticular feature of rheumatoid arthritis? *Arthritis Rheum* 2002; 46: 862-73.
2. Goodson NJ. Cardiac involvement in rheumatoid arthritis. In "The heart in systemic autoimmune diseases", Doria A, Pauletto P Eds. Elsevier 2004, 121-43.
3. Goodson NJ, Wiles NJ, Lunt M, Barrett EM, Silman AJ, Symmons DP. Mortality in early inflammatory polyarthritis: cardiovascular mortality is increased in seropositive patients. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2010-9.
4. Solomon DH, Karlson EW, Rimm EB, Cannuscio CC, Mandl LA, Manson JE, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in women diagnosed with rheumatoid arthritis. *Circulation* 2003; 107: 1303-7.
5. Kaplan JM, McCune WJ. New evidence for vascular disease in patients with early rheumatoid arthritis. *Lancet* 2003; 361: 1068-9.
6. Bacon PA, Townend JN. Nails in the coffin. Increasing evidence for the role of rheumatic disease in the cardiovascular mortality of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2707-10.
7. del Rincon I, Williams K, Stern MP, Freeman GL, Escalante A. High incidence of cardiovascular events in a rheumatoid arthritis cohort not explained by traditional cardiac risk factors. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2737-45.
8. Ross R. Mechanisms of disease: atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-26.
9. Pasceri V, Yeh ETH. A tale of two diseases. Atherosclerosis and rheumatoid arthritis. *Circulation*. 1999; 100: 2124-6.

10. Bacon PA, Raza K, Banks MJ, Townend J, Kitas GD. The role of endothelial cell dysfunction in the cardiovascular mortality of rheumatoid arthritis. *Int Rev Immunol* 2002; 21: 1-17.
11. Bergholm R, Leirisalo-Repo M, Vehkavaara S, Maki-mattila S, Taskinen MR, Yki-Jarvinen H. Impaired responsiveness to NO in newly diagnosed patients with rheumatoid arthritis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 1637-41.
12. Hürlimann D, Forster A, Noll G, Enseleit F, Chenevard R, Distler O, et al. Anti-tumor necrosis factor-alpha treatment improves endothelial function in patients with rheumatoid arthritis. *Circulation* 2002; 106: 2184-7.
13. 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.
14. Vaudo G, Marchesi S, Gerli R, Allegrucci R, Giordano A, Siepi D, et al. Endothelial dysfunction in young rheumatoid arthritis patients with low disease activity. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 31-5.
15. Kumeda Y, Inaba M, Goto H, Nagata M, Henmi Y, Furumitsu Y, et al. Increased thickness of the arterial intima-media detected by ultrasonography in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1489-97.
16. Park Y-B, Ahn C-W, Choi HK, Lee SH, In BH, Lee HC, et al. Atherosclerosis in rheumatoid arthritis. Morphologic evidence obtained by carotid ultrasound. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1714-9.
17. del Rincon I, Williams K, Stern MP, Freeman GL, O'Leary DH, Escalante A. Association between carotid atherosclerosis and markers of inflammation in rheumatoid arthritis patients and healthy subjects. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 1833-40.
18. Alkaabi JK, Ho M, Levison R, Pullar T, Belch JJ, Pullar T, Belch JJ. Rheumatoid arthritis and macrovascular disease. *Reumatology* 2003; 42: 292-7.
19. Nagata-Sakurai M, Inaba M, Goto H, Kumeda Y, Furumitsu Y, Inui K, et al. Inflammation and bone resorption as independent factors of accelerated arterial wall thickening in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 3061-7.
20. Gerli R, Schillaci G, Giordano A, Bocci EB, Bistoni O, Vaudo G, et al. CD4+CD28- T lymphocytes contribute to early atherosclerotic damage in rheumatoid arthritis patients. *Circulation* 2004; 109: 2744-8.
21. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315-24.
22. Prevoo ML, van 't Hof MA, Kuper HH, van Leeuwen MA, van de Putte LB, van Riel PL. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 44-8.
23. Vaudo G, Marchesi S, Siepi D, Bagaglia F, Paltriccia R, Pirro M, et al. Relevance of homocysteine on brachial flow-mediated vasodilatation and carotid and femoral intima-media thickness in patients with hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2004; 93: 1413-6.
24. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. *N Engl J Med* 1999; 340: 14-22.
25. Clarke R, Daly L, Robinson K, Naughten E, Cahalane S, Fowler B, et al. Hyperhomocysteinemia : an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991; 324: 1194-8.
26. Roubenoff R, Dellariipa P, Nadeau MR, Abad LW, Muldoon BA, Selhub J, et al. Abnormal homocysteine metabolism in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 718-22.
27. Haagsma CJ, Blom HJ, van Riel PL, van't Hof MA, Giesendorf BA, van Oppenraaij-Emmerzaal D, et al. Influence of sulphasalazine, methotrexate, and the combination of both on plasma homocysteine concentrations in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1999; 58: 79-84.
28. Morgan SL, Baggott JE, Lee JY, Alarcon GS. Folic acid supplementation prevents deficient blood folate levels and hyperhomocysteinemia during longterm, low dose methotrexate therapy for rheumatoid arthritis: implications for cardiovascular disease prevention. *J Rheumatol* 1998; 25: 441-6.
29. Lakatos J, Harsagyi A. Serum total, HDL, LDL cholesterol, and triglyceride levels in patient with rheumatoid arthritis. *Clin Biochem* 1988; 21: 93-6.
30. Rantapaa-Dahlqvist S, Wallberg-Johnsson S, Dahlen G. Lipoprotein (a), lipids, and lipoproteins in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1991; 50: 366-8.
31. Svenson KL, Lithell H, Hallgren R, Vessby B. Serum lipoprotein in active rheumatoid arthritis and other chronic inflammatory arthritides. II. Effects of anti-inflammatory and disease-modifying drug treatment. *Arch Intern Med* 1987; 147: 1917-20.
32. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrang D, et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 1235-41.
33. Perticone F, Ceravolo R, Pujia A, Ventura G, Iacopino S, Scozzafava A, et al. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Circulation* 2001; 104: 191-6.
34. Hahn BH. Systemic lupus erythematosus and accelerated atherosclerosis. *N Engl J Med* 2003; 349: 2379-80.
35. Bartoloni Bocci E, Shoenfeld Y, Vaudo G, Bistoni O, Ragni Alunni F, Delle Monache F, et al. Aterosclerosi subclinica in pazienti con artrite reumatoide: associazione con anticorpi anticardiolipina. *Reumatismo* 2004; 56(S3): 249 (Abstr.).