

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PAVIA  
DOTTORATO DI RICERCA IN MEDICINA SPERIMENTALE XXX CICLO  
Coordinatore Professor Paolo Dionigi



**REMISSIONE DRUG FREE NELL'ARTRITE REUMATOIDE:  
OUTCOME A LUNGO TERMINE E FATTORI PREDITTIVI**

Tesi di Dottorato di  
Francesca Benaglio  
Anno Accademico 2016-2017

Tutor Professor Roberto Caporali

INDICE	pag
<b>PREFAZIONE</b>	4
<b>INTRODUZIONE</b>	5
<b>Artrite reumatoide</b>	6
Epidemiologia, genetica ed eziologia	6
Cenni di fisiopatologia: autoimmunità e infiammazione	7
Criteri classificativi ACR/EULAR 2010	9
Raccomandazioni EULAR per la gestione dell'artrite reumatoide: update 2016	9
<b>Remissione clinica</b>	12
Ritardo diagnostico e early referral	12
Misure di remissione clinica	15
Criteri ACR e ACR modificati	15
Criteri EULAR: DAS44 e DAS28	16
CDAI e SDAI	17
Criteri FDA	18
Set di criteri basati sui patient reported outcomes	18
Criteri di remissione ACR/EULAR 2011	18
Minimal disease activity	20
Comprehensive disease control	20
<b>Ruolo dell'ecografia nella remissione clinica</b>	22
<b>La radiografia convenzione nella remissione clinica</b>	26
<b>Marcatori sierologici e immunologici: CXCL13</b>	28
<b>La remissione drug free</b>	30
Trials storici randomizzati e controllati	30
Trials clinici con protocolli step-down	32
<b>Flare di malattia dopo sospensione del DMARD</b>	35
<b>RICERCHE PERSONALI</b>	37
<b>Obiettivo dello studio</b>	38
<b>Pazienti e metodi</b>	39
Reclutamento dei pazienti	39
Prima valutazione presso l'ambulatorio dedicato alla remissione clinica	40
Follow-up presso l'ambulatorio dedicato alla remissione clinica	41
Protocollo di ritrattamento	41

<b>INDICE</b>	<b>pag</b>
Indici compositi di malattia utilizzati	42
Ecografia articolare	42
Radiografia convenzionale di mani e piedi: metodo di lettura	44
Esami di laboratorio: autoanticorpi e CXCL13	46
<b>Misure di outcome</b>	<b>47</b>
<b>Analisi statistica</b>	<b>47</b>
<b>RISULTATI</b>	<b>48</b>
Caratteristiche dei pazienti	49
Caratteristiche clinimetriche	50
Caratteristiche ecografiche	52
Caratteristiche sierologiche	53
Follow-up e frequenza di relapse della malattia	55
Predittori di relapse di malattia: analisi univariata	56
Predittori di relapse di malattia: caratteristiche demografiche e cliniche	56
Predittori di relapse di malattia: caratteristiche ecografiche	58
Predittori di relapse di malattia: caratteristiche sierologiche	59
Predittori di relapse di malattia: analisi multivariata	62
Outcome dei pazienti che hanno proseguito il protocollo drug free	63
Controllo di malattia clinico, funzionale e radiografico	65
Outcome dei pazienti che hanno ripreso il trattamento	66
<b>DISCUSSIONE</b>	<b>68</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>74</b>

L'artrite reumatoide (AR) è una patologia infiammatoria cronica associata a fenomeni autoimmuni che, se non adeguatamente trattata, può causare danno articolare con evoluzione verso uno stato di disabilità, una incrementata mortalità ed un impatto significativo, anche in termini economici, sia sull'individuo che sulla società.

Nonostante i meccanismi responsabili dell'insorgenza e del mantenimento della malattia non siano ancora completamente conosciuti, negli ultimi anni l'approccio all'AR ha subito profondi cambiamenti: la diagnosi sempre più precoce, l'ottimizzazione delle strategie terapeutiche e l'introduzione di uno stretto controllo della malattia, hanno consentito di raggiungere la remissione clinica con sempre maggior frequenza. Tutto ciò ha permesso di rendere la sospensione del trattamento di fondo, la cosiddetta "remissione drug free", una possibilità concreta per il paziente con AR.

Questi progressi hanno parzialmente modificato la percezione della malattia, sia da parte del medico che da parte del paziente, facendo sì che l'AR non sia più necessariamente considerata una patologia incurabile e progressiva. Tuttavia, tali progressi hanno anche evidenziato nuove problematiche, che appaiono di crescente importanza per il sistema sanitario:

- ✓ la possibilità di predire precocemente in quali pazienti non verrà raggiunta la remissione con l'utilizzo di farmaci di prima linea, i "disease modifying antirheumatic drugs" (DMARDs), con la conseguente possibilità di utilizzare senza ritardo differenti strategie terapeutiche;
- ✓ la possibilità di predire se e in quali pazienti che raggiungono la remissione, sia possibile sospendere la terapia convenzionale con DMARDs, mantenendo buone condizioni di salute ed evitando la somministrazione non necessaria di terapie gravate da possibili effetti collaterali.

L'attuale scarsa conoscenza dei meccanismi di base dell'AR, sia per quanto riguarda la fase di attività di malattia che la fase di remissione, si trova all'origine di queste problematiche: lo studio presentato ambisce all'avanzamento delle conoscenze in questo specifico ambito.

## INTRODUZIONE

## **ARTRITE REUMATOIDE**

### EPIDEMIOLOGIA, GENETICA ED EZIOLOGIA

L'AR è una patologia infiammatoria cronica che può presentare un decorso molto eterogeneo, variabile da forme self-limiting a forme rapidamente destruenti che possono causare danno articolare fino alla disabilità. La malattia articolare può essere ulteriormente gravata dalla presenza di manifestazioni extra-articolari e dall'infiammazione, che ricopre un ruolo centrale nella patogenesi dell'aterosclerosi e nell'aumentato rischio cardiovascolare.<sup>1,2</sup> Si stima che la malattia abbia un'incidenza tra lo 0-5% e 1% con un gradiente di distribuzione da nord a sud (nell'emisfero settentrionale) e dalle aree urbane a quelle rurali<sup>3,4</sup> e che la familiarità per la malattia aumenti il rischio di sviluppare l'artrite dalle 3 alle 5 volte; gli studi sul tasso di malattia nei gemelli hanno inoltre confermato l'implicazione della genetica tra i fattori patogenetici alla base dello sviluppo della malattia.<sup>5</sup> L'ereditarietà dell'artrite è attualmente stimata tra il 40 e il 65% per l'AR sieropositiva e di circa il 20% nei casi di malattia sieronegativa.<sup>6,7</sup>

Il sistema HLA e in particolare l'HLA-DRB1, è stato ampiamente studiato e rimane fortemente implicato nella patogenesi della malattia: la presenza di una sequenza amminoacidica chiamata "shared epitope" si associa notoriamente a forme di malattia più aggressive e precocemente erosive e che appaiono associate a maggior mortalità.<sup>8,9</sup> Il rischio di sviluppo dell'AR nei pazienti che presentano lo shared epitope sembra essere legato in modo preponderante alla sieropositività degli autoanticorpi diretti contro i peptidi citrullinati ciclici (ACPA) e alla positività del fattore reumatoide (FR).<sup>10,11</sup> Anche fenomeni epigenetici contribuiscono verosimilmente alla patogenesi dell'AR, probabilmente integrando gli effetti genetici e ambientali: i principali meccanismi epigenetici che sembrano essere coinvolti nella regolazione dei fibroblasti sinoviali riguardano la metilazione del DNA, le modificazioni a carico delle strutture dell'istone e i meccanismi di regolazione dei microRNA.<sup>12</sup>

La genetica non appare però sufficiente per spiegare, da sola, l'insorgenza della malattia articolare, pertanto sono stati chiamati in causa diversi fattori ambientali potenzialmente coinvolti nello sviluppo della malattia. I fattori che più fortemente sono stati associati all'insorgenza della malattia articolare sono il fumo di sigaretta,<sup>13</sup> bassi livelli socio-economici<sup>14</sup> e possibili stimoli infettivi, tra cui quelli coinvolti nell'insorgenza di parodontopatia, anche se la natura di tale relazione rimane ad oggi ancora non del tutto chiara. Una delle ipotesi infettive è legata al possibile ruolo del *Porphyromonas*

*gingivalis*, un batterio spesso presente nei quadri di parodontopatia e che sembra essere coinvolto nell'avvio di un aberrante processo di citrullinazione e che sembra indurre localmente la perdita di tolleranza nei confronti di peptidi citrullinati. Altri agenti infettivi, ad esempio *Proteus mirabilis*, *E. Coli* o l'infezione da *Epstein Barr*, sono stati nel tempo analizzati come possibile trigger infettivo nella patogenesi dell'AR, ipotizzando un loro coinvolgimento tramite un meccanismo di mimetismo molecolare. Il ruolo svolto da parte di un agente infettivo nella patogenesi dell'AR non è stato tuttavia ancora confermato.<sup>15</sup> Come sta accadendo in svariate patologie autoimmuni, sta crescendo inoltre l'interesse nei confronti del possibile ruolo svolto dal microbioma intestinale come trigger nell'avvio della malattia e nella sua possibile progressione: alcuni studi infatti hanno implicato il dismicrobismo della comune flora batterica a livello del cavo orale, della saliva e del tratto gastrointestinale nello sviluppo dell'AR, tuttavia la relazione con l'insorgenza della malattia resta ancora da definirsi.<sup>16</sup> Le evidenze presentate suggeriscono che l'AR riconosca, nella sua patogenesi, una iniziale combinazione di fattori ambientali e di stile di vita in soggetti geneticamente predisposti e con maggior tendenza alla perdita della tolleranza immunitaria; un ulteriore stimolo, probabilmente di natura infettiva, può quindi guidare la risposta immune e condurre al quadro di flogosi tipico della malattia.<sup>17</sup> Poiché sia la produzione di autoanticorpi che la comparsa di un iniziale infiltrato infiammatorio cellulare possono comparire anni prima della comparsa di franchi segni o sintomi attribuibili alla malattia, la diagnosi preclinica dell'AR è diventata un focus centrale nelle attività di ricerca connesse alla malattia: per questo motivo appare oggi di fondamentale importanza la conoscenza sempre più approfondita di quelle che sono le dinamiche connesse al mantenimento e alla persistenza della malattia articolare.<sup>18</sup>

#### CENNI DI FISIOPATOLOGIA: AUTOIMMUNITA' E INFIAMMAZIONE

La presenza di autoanticorpi nell'AR viene considerata un fattore prognostico sfavorevole che si associa a sintomi articolari più severi, a maggior danno articolare e ad aumentata mortalità.<sup>19,20</sup>

Gli ACPA sono anticorpi che riconoscono i residui citrullinati di svariate proteine, inclusa la vimentina, la fibronectina, il fibronogeno e il collagene di tipo II. Il tessuto in cui si ritiene abbia inizio la risposta immune non è stato ancora chiaramente identificato ma si ritiene che il polmone ricopra un ruolo

importante in tale processo: tale dato appare supportato anche dal ruolo svolto dal fumo di sigaretta e dalla riscontro di peptidi citrullinati a livello del tessuto polmonare.<sup>21</sup>

E' noto ormai da tempo che la presenza di ACPA circolanti possa essere determinata nel siero fino a 10 anni prima dell'esordio della malattia articolare, nella cosiddetta pre-AR.<sup>18</sup> Gli ACPA possono essere di tipo IgA, IgG o IgM e i diversi isotipi possono presentare differenti stati di glicosilazione e quindi differenti capacità di legame degli antigeni citrullinati.<sup>22</sup> Gli immunocomplessi, costituiti dal legame degli ACPA con l'antigene citrullinato, possono essere ulteriormente legati ad una immunoglobulina, con attivazione del complemento,<sup>23</sup> ma è noto che l'anticorpo possa svolgere un ruolo patogenetico di per sé, attraverso meccanismi di attivazione macrofagica, oppure attraverso l'attivazione degli osteoclasti con l'innescò dei meccanismi alla base del riassorbimento osseo.<sup>24</sup>

Il FR appare invece più direttamente coinvolto in meccanismi di attivazione macrofagica e citochinica. Come detto, gli ACPA possono formare immunocomplessi che hanno modo di interagire direttamente con il FR, potenziando così la risposta infiammatoria e il danno articolare.<sup>25</sup> Talvolta, l'avvio di una idonea terapia sembra essere in grado di ridurre i livelli del FR e degli ACPA: più di frequente i pazienti possono sperimentare la riduzione del titolo del FR, mentre per quanto riguarda la riduzione degli ACPA, i dati in letteratura sono controversi.<sup>26-28</sup>

La tumefazione articolare presente nell'AR riflette la presenza dell'infiammazione della membrana sinoviale, caratterizzata dall'infiltrato cellulare leucocitario. Il milieu infiammatorio nel comparto sinoviale appare regolato da una complessa rete di citochine e chemochine, con un ruolo centrale svolto probabilmente dal tumor necrosis factor (TNF) alpha, dall'interleuchina 6 e dal fattore di crescita dei granulociti e dei macrofagi.<sup>29</sup> Il ruolo svolto da citochine e chemochine appare fondamentale per indurre e mantenere la risposta infiammatoria tramite l'attivazione delle cellule endoteliali e di un meccanismo finalizzato a richiamare e accumulare cellule dell'infiammazione nel comparto sinoviale.<sup>30</sup>

La cartilagine va incontro a processi di danno legati al catabolismo indotto dallo stimolo citochinico, fino alla degradazione della cartilagine stessa; mentre i fibroblasti attivati, insieme a cellule B e T e ai macrofagi sono in grado di indurre l'attivazione osteoclastica, tramite il sistema RANK-RANK ligand, che conduce all'erosione ossea, a partire dalle cosiddette aree nude, ossia il punto di giunzione di cartilagine, inserzione della membrana sinoviale periostale e osso. A livello intracellulare inoltre, le



citochine sono in grado di innescare meccanismi di trasduzione del segnale, portando all'attivazione di geni in grado di mantenere e aggravare il quadro di flogosi e di danno articolare.<sup>31,32</sup>

#### CRITERI CLASSIFICATIVI ACR/EULAR 2010

Nel 2010 l'ACR e l'EULAR hanno congiuntamente proposto un nuovo set di criteri classificativi per l'AR, il cui scopo era quello di identificare precocemente il quadro di malattia articolare, senza trascurare le forme avanzate, al fine di poter arruolare nei trials clinici popolazioni omogenee. I criteri sono applicabili ad una popolazione con caratteristiche definite: deve infatti essere presente almeno una articolazione tumefatta e la diagnosi differenziale deve essere condotta preliminarmente alla applicazione dei criteri stessi. Tali criteri comprendono, nello specifico, la valutazione del coinvolgimento articolare (sia in termini di articolazioni tumefatte che dolenti), dello stato anticorpale, dei reattanti di fase acuta e della durata dei sintomi. Tecniche di imaging non vengono incluse nei criteri ma sono indicate come possibile supporto alla valutazione clinica. L'erosività non è stata direttamente inserita nei criteri classificativi ma viene considerata un metodo alternativo di soddisfacimento dei criteri per quei pazienti che, pur non soddisfacendo il numero minimo di criteri al momento della valutazione, abbiano una storia compatibile con il soddisfacimento dei criteri stessi oltre alla presenza di erosioni tipiche. Il cut off dei parametri di laboratorio (VES e PCR) non viene specificatamente indicato ma è relativo ai parametri forniti dal laboratorio di riferimento.<sup>33</sup>

#### RACCOMANDAZIONI EULAR PER LA GESTIONE DELL'AR: UPDATE 2016

Le vigenti raccomandazioni EULAR,<sup>34</sup> il cui ultimo aggiornamento risale al 2016, suggeriscono le strategie fondamentali per la corretta gestione del paziente con AR. I principi generali della gestione del malato, sono legati a 4 punti fondamentali:

- a) il trattamento dei pazienti con AR dovrebbe mirare alla "miglior cura" e deve essere basato su una decisione condivisa tra paziente e reumatologo;
- b) le decisioni relative al trattamento sono basate sull'attività della malattia articolare e sulle caratteristiche del paziente, come la progressione del danno strutturale, le comorbidità e la sicurezza;
- c) il reumatologo è lo specialista di riferimento dell'AR;

d) l'AR presenta elevati costi sia individuali che medici e sociali, che devono essere presi in considerazione nella gestione della malattia da parte del reumatologo.

Le prime 6 raccomandazioni nello specifico, fanno riferimento alla consueta pratica clinica relativa al trattamento di prima linea dell'AR e sono abitualmente seguite presso le strutture dedicate alla diagnosi precoce dell'artrite.

Nello specifico, si riferiscono alla necessità di diagnosi precoce e al rapido inizio di adeguata terapia<sup>35</sup>

1. *La terapia con DMARD dovrebbe essere avviata non appena la diagnosi di AR viene posta.*

Rimandano alla necessità di un trattamento mirato al raggiungimento di uno specifico obiettivo (target), che in prima battuta dovrebbe essere la remissione clinica, nota come strategia del "treat to target"<sup>36</sup>

2. *Il trattamento dovrebbe essere finalizzato, in ogni paziente, al raggiungimento della remissione sostenibile o della bassa attività di malattia.*

La modalità di raggiungimento del target è legata alla frequenza delle visite, che devono essere strette e mirate al raggiungimento di un obiettivo terapeutico: la frequenza ravvicinata delle visite viene convenzionalmente definita "tight control"<sup>37</sup>

3. *Il monitoraggio deve essere frequente nella fasi di malattia attiva (ogni 1-3 mesi); in caso di mancato miglioramento entro i primi 3 mesi o di mancato raggiungimento del target entro i primi 6 mesi, il trattamento dovrebbe essere modificato.*

Il farmaco di prima scelta nel trattamento dell'AR è il methotrexato (MTX), notoriamente considerato farmaco "ancora" del trattamento della malattia articolare<sup>38</sup>

4. *il MTX dovrebbe essere parte della prima strategia di trattamento.*

Nei pazienti con controindicazione alla terapia con MTX o in caso di intolleranza, è possibile usare un altro DMARD in prima linea<sup>39,40</sup>

5. *Nei pazienti con controindicazione al MTX (o intolleranza precoce), leflunomide o sulfasalazina dovrebbe essere considerate come parte della (prima) strategia di trattamento.*

Il trattamento con steroide è previsto nelle fasi iniziali di malattia, in caso di aggiustamento terapeutico o di flare di malattia, ma dovrebbe essere mantenuto per il minor tempo possibile<sup>41,42</sup>

*6. I glucocorticoidi, per breve periodo di tempo, dovrebbero essere presi in considerazione al momento dell'avvio della terapia o di modifiche della terapia con DMARDs convenzionali, a diversi dosaggi o diverse vie di somministrazione, ma devono essere sospesi al più presto, per quanto clinicamente possibile.*

Le successive raccomandazioni (dalla numero 7 alla numero 10) sono relative al trattamento con farmaci di seconda linea. L'ultima raccomandazione invece (numero 12) fa riferimento alla possibilità di una remissione drug free:

*12. Se un paziente è in remissione persistente, la sospensione della terapia con DMARD sintetico può essere presa in considerazione.*

Il “tapering” del trattamento con DMARD sintetico resta un punto estremamente controverso delle raccomandazioni EULAR. Già nella versione del 2013 era presente tale opzione, condivisa con il paziente.<sup>43</sup> Questo item ha suscitato importanti controversie: si è detto che il “tapering” consista inizialmente nella riduzione della dose del trattamento e che la sospensione del DMARD possa essere possibile solo in casi eccezionali. Molti reumatologi membri della Task Force hanno espresso una visione contraria alla totale sospensione del trattamento con DMARD convenzionale e di conseguenza, questo item ha ricevuto il più basso livello di agreement tra tutti quelli proposti, ma comunque ancora piuttosto alto con un risultato pari a 8.5 (0-10), presentava un livello di evidenza pari a 4 (basata prevalentemente sull'opinione di esperti), una forza della raccomandazione di tipo C (raccomandazione non supportata da adeguati studi di livello I o II: metanalisi, review o trials) e ha ottenuto un voto finale pari all'86%, a supporto dell'ipotesi che, nonostante sia un argomento ancora molto controverso e dibattuto, esista la necessità di individuare in quali pazienti e in quali occasioni sia possibile valutare tale strategia di trattamento.

## REMISSIONE CLINICA

Negli ultimi 20 anni la qualità della vita e gli outcomes clinici e radiografici dei pazienti con AR sono fortemente migliorati grazie alla strutturazione di cliniche dedicate alla diagnosi precoce delle artriti (early arthritis clinic, EAC), alla introduzione di strategie di trattamento intensivo finalizzate al rapido controllo dell'attività di malattia e al suo stretto monitoraggio e alla disponibilità di terapie sempre più mirate. Mentre infatti, nei decenni scorsi, la remissione era considerata prevalentemente una misura di outcome nei pazienti con AR, attualmente la si considera il target a cui ambire in tutti i pazienti con AR. Già nel 2007 le raccomandazioni EULAR<sup>44</sup> indicavano infatti di scegliere la remissione come target di trattamento a cui ambire e l'ultima revisione del 2016, come già presentato, conferma tale indicazione introducendo la possibilità di arrivare alla sospensione della terapia di fondo nei pazienti in remissione stabile.<sup>45</sup> Tuttavia, soltanto un limitato numero di studi ha valutato la possibilità di sospensione della terapia di fondo in tali pazienti.

La remissione clinica viene genericamente definita come uno stato rappresentato dall'assenza di attività di malattia ma non esiste ad oggi una definizione standardizzata e rigorosa che sia uniformemente applicata.<sup>46</sup>

Riferirsi a termini quali "cura" o "guarigione" può essere inappropriato nel contesto di una patologia cronica ad eziologia sconosciuta come nel caso dell'AR e si è quindi soliti fare riferimento alla remissione come a un livello così basso di malattia da non causare disturbi al paziente ed essere contestualmente associato a buona prognosi a lungo termine.<sup>47</sup> In questi termini, con l'avvento di strategie terapeutiche basate sulla diagnosi e terapia precoce, la remissione è diventata un obiettivo clinicamente raggiungibile.<sup>48</sup>

## RITARDO DIAGNOSTICO E EARLY REFERRAL

La diagnosi precoce rappresenta la chiave per il successo terapeutico, in particolare per quei pazienti con elevata attività di malattia, presenza di autoanticorpi e alterazioni erosive precoci.<sup>49</sup> L'invio rapido allo specialista ("early referral") all'esordio di malattia resta ad oggi una delle problematiche cardine nella buona gestione del paziente con AR. La nascita delle EAC ha certamente migliorato l'outcome clinico, riducendo fortemente il tempo tra l'esordio dei sintomi e l'avvio di un adeguato trattamento. Un'analisi condotta nel 2015 su oltre diecimila pazienti con AR del registro danese, ha infatti mostrato

come la durata media dall'esordio dei sintomi alla diagnosi di AR fosse di 30 mesi nel 2000 e come si sia progressivamente ridotta nel tempo fino ad una media di 3-4 mesi nel 2011.<sup>50</sup> Nel 2011 è stata condotta un'analisi relativa al ritardo diagnostico nei diversi Paesi europei che ha però evidenziato la persistenza di un grande divario in termini di "early referral" tra i centri in esame: il ritardo mediano alla diagnosi era di 24 settimane, con un tempo variabile tra le 16 e le 38 settimane; i pazienti che avevano una diagnosi entro le prime 12 settimane dall'esordio dei sintomi erano tra l'8% e il 42%.<sup>51</sup> Nel 2007 Kumar ha valutato le possibili cause del ritardo diagnostico nei pazienti con AR, sottolineando come il ritardo sia da attribuire in modo particolare a fattori dipendenti dal paziente stesso e che portano ad un generale ritardo nella consultazione del medico di Medicina Generale.<sup>52</sup> Lo storico lavoro di Lard del 2001, invece, ha rilevato anche la presenza di un ritardo legato al medico di Medicina Generale. E' stato valutato il ritardo diagnostico di pazienti con AR, analizzando sia il tempo intercorso tra l'esordio dei sintomi e la prima richiesta di valutazione al medico di Medicina Generale, sia i tempi intercorsi tra l'invio da parte del curante e la visita effettuata nella EAC di riferimento. Sono state valutate 142 donne e 82 uomini: il tempo intercorso tra l'esordio dei sintomi e la valutazione da parte del curante appariva sovrapponibile nei due gruppi, tuttavia, è stata osservata una differenza significativa tra i gruppi nel ritardo di invio dal parte del medico curante all'EAC, con una mediana di 93 giorni nelle donne rispetto a 58 giorni negli uomini.<sup>53</sup> Sono state quindi elaborate delle specifiche "red flags" che possano essere d'aiuto al medico di Medicina Generale per selezionare quei pazienti che debbano essere rapidamente indirizzati al reumatologo per un approfondimento specialistico.<sup>54</sup>

La letteratura scientifica ha confermato la correlazione tra un minor ritardo alla diagnosi e una prognosi più favorevole: nel 2013 è stato pubblicato un lavoro multicentrico su 1795 pazienti valutati presso 3 diverse EAC: dei pazienti valutati, 711 avevano una diagnosi di AR. A 12 mesi dall'avvio del trattamento secondo il protocollo locale in ciascuna EAC, il 34.3% dei pazienti con AR era in remissione DAS28 e il 15.2% dei pazienti aveva raggiunto la remissione. I maggiori predittori del raggiungimento della remissione erano la diagnosi e l'avvio della terapia con DMARDs entro le prime 12 settimane dall'esordio dei sintomi. Tra i pazienti in remissione, soltanto il 10% trattato entro i primi 3 mesi dall'esordio aveva dovuto iniziare una terapia di secondo livello per il controllo della malattia articolare vs il 32.2% del gruppo trattato tardivamente (oltre i 3 mesi dall'esordio dei sintomi).<sup>55</sup>

Nel 2011 il gruppo di Leiden ha pubblicato un'analisi su 1674 pazienti con artrite iniziale: di questi, 598 pazienti avevano una diagnosi di AR e sono stati studiati per valutare il ritardo diagnostico. Dei pazienti con AR solo il 31% aveva ottenuto una diagnosi entro le prime 12 settimane; la mancata diagnosi precoce si associava a un rischio più elevato di non raggiungere la remissione drug free e a un aumento di danno articolare a lungo termine, rispetto ai pazienti che avevano avviato la terapia entro i primi 3 mesi, confermando quindi che l'avvio precoce del trattamento si associa a minor danno radiografico e a maggiori possibilità di raggiungere la remissione drug free. L'età più avanzata, il sesso femminile, l'esordio graduale dei sintomi, il coinvolgimento delle piccole articolazioni, un più basso livello di PCR e la presenza di autoanticorpi si associavano ad un maggior ritardo diagnostico.<sup>56</sup>

La conferma che il ritardo diagnostico si associ a maggior rischio di progressione radiografica ci viene anche dal lavoro di Lard del 2001: il gruppo trattato precocemente aveva un ritardo mediano di 15 giorni mentre il gruppo con un trattamento tardivo aveva un ritardo mediano di 123 giorni. I pazienti trattati precocemente, dopo 2 anni di follow up, presentavano minor danno articolare.<sup>57</sup> Lo studio caso-controllo pubblicato nel 2004 da Nell ha valutato 20 pazienti "very early AR", con diagnosi cioè posta entro 3 mesi dall'esordio dei sintomi, vs 20 pazienti con "late early AR" con una durata mediana di malattia di 12 mesi prima dell'avvio della terapia con DMARDs. I pazienti sono stati seguiti per 36 mesi evidenziando come, dopo soli 3 mesi, fosse possibile riscontrare un DAS28 significativamente più basso nei pazienti con diagnosi molto precoce; tale trend si confermava anche durante il follow-up. Inoltre, nei pazienti con diagnosi posta precocemente, la progressione radiografica era significativamente inferiore rispetto al gruppo di controllo.<sup>58</sup>

È noto inoltre che il raggiungimento di una remissione precoce e sostenuta sia associato alla diminuzione della mortalità per tutte le cause di morte<sup>59</sup> e che il rapido raggiungimento della remissione si traduca in un miglior mantenimento della capacità lavorativa mentre la mancata risposta clinica si associ ad un maggior rischio di disabilità.<sup>60</sup>

L'avvio rapido di una idonea terapia entro le prime 12 settimane dall'esordio dei sintomi, sembrerebbe quindi essere in grado di alterare la storia naturale dell'artrite e di ottenere outcomes migliori: convenzionalmente si fa riferimento a questo breve periodo di tempo indicandolo come "finestra di opportunità".<sup>61</sup> Le ottimali strategie di gestione dell'AR consistono attualmente, secondo le più recenti

raccomandazioni internazionali, nella diagnosi precoce, nel trattamento rapido e nello stretto follow-up del paziente, al fine di ottenere una soppressione rapida e completa dell'attività della malattia.<sup>34</sup>

### MISURE DI REMISSIONE CLINICA

Il concetto di remissione clinica a prima vista appare semplice, tuttavia non esiste alcun consenso riguardo a ciò che costituisca tale definizione e riguardo a quali dovrebbero essere i criteri utilizzati per tale valutazione. Attualmente quindi, nessun criterio risulta essere lo standard nella pratica clinica. Negli anni, numerosi set di criteri sono stati sviluppati al fine di misurare la remissione, utilizzando indici compositi costituiti da parametri clinici, di laboratorio e misure radiografiche. Di seguito sono brevemente descritti i principali.

### *CRITERI ACR e ACR MODIFICATI*

Uno dei primi tentativi di definire in modo standardizzato la remissione è stata proposta dall'American College of Rheumatology (ACR) nel 1981.<sup>62</sup>

I parametri analizzati erano:

- 1) rigidità mattutina < 15 minuti
- 2) assenza di astenia
- 3) assenza di dolore articolare riferito da paziente
- 4) assenza di dolorabilità articolare all'esame clinico
- 5) assenza di tumefazione articolare all'esame clinico
- 6) VES < 30 mm/h (donne), < 20 mm/h (uomini)

La remissione era definita come il soddisfacimento di 5 di 6 variabili per almeno 2 mesi consecutivi. Successivamente Prevoo ha proposto di modificare tali criteri perché astenia e rigidità non erano strettamente riconosciute all'interno di un core set di misure validate: nella sua proposta l'astenia veniva eliminata dai criteri e la storia di dolori articolari riferiti dal paziente veniva sostituita dalla valutazione del dolore valutata tramite scala analogica visuale (VAS). In questo caso il soddisfacimento dei criteri era raggiunto se erano presenti 4/5 variabili per almeno 3 mesi.<sup>63</sup> Una critica ai criteri ACR è relativa alla presenza di fattori aggiuntivi che possono contribuire al mantenimento del dolore articolare senza che questo rifletta necessariamente l'attività di malattia in

atto; in teoria inoltre, sarebbe possibile soddisfare i criteri pur avendo ancora un considerevole numero di articolazioni clinicamente tumefatte.<sup>64</sup>

Non bisogna tuttavia confondere i criteri di remissione ACR con i criteri di risposta ACR. La remissione è una misura che fa riferimento ad un punto preciso del tempo, mentre una misura di “risposta” è una valutazione di come la malattia cambi nel tempo. L'ACR 20%, 50% e 70% sono misure di risposta e sono state sviluppate dall'ACR per valutare la risposta alla terapia nel contesto di uno studio clinico, non per determinare il raggiungimento della remissione.<sup>65</sup>

#### *CRITERI EULAR: DAS44 e DAS28*

Il punteggio di attività della malattia (DAS: disease activity score) è stato proposto dall'EULAR nei primi anni '90. Il DAS44 è una misura dell'attività della malattia costituita da 4 parametri integrati in un'equazione matematica al fine di quantificare il livello di attività della malattia. Le variabili includono il Ritchie Tender Joint Index (una misura quali-quantitativa della dolorabilità articolare valutata su 44 articolazioni), il numero di articolazioni tumefatte/44 articolazioni, un indice di fase acuta (VES o PCR) e il punteggio relativo allo stato di salute generale dato dal paziente su una scala analogica visuale (VAS GH). Un punteggio <1.6 viene considerato come raggiungimento della remissione. Di tale punteggio esiste una versione abbreviata, il DAS28, che analizza il numero di articolazioni dolenti e tumefatte su una conta a 28 articolazioni, oltre agli indici di flogosi e alla valutazione della VAS GH. La remissione viene raggiunta per valori di DAS28<2.6, la bassa attività di malattia per valori  $\geq 2.6$  e  $\leq 3.2$ , la moderata attività di malattia per valori  $>3.2$  e  $\leq 5.1$ , l'elevata attività di malattia corrisponde a valori  $>5.1$ .<sup>66</sup>

Il DAS28 è risultato essere più rapido, richiedendo la valutazione di un numero minore di articolazioni, tuttavia, il conteggio delle sole 28 articolazioni potrebbe portare a sottovalutare l'attività della malattia poiché le caviglie e i piedi sono esclusi dalla conta ma sono comunemente coinvolti nella malattia. Il dolore o la tumefazione delle metatarsofalangee è stato riscontrato in diversi pazienti classificati come “in remissione DAS28”.<sup>67</sup> Tuttavia, un numero considerevole di pazienti può presentare tumefazione e dolorabilità articolare ed essere considerato in remissione DAS44 anche quando la valutazione includa piedi e caviglie.<sup>68</sup> È possibile quindi che la remissione DAS44 e DAS28 riflettano più uno stato di minima attività di malattia che non una vera e propria remissione clinica. Tra le altre limitazioni di



questi parametri dobbiamo inoltre considerare il peso rappresentato dagli indici di fase acuta: è possibile infatti che una elevazione della VES o della PCR possano “pesare” sul computo finale nonostante un buon controllo articolare o, viceversa, quando molto bassi, possano pesare in negativo portando a considerare il paziente in remissione nonostante la persistenza di flogosi articolare. Quando viene utilizzato il DAS28 inoltre gli indici di fase acuta hanno un peso ancora maggiore rispetto al DAS44, amplificando ulteriormente la variabilità legata ai parametri di laboratorio.<sup>66</sup>

### *CDAI e SDAI*

L'indice semplificato di attività di malattia (SDAI) e l'indice clinico di attività di malattia (CDAI) sono indici di attività derivati dai criteri EULAR precedentemente visti ma sono meno complessi rispetto agli altri indici compositi. Lo SDAI include 5 componenti che vengono sommate in un conteggio finale. I parametri valutati sono:

- 1) numero di articolazioni tumefatte/28 articolazioni
- 2) numero di articolazioni dolenti/28 articolazioni
- 3) PCR mg/dl
- 4) giudizio del paziente relativo all'attività di malattia (VAS PGA) (0-10)
- 5) giudizio del medico relativo all'attività di malattia (VAS EGA) (0-10)

Il CDAI analizza gli stessi parametri escludendo la PCR: è quindi un'analisi fatta sol su 4 items tutti clinici, misurabili durante la visita e relativi ai patient reported outcomes (PROs). La remissione SDAI è soddisfatta per punteggi  $\leq 3.3$ , la remissione CDAI per punteggio  $\leq 2.8$ .

CDAI e SDAI offrono, rispetto a DAS44 e DAS28, la possibilità di essere calcolati agilmente senza supporto di un calcolatore specifico e sono quindi più facilmente utilizzabili nella pratica clinica corrente. Proprio perché derivati dal DAS44 possono però presentare simili limitazioni; alcuni studi hanno però dimostrato la superiorità di CDAI e SDAI, rispetto al DAS28, in termini di valutazione ecografica e qualità della vita. Uno studio del 2010 ha dimostrato che i pazienti con AR che soddisfano la remissione SDAI presentano una minor flogosi articolare in ecografia, rispetto ai pazienti in remissione DAS28.<sup>69</sup> Per quanto riguarda la qualità della vita, i pazienti in remissione CDAI presentano punteggi più vicini alla popolazione sana rispetto ai pazienti che soddisfano i criteri di remissione DAS28.<sup>70</sup> Questi studi suggeriscono quindi che il raggiungimento della remissione SDAI e

CDAI possa riflettere più accuratamente e strettamente uno stato di buon controllo della malattia rispetto alla valutazione DAS44 e DAS28; tale dato appare supportato anche dall'evidenza, nella pratica clinica, che un numero minore di pazienti riesca a soddisfare la remissione CDAI e SDAI, rispetto al soddisfacimento della remissione DAS28.<sup>71</sup> È chiaro quindi come esistano diversi livelli di remissione in base ai criteri utilizzati: tale conferma ci viene anche da un grande studio condotto su una coorte di 5848 pazienti con AR in 24 Paesi: il 19,6% dei pazienti raggiungeva i criteri di remissione DAS28, il 13,8% raggiungeva la remissione CDAI e soltanto l'8,6% dei pazienti soddisfaceva i criteri di remissione ACR. Le percentuali di remissione appaiono coerenti: infatti mentre il DAS28 sembra essere il parametri di remissione clinica più inclusivo, i criteri ACR sono i più difficili da soddisfare.<sup>72</sup>

#### *CRITERI FDA*

I criteri della "Food and Drug Administration" (FDA) utilizzano la definizione di remissione proposta dall'ACR, come già presentato, introducendo il criterio di arresto della progressione radiografica per almeno 6 mesi dalla sospensione della terapia. Questa è l'unica definizione che includa una valutazione radiografica e consideri uno stato di drug free. I criteri FDA sono notoriamente i più stringenti e nessuna terapia ad oggi ha dimostrato di essere in grado di soddisfare i requisiti richiesti: sono quindi criteri poco utilizzabili nella pratica clinica corrente ma certamente sono quelli che si avvicinano maggiormente ad uno stato completo di remissione.<sup>73</sup>

#### *SET DI CRITERI BASATI SUI PATIENT REPORTED OUTCOMES*

Esistono inoltre set di criteri per la valutazione della remissione che si basano esclusivamente sull'utilizzo di PROs: i due principali sono il PAS<sup>74</sup> e il RAPID3,<sup>75</sup> ma hanno trovato poco spazio nella pratica clinica e non sono quindi largamente utilizzati.

#### *CRITERI DI REMISSIONE ACR/EULAR 2011*

Nel 2011 l'ACR e l'EULAR hanno congiuntamente proposto un nuovo set di criteri per la definizione della remissione, finalizzato alla valutazione uniforme dei pazienti inclusi negli studi clinici. La definizione di remissione è stata proposta da una commissione a cui è stato richiesto di proporre una

definizione che fosse sufficientemente stringente e rigorosa da consentire di includere soltanto pazienti che presentassero una minima residua attività di malattia. Tale definizione doveva includere la valutazione del numero di articolazioni dolenti e tumefatte, gli indici di fase acuta e i PROs. Non dovevano invece essere incluse misure di disabilità, in quanto queste possono essere influenzate dalla durata della malattia. La definizione doveva essere in grado di predire l'assenza di progressione radiografica e uno stabile buon controllo funzionale. I nuovi criteri ACR/EULAR 2011 per la remissione sono stati derivati usando inizialmente un approccio consensus-driven, seguito poi da un approccio data-driven, basato sulle evidenze scientifiche note. Reumatologi esperti nella gestione dei pazienti con AR hanno identificati dei domini importanti da valutare nella definizione di remissione: il numero di articolazioni dolenti e tumefatte, gli indici di fase acuta, le valutazioni relative allo stato globale di salute da parte del paziente e del medico e la valutazione del dolore da parte del paziente. Utilizzando strategie di consenso, la commissione ha stabilito un cut off per ciascun dominio che rispecchiasse un grado compatibile con lo stato di remissione. Tali domini sono stati poi valutati con una regressione logistica al fine di determinare quali parametri predicessero più strettamente la presenza di non più di una articolazione tumefatta. I 3 domini obiettivabili (SJC, TJC, CRP) mostravano un alto valore predittivo positivo per la prevenzione della progressione radiografica e il buon mantenimento funzionale, un alto valore predittivo positivo era inoltre raggiunto quando venivano combinati con la valutazione relativa allo stato di salute da parte del medico e del paziente e con la valutazione del dolore.

La remissione ACR/EULAR in definitiva è stata proposta come definizione Booleana:

- 1) numero di articolazioni tumefatte/28 ≤ 1
- 2) numero di articolazioni dolenti/28 ≤ 1
- 3) PCR ≤ 1 mg/dl
- 4) VAS PGA (0-10) ≤ 1

Ad ogni time point si richiede che il paziente soddisfi tutti i parametri. Alternativamente è stata proposta la possibilità di considerare in remissione il paziente con SDAI ≤ 3.3.

Viene specificato, inoltre, che è opportuno utilizzare la seguente formulazione per la valutazione dell'attività di malattia da parte del paziente (PGA): "*considering all of the ways your arthritis has affected you, how do you feel your arthritis is today?*" (0-10, dove 0 corrisponde a "very well" e 10

corrisponde a “very poorly”.<sup>46</sup> I criteri booleani appaiono molto più rigorosi rispetto alla remissione DAS28: è possibile infatti avere fino a 5 articolazioni tumefatte/28 e rimanere ancora formalmente in remissione DAS28, mentre la definizione booleana richiede che tutti i parametri valutati siano soddisfatti e che ci sia non più di 1 articolazione tumefatta/28 e non più di 1 articolazione dolente/28.

#### *MINIMAL DISEASE ACTIVITY*

L'OMERACT ha proposto nel 2005 uno score per identificare la “minimal disease activity” quando fossero soddisfatti 5 di 7 criteri proposti:<sup>76</sup>

- 1) VAS dolore  $\leq 2$ ;
- 2) Numero di articolazioni tumefatte/28 articolazioni  $\leq 1$
- 3) Numero di articolazioni dolenti/28 articolazioni  $\leq 1$
- 4) Health Assessment Questionnaire (HAQ) (0-3)  $\leq 0.5$
- 5) Valutazione dell'attività di malattia da parte del medico (VAS EGA) (0-10)  $\leq 1.5$
- 6) Valutazione dell'attività di malattia da parte del paziente (VAS PGA)  $\leq 2$
- 7) Velocità di eritrosedimentazione  $\leq 20$  mm/h.

Anche tale score ha trovato scarso impiego nella pratica clinica quotidiana.

#### *COMPREHENSIVE DISEASE CONTROL*

Negli anni si è assistito ad un forte incremento dell'attenzione alla remissione clinica ed esistono, come visto, numerosi criteri di remissione più o meno stringenti. I PROs sono in grado di integrare alle informazioni ottenute dalla clinimetria, una valutazione fatta dal paziente stesso, relativa allo stato di benessere e all'impatto che la malattia ha nelle attività di vita quotidiana.<sup>77</sup> Le limitazioni funzionali legate alla malattia possono infatti colpire oltre alla qualità della vita del singolo paziente, anche l'ambito lavorativo, con importanti risvolti socio-economici.<sup>78,79</sup> Mentre il raggiungimento della remissione clinica viene raccomandato come obiettivo chiave per l'adeguato controllo dell'artrite, il raggiungimento del pieno controllo, sia in termini clinici che funzionali che strutturali, rappresenta invece l'obiettivo ultimo della gestione della malattia. Come precedentemente detto, i criteri dell'FDA sono gli unici che propongano una valutazione di imaging nella definizione di remissione.

Nel corso degli anni, la remissione è stata definita in diversi modi ma anche con i più stringenti parametri dell'ACR/EULAR 2011 quasi il 23% dei pazienti in remissione clinica non raggiunge una inibizione della progressione radiografica.<sup>46</sup> Appare quindi ragionevole e giustificata la scelta di integrare la stabilità strutturale in una proposta di criteri di remissione. Nel 2015 è stato quindi condotto uno studio finalizzato a valutare l'impatto di un simultaneo raggiungimento sia in termini clinici, che funzionali, che strutturali. Tale condizione è definita dal termine "comprehensive disease control" (CDC) e considera l'adeguato controllo di questi 3 principali outcomes: dal punto di vista clinico viene richiesto di raggiungere almeno la remissione DAS28-PCR,<sup>80</sup> l'outcome funzionale viene valutato tramite l'HAQ ed è richiesto che sia  $<0.5$ ,<sup>81</sup> l'outcome strutturale viene considerato come una variazione dello score totale di Sharp  $\leq 0.5$  rispetto al basale.<sup>82,83</sup> Lo studio ha dimostrato che i pazienti che raggiungono il CDC, presentano un miglioramento significativo nei principali PROs relativi al dolore, all'astenia e allo stato di salute generale (VAS dolore, FACIT-F, SF-36) rispetto ai pazienti che non lo raggiungono.

È noto che il DAS28 sia, in termini di remissione, il criterio maggiormente inclusivo tra quelli proposti, appare però un criterio semplice da utilizzare e ben noto ai reumatologi che lo hanno ampiamente utilizzato nella comune pratica clinica; nonostante i criteri di remissione ACR/EULAR siano notoriamente più stringenti nel raggiungimento della remissione, appaiono anche rigorosi e difficilmente raggiungibili dalla maggior parte dei pazienti, soprattutto in quelli con una lunga durata di malattia e che nella comune pratica clinica costituiscono la maggioranza di pazienti in terapia.<sup>84</sup> Le raccomandazioni EULAR inoltre prendono in considerazione la possibilità di mirare, in quei pazienti che non riescano a raggiungere il target della remissione clinica, ad un parametro più lasso come la bassa attività di malattia. Sembra quindi condivisibile la scelta di utilizzare un criterio clinico come il DAS28 che fosse riconosciuto e ampiamente utilizzato per il raggiungimento della remissione ma che al tempo stesso fosse anche sufficientemente "inclusivo".<sup>85</sup>

I PROs sono in grado di fornire una importante valutazione sulla mantenimento della funzione e sul benessere del paziente e possono essere più sensibili nella misurazione dell'efficacia del trattamento rispetto alle comuni valutazioni clinimetriche.<sup>86,87</sup>

## **RUOLO DELL'ECOGRAFIA NELLA REMISSIONE CLINICA**

L'ecografia muscoloscheletrica è un sistema sensibile, accessibile e largamente utilizzato nella comune pratica clinica. Numerosi studi hanno evidenziato come la presenza di sinovite subclinica sia riscontrabile anche in pazienti con AR in remissione e che quindi il raggiungimento della sola remissione clinica non corrisponda alla risoluzione del processo infiammatorio.

Ad oggi sono numerosi i lavori che hanno dimostrato la persistenza di sinovite ecograficamente rilevabile nei pazienti in remissione clinica. Brown nel 2006 aveva mostrato come, indipendentemente da quali criteri clinici fossero applicati per determinare la remissione (remissione DAS28 o criteri ACR per la remissione), in pazienti asintomatici e con articolazioni clinicamente normali, l'ecografia fosse in grado di mostrare una ipertrofia sinoviale in scala grigia nel 73% dei casi e un segnale power Doppler (PD) positivo nel 43% dei casi.<sup>88</sup> Analogamente, il lavoro di Zufferey del 2014 ha evidenziato come, in una ampia popolazione di 307 pazienti (129 pazienti in remissione DAS28 e 69 pazienti in remissione ACR/EULAR), più di un terzo dei pazienti in remissione mostrasse una significativa sinovite in scala di grigi e una persistente attività PD rispetto ai controlli.<sup>89</sup> Sempre nel 2014, Geng ha valutato la presenza di sinovite ultrasonografica analizzando 26 regioni anatomiche in 202 pazienti con AR, definendo la remissione ecografica come completa assenza di segnale PD. I pazienti erano considerati in remissione quando soddisfacevano almeno 1 criterio di remissione secondo il DAS28-PCR, DAS28-VES, CDAI, SDAI o criteri ACR/EULAR per la remissione. Dei 111 pazienti che raggiungevano la remissione clinica, il 99.1% soddisfaceva la remissione DAS28-PCR, il 60.4% soddisfaceva la remissione DAS28-VES, il 49.5% soddisfaceva la remissione CDAI, il 45% soddisfaceva la remissione SDAI, mentre il 48.6% dei pazienti soddisfaceva la remissione ACR/EULAR. Tuttavia, solo 54 pazienti (48,6%) presentavano una remissione ecografica PD negativa; inoltre 11/41 pazienti (26.8%) in remissione clinica secondo tutti i criteri analizzati, mostravano comunque evidenze ecografiche di sinovite. Tali dati ci permettono di concludere come la presenza di sinovite subclinica sia di comune riscontro nei pazienti in remissione clinica e che l'utilizzo di criteri più stringenti di remissione sia indispensabile per ridurre il numero di pazienti con evidenza di una malattia subclinica.<sup>90</sup> Numerosi studi hanno inoltre mostrato come la presenza di sinovite ecograficamente rilevabile nei pazienti in remissione clinica abbia un forte valore predittivo positivo sia per il relapse della malattia articolare, sia per la progressione radiografica del danno articolare.

Il lavoro di Saleem del 2012 ha valutato la presenza di flare (inteso come un qualsiasi aumento di attività di malattia tale da richiedere un aggiustamento terapeutico) in pazienti con AR in remissione clinica. Il 26% dei pazienti in remissione (24/93) presentava flare di malattia entro i 12 mesi dal soddisfacimento della remissione. Il progressivo incremento del segnale PD e dell'HAQ si associavano indipendentemente al rischio di flare; inoltre i pazienti che avevano presentato un flare di malattia, mostravano peggiori outcomes sia clinici che funzionali a lungo termine.<sup>91</sup>

Anche nella nostra EAC l'ecografia ha dimostrato di essere maggiormente sensibile, rispetto all'esame clinico, nel determinare sia la malattia attiva che la remissione e di essere un predittore del relapse di malattia. Sono stati infatti valutati 106 pazienti, sia con valutazione clinimetrica che con ecografia di mani e polsi. Veniva valutata la remissione DAS44 e la remissione clinica era intesa come stabilità della remissione per due visite consecutive trimestrali. Nei pazienti in remissione clinica, il 95% dei pazienti mostrava una sinovite residua identificabile con il GS e il 41% di questi mostrava anche la presenza di segnale PD positivo che, quando presente anche in una sola articolazione, risultava essere il principale predittore di relapse entro 6 mesi.<sup>92</sup> Similmente, anche nel lavoro di Iwamoto del 2014, sono stati valutati pazienti affetti da RA, in trattamento con farmaci biologici: al soddisfacimento della remissione clinica DAS28 i pazienti sospendevano la terapia con farmaci biotecnologici e venivano sottoposti a follow-up ecografico per i 6 mesi successivi. Sono stati valutati 42 pazienti in totale mostrando come l'infiammazione sinoviale residua, determinata in ecografica, predicesse la recidiva a breve termine dopo la sospensione del trattamento biologico.<sup>93</sup>

Nel lavoro del 2012 di Foltz, sono stati valutati pazienti con AR in remissione DAS44 o in bassa attività di malattia: i pazienti sono stati sottoposti al basale a ecografia articolare, a risonanza magnetica della mano dominante e a rx articolare: i pazienti hanno quindi proseguito follow-up clinico e valutazione ecografica trimestralmente; al termine dei 12 mesi di follow-up sono stati nuovamente sottoposti a risonanza magnetica. Il flare è stato definito come DAS44 in moderata attività di malattia e la progressione radiografica come un aumento dello score per l'erosività  $\geq 1$ . Sono stati studiati 85 pazienti con AR con una durata media di malattia di circa 3 anni: 47/85 pazienti erano in remissione clinica e 38/85 erano in bassa attività di malattia. A 12 mesi, il 30,6% dei pazienti mostrava una recidiva di malattia articolare e il 10,6% presentava progressione radiografica. La presenza di sinovite PD positiva era in grado di predire un flare di malattia e si associava alla progressione radiografica; il

quadro riscontrato in risonanza magnetica della mano dominante invece non era predittivo né del flare di malattia, né della progressione radiografica.<sup>94</sup>

Hama nel 2012 ha mostrato, in un piccolo studio, come l'utilizzo del PD potesse essere utile per predire il danno articolare in pazienti con AR in trattamento con tocilizumab: nonostante la media del PD totale si riducesse parallelamente al miglioramento clinico, la radiografia di mani e piedi a 12 mesi mostrava maggiori segni di progressione radiografica quando c'era persistenza di PD articolare e lo score radiografico di progressione dell'erosività correlava con lo score totale del PD nel tempo.<sup>95</sup> Nel 2013 Ikeda ha confermato che il quadro di progressione radiografica sia meglio predetto tramite ecografia che non tramite valutazione clinica nei pazienti trattati con MTX mentre l'utilizzo di farmaci di seconda linea sembrava essere in grado di inibire la progressione radiografica anche in presenza di sinovite attiva.<sup>96</sup> Nello studio di Tokay, il 59.1% dei pazienti in remissione DAS28 presentava una sinovite residua evidenziabile in ecografia come PD $\geq$ 1 in almeno una articolazione: lo score di progressione radiografica era significativamente più alto nei pazienti con segnale PD ancora presente, confermando nuovamente come la presenza di una sinovite residua possa essere presente in pazienti in remissione clinica, particolarmente nei pazienti con progressione del danno osseo.<sup>97</sup> Nel 2014 è stata pubblicata una revisione sistematica della letteratura in merito, confermando come la sinovite residua, identificabile tramite ecografia, sia di frequente riscontro e predittiva del rischio di relapse e di progressione strutturale in pazienti con AR in remissione clinica.<sup>98</sup>

Recentemente lo studio STARTER ha dimostrato come la presenza di tenosinovite ecograficamente rilevabile fosse un predittore indipendente di instabilità della remissione clinica nei pazienti con AR.<sup>99</sup>

Tali evidenze hanno portato a proporre nuovi algoritmi che comprendano l'ecografia nella comune gestione dell'AR sia come supporto alla diagnosi, che nella gestione del trattamento, che nella valutazione dei pazienti in remissione clinica.<sup>100</sup>

Nonostante l'ecografia abbia indubbiamente dimostrato il suo ruolo di supporto nella diagnosi e nella gestione dell'AR, non esiste ad oggi un completo consenso riguardo alla ottimale metodologia da utilizzare e non sono ancora stati raggiunti elevati livelli di standardizzazione.<sup>101</sup> Non c'è infatti un completo consenso su quale sia il significato patologico della presenza del GS (relativo all'ipertrofia sinoviale) che può rappresentare il residuo di una sinovite passata e non necessariamente essere



manifestazione di un quadro infiammatorio in atto,<sup>102</sup> senza quindi essere predittore del relapse della sinovite, come mostrato ad esempio nei quadri di artrite idiopatica giovanile.<sup>103</sup>

Anche per quanto riguarda il segnale PD esistono dati contrastanti relativi al suo ruolo: utilizzando l'istopatologia come metodica di confronto e come gold standard per l'infiammazione sinoviale, è stato evidenziato che la presenza di un segnale PD negativo non escluda la contestuale presenza di sinovite e che, quando presente, tale dato non correli con l'entità della flogosi. Inoltre, il segnale PD non appare specifico per l'AR e può essere positivo anche in corso di una differente patologia sinoviale.<sup>104</sup> Alterazioni ecografiche, sia in termini di GS che di segnale PD sono state evidenziate anche in soggetti sani, mostrando la presenza di versamento nel 52% dei controlli sani e di ipertrofia sinoviale nel 48% dei casi con o senza associato segnale PD positivo; inoltre anche la presenza di erosioni può essere rilevata in soggetti sani.<sup>105</sup>

Due recenti trials hanno valutato il possibile beneficio dell'integrazione della valutazione ecografica alla consueta valutazione clinica: in entrambi i casi è stato evidenziato come l'utilizzo sistematico dell'ecografia nelle decisioni terapeutiche non aggiungesse nulla, in termini di outcomes clinici e radiografici, rispetto alla buona gestione clinica dei pazienti con AR per quanto riguarda il raggiungimento della remissione clinica o della bassa attività di malattia.<sup>106,107</sup> Al momento attuale quindi l'ecografia resta esclusivamente una metodica di supporto alla valutazione clinica la cui strategia, fondata sul "treat to target" e sul "tight control", rappresenta ad oggi lo standard di assistenza per l'AR.

## LA RADIOGRAFIA CONVENZIONALE NELLA REMISSIONE CLINICA

L'obiettivo di raggiungere la remissione clinica, in qualunque modo la si misuri, appare finalizzato alla prevenzione del danno articolare e della disabilità funzionale ma al momento attuale, come visto, soltanto i criteri FDA includono un requisito di imaging nella valutazione della remissione. Come già presentato, la persistente flogosi nell'AR appare correlata alla progressione del danno strutturale e le metodiche di imaging possono essere di supporto nell'identificare la sinovite subclinica, anche in quei pazienti che abbiano clinicamente raggiunto la remissione.<sup>108</sup> Non solo l'ecografia articolare ma anche altre metodiche di imaging hanno dimostrato di essere in grado di rilevare la presenza di sinovite e di erosioni.<sup>109,110</sup>

I dati dallo studio PREMIER (un trial multicentrico randomizzato, doppio cieco che valutava la terapia di combinazione di Adalimumab + MTX vs MTX in monoterapia vs Adalimumab in monoterapia) su 794 pazienti con early aggressive AR, hanno valutato la progressione radiografica. La remissione, definita utilizzando i criteri CDAI, SDAI o DAS28, era raggiunta nel 15% dei pazienti a 24 mesi; la progressione radiografica appariva indipendente dal tipo di trattamento ricevuto, ma strettamente legata alla durata della remissione stessa: più breve era il tempo di remissione, maggiore era il danno articolare.<sup>111</sup> In uno studio longitudinale, 102 pazienti con AR in remissione sono stati sottoposti a radiografia e a risonanza magnetica: il 19% dei pazienti presentava progressione del danno radiografico a 12 mesi nonostante soddisfacesse i criteri di remissione ACR e DAS28. La presenza di PD all'ecografia e di sinovite in risonanza magnetica si associavano significativamente alla progressione radiografica a un anno.<sup>88</sup>

La persistenza di sinovite subclinica, identificabile con metodiche più sensibili della sola valutazione clinimetrica, ha certamente un ruolo chiave nello spiegare il disaccoppiamento tra il buon controllo di malattia misurabile con i consueti indici compositi di malattia e l'evidenza di una possibile progressione del danno osseo, tuttavia non è l'unico elemento alla base della possibile progressione del danno articolare. Il lavoro di Kirino nel 2015 ha mostrato come, oltre alla presenza di segnale PD e di articolazioni clinicamente tumefatte, la presenza di danno osseo evidenziabile già all'esordio della malattia e la positività degli ACPA siano fattori di rischio indipendenti di danno osseo.<sup>112</sup>

Come detto, è ben noto che la presenza di autoanticorpi possa precedere anche di molti anni la comparsa delle manifestazioni cliniche dell'artrite,<sup>18,113,114</sup> che il quadro autoanticorpale nella fase pre-

clinica possa condurre a un diverso esordio della malattia articolare<sup>115</sup> e che la positività autoanticorpale si associ a maggior rischio di erosioni<sup>116</sup> talvolta già presenti all'esordio della malattia<sup>117</sup> alla luce del ruolo svolto dalle citochine pro-infiammatorie e dagli autoanticorpi nella differenziazione degli osteoclasti.<sup>118</sup> Alterazioni del metabolismo osseo sono inoltre state riscontrate già nella fasi pre-cliniche di AR e potrebbero essere il primo segno intercettabile di comparsa delle erosioni.<sup>119</sup>

Nei pazienti in remissione clinica appare relativamente semplice, grazie all'utilizzo di metodiche di imaging, valutare la presenza di una sinovite subclinica, al momento invece resta impossibile determinare il ruolo svolto dagli altri fattori che sottendono alla progressione radiografica. Per tale ragione, anche in corso di adeguato controllo clinico di malattia, un regolare monitoraggio delle radiografie di mani e piedi, metodica che ad oggi resta il gold standard per la valutazione del danno osseo, dovrebbe sempre essere preso in considerazione.<sup>85</sup>

## **MARCATORI SIEROLOGICI E IMMUNOLOGICI: CXCL13**

Caratteristica dell'AR, a livello della membrana sinoviale, è la presenza di un infiltrato infiammatorio costituito da cellule B, cellule T, monociti-macrofagi e cellule dendritiche.<sup>120</sup> In alcuni pazienti tale infiltrato può andare incontro a fenomeni di organizzazione e l'aggregazione di tali cellule appare associata all'espressione in situ di alcune specifiche citochine pro-infiammatorie in grado di creare e mantenere il microambiente responsabile dell'infiammazione e della risposta immune locale.<sup>121</sup> Una delle citochine principalmente coinvolte in tale meccanismo è notoriamente CXCL13 che appare fisiologicamente coinvolta nella normale linfocitogenesi e nell'organizzazione dei follicoli B nel contesto degli organi linfoidi secondari ed è considerata un potente chemo-attrattante delle B cellule, che ricoprono un ruolo centrale nel contesto dell'infiltrato sinoviale e nel mantenimento della risposta immune.<sup>122</sup>

È noto che sia possibile evidenziare la presenza CXCL13 mRNA a livello della membrana sinoviale come dimostrato da Takemura in una serie di 64 biopsie sinoviali in cui la presenza di follicoli linfoidi con centri germinati era riscontrabile in quasi un quarto dei pazienti.<sup>123</sup> Nel 2014 il nostro gruppo ha valutato in immunohistochimica 71 biopsie sinoviali di pazienti con AR e i livelli di CXCL13 tissutale sono stati correlati alle caratteristiche della popolazione in esame. I pazienti con maggiori livelli di CXCL13 erano più frequentemente ACPA positivi e la frequenza di erosività era significativamente più elevata nei pazienti con valori più alti di CXCL13 evidenziando come la presenza di CXCL13 tissutale fosse un buon marcatore di severità di malattia nei pazienti con AR.<sup>124</sup> La biopsia sinoviale resta, ad oggi, un esame difficilmente applicabile nella comune pratica clinica poiché si tratta di una pratica invasiva che richiede tempo ed esperienza e non è ipotizzabile un monitoraggio nel tempo tramite tale metodica. Da qui nasce l'esigenza di identificare, a livello sierico, biomarcatori che possano correlare con il grado di infiltrato infiammatorio sinoviale. A tal proposito, nel 2012, il nostro gruppo ha condotto uno studio su 161 pazienti con AR: i livelli sierici di CXCL13 sono stati ricercati tramite metodica E.L.I.S.A. e tale risultato è stato correlato sia ai dati clinimetrici che al quadro ecografico a carico di mani e polsi; sono stati inoltre ricercati i livelli sierici di CXCL13 in 19 controlli sani. I livelli basali di CXCL13 erano significativamente più elevati nei pazienti con AR rispetto ai controlli sani e tali valori correlavano sia con il numero di articolazioni tumefatte che con i dati ecografici. Sebbene CXCL13 non fosse in grado di predire il raggiungimento della bassa attività di malattia a 12 mesi, elevati livelli

di CXCL13 si associavano alla più frequente necessità di aumentare il dosaggio di MTX per raggiungere un adeguato controllo di malattia. I livelli più alti di CXCL13 inoltre, sono risultati essere l'unico predittore indipendente della flogosi residua evidenziabile tramite ecografia articolare, indipendentemente dai valori ecografici iniziali, dall'attività di malattia, dagli indici di fase acuta e dal quadro autoimmune.

Tali dati dimostrano come CXCL13 possa essere un nuovo biomarcatore, utile per valutare la sinovite e la persistenza di attività di malattia subclinica.<sup>125</sup>

## LA REMISSIONE DRUG FREE

### TRIALS STORICI RANDOMIZZATI E CONTROLLATI

Ad oggi diverse raccomandazioni internazionali prendono in considerazione la possibilità di ridurre il carico terapeutico con DMARD in pazienti con AR in remissione clinica prolungata.<sup>34,126</sup>

I benefici dell'utilizzo estensivo di una terapia di fondo in un paziente con malattia stabilmente ben controllata, dovrebbero infatti essere considerati alla luce del desiderio del paziente in remissione di ridurre il carico terapeutico, della tossicità potenziale dei farmaci e del costo di una terapia a lungo termine.

Alcuni storici trial randomizzati e controllati (randomized controlled trial- RCT) hanno valutato la possibilità di sospensione della terapia con DMARDs in pazienti con AR in remissione. Nel 2010 è stata condotta una meta-analisi con lo scopo di valutare gli effetti dell'interruzione del trattamento farmacologico nei pazienti con AR in buon controllo di malattia.<sup>127</sup> Nell'analisi sono stati inclusi 6 RCTs, condotti tra il 1981 e il 1996, con un totale di circa 500 pazienti valutati: 5 lavori analizzavano la sospensione del trattamento, un lavoro invece valutava la riduzione terapeutica.<sup>128-132</sup> Dei lavori inclusi nella meta-analisi 4 sono precedenti al 1990 e includono un numero esiguo di pazienti, 3 di questi inoltre si riferiscono alla sospensione di farmaci che attualmente non sono più utilizzati nella comune pratica clinica dell'AR (d-penicillamina, azatioprina, sali d'oro). Un unico lavoro del 1987 fa riferimento alla sospensione del MTX ma prende in esame una popolazione di soli 10 pazienti trattati. Dall'analisi dei lavoro inclusi nella meta-analisi si evidenziava come il 46% dei pazienti che sospendeva un DMARD (MTX, sulfasalazina, idrossiclorochina o leflunomide) presentasse un flare di malattia, rispetto al 17% dei pazienti che proseguiva il trattamento di fondo, con un rischio di relapse significativamente maggiore.<sup>133</sup> Il risultato globale della meta-analisi mostrava che i pazienti che sospendevano la terapia di fondo avevano un rischio significativamente maggiore di andare incontro a flare di malattia e pertanto si raccomandava estrema cautela nella sospensione della terapia di fondo, con stretto monitoraggio della malattia al fine di poter intercettare rapidamente una riaccensione della malattia e di riprendere il trattamento.<sup>127</sup>

Gli studi raccolti nella meta-analisi presentano diverse limitazioni la prima delle quali è il tipo di farmaco utilizzato: solo pochi pazienti sono stati trattati con MTX e sono stati utilizzati farmaci che ad oggi sono fuori dalle raccomandazioni terapeutiche. Inoltre la definizione di flare di malattia non era

univoca e appare quindi difficile valutare globalmente il beneficio delle strategie terapeutiche adottate. Tra i lavori inclusi nella meta-analisi il più ampio è stato pubblicato nel 1996 da Wolde che ha valutato 285 pz con AR trattati con diversi DMARDs (cloroquina, idrossicloroquina, sali d'oro, d-penicillamina, sulfasalazina, azatioprina o MTX). Venivano arruolati pazienti in remissione senza l'uso di steroidi, secondi i criteri ACR, con stabile risposta clinica nell'ultimo anno. I pazienti venivano randomizzati in due gruppi: il primo proseguiva la terapia in atto (142 pazienti), il secondo invece interrompeva la terapia di fondo e veniva trattato con placebo (143 pazienti). Nel gruppo che proseguiva il consueto trattamento si assisteva al mantenimento di remissione stabile nel 78% dei pazienti, mentre il 22% dei pazienti andava incontro a flare di malattia; dei pazienti che venivano trattati con placebo, il 62% manteneva una remissione stabile mentre il 38% presentava flare di malattia entro 52 settimane. La ridotta numerosità dei pazienti stratificati per il tipo di farmaco sospeso non era sufficiente per fare una corretta analisi di confronto tra le differenti terapie interrotte.<sup>131</sup>

Nel 1997 il gruppo di Wolde ha valutato gli effetti della ripresa della terapia. Sono stati inclusi 51 pazienti che erano andati incontro a flare di malattia dopo sospensione del farmaco di fondo: 25 pazienti precedentemente trattati con antimalarici, 10 con sali d'oro per via parenterale, 4 con d-penicillamina, 8 con sulfasalazina e soltanto 2 con MTX<sup>134</sup>. Per valutare la risposta alla ripresa della terapia veniva utilizzato un indice composito di malattia ormai desueto, proposto nel 1990, costituito dalla valutazione della rigidità mattutina, della VES, dal numero di articolazioni dolenti e tumefatte e dalla valutazione dell'attività di malattia da parte del paziente e del medico.<sup>135</sup> Entro 3 mesi dalla ripresa del trattamento di fondo, una adeguata risposta clinica veniva nuovamente raggiunta dal 47% dei pazienti; la metà di questi raggiungeva lo stesso livello di controllo della malattia precedente alla sospensione della terapia di fondo. Non si evinceva alcuna correlazione tra la gravità del flare e la risposta clinica successiva alla ripresa del trattamento e non si evidenziava una relazione tra la durata della sospensione e la risposta presentata alla ripresa della terapia. A 12 mesi dalla ripresa della terapia, il 35% dei pazienti aveva raggiunto nuovamente un pieno controllo della malattia, l'attività di malattia era giudicata lieve nel 43% dei pazienti e moderata nel 22%; 46/51 pazienti che avevano ripresa la terapia, erano ancora trattati con il farmaco precedentemente sospeso, solo l'8% dei pazienti aveva presentato invece una mancata risposta alla ripresa del trattamento tale da richiedere di modificare la terapia di fondo. Tiippana-Kinnunen ha valutato in uno studio a lungo termine

(arruolati tra il 1987 e il 1989) 87 pazienti con AR trattati con DMARDs e divisi in 3 gruppi e di questi, 70 pazienti avevano completato il follow-up a 15 anni. Un primo gruppo era composto da pazienti che avevano ricevuto e proseguito un trattamento con DMARDs (gruppo A: 50 pazienti), un secondo gruppo era composto da pazienti che avevano interrotto la terapia con DMARDs ma che avevano avuto necessità di riprenderla (gruppo B: 9 pazienti) e un ultimo gruppo era composto da pazienti che avevano sospeso la terapia in modo permanente (gruppo C: 11 pazienti). Nel complesso, la terapia con DMARDs era stata interrotta nel 29% dei pazienti per raggiungimento della remissione: di questi, quasi la metà (il 45%) aveva presentato un flare di malattia con necessità di ripresa della terapia di fondo; in alcuni pazienti la ripresa dell'attività della malattia compariva anche a distanza di anni dall'interruzione del farmaco; la durata media della drug free era di 50 mesi (con range 3-137). A 15 anni, il tasso complessivo di remissione era del 14% e dopo i 15 anni di follow-up, solo tre pazienti (4%) avevano dovuto avviare terapia con farmaci biotecnologici per il controllo di malattia; la capacità funzionale era rimasta buona in tutti i gruppi valutati.<sup>136</sup>

#### TRIALS CLINICI CON PROTOCOLLO STEP-DOWN

Tre RCTs hanno valutato l'efficacia di un trattamento aggressivo di combinazione rispetto alla monoterapia, nel contesto di strategie terapeutiche step-down in pazienti con AR precoce. Il primo RCT è stato lo studio COBRA nei pazienti con early AR: il suo trattamento aggressivo comprendeva l'utilizzo di un alto dosaggio di steroide, un iniziale trattamento con MTX e una terapia di mantenimento con sulfasalazina. I controlli ricevevano sulfasalazina in monoterapia.

Lo studio ha dimostrato che i pazienti trattati con terapia aggressiva di combinazione presentavano una minore attività di malattia e una minore progressione radiografica rispetto ai pazienti trattati con la monoterapia. La successiva estensione dello studio ha ulteriormente dimostrato che i benefici del trattamento intensivo sulla minore progressione radiografica erano mantenuti anche a lungo termine.<sup>137</sup>

Lo studio FIN-RACo ha valutato la graduale diminuzione del trattamento di combinazione con terapia con sulfasalazina, MTX, idrossiclorochina e prednisolone. Il trattamento con MTX e steroide veniva



interrotto nei pazienti che avevano raggiunto la remissione durante il primo anno di trattamento; i controlli ricevevano monoterapia con sulfasalazina.

I pazienti trattati con terapia aggressiva all'esordio mostravano una miglior risposta clinica, il beneficio in termini di stabilità radiografica era mantenuto anche a lungo termine con una minor progressione radiografica rispetto ai pazienti trattati con la monoterapia.<sup>138</sup>

Nel lavoro di Clegg et al. sono stati valutati invece pazienti con AR di lunga durata. I pazienti ricevevano un trattamento di combinazioni idrossiclorochina e MTX per 24 settimane, seguito da un periodo di terapia o con MTX o con idrossiclorochina, per altre per 36 settimane. Lo studio ha dimostrato come un trattamento di combinazione con idrossiclorochina e MTX, seguito da una terapia di mantenimento con idrossiclorochina fosse in grado di ridurre la frequenza di ripresa della attività di malattia. Questo lavoro non ha però valutato la terapia di mantenimento proseguendo esclusivamente con MTX, farmaco che avrebbe verosimilmente mostrato di essere ancora più efficace.<sup>139</sup>

I dati fin qui presentati mostrano globalmente che la terapia di combinazione step-down sia efficace nel trattamento dell'AR e che permetta di mantenere buoni outcomes anche a lungo termine. Per ridurre il rischio di flare potrebbe essere utile mantenere nel tempo una terapia di fondo ma non ci sono dati univoci su quale possa essere considerato un ottimale regime di mantenimento.

Lo studio BeSt ha confrontato quattro differenti strategie di trattamento in 508 pazienti con recente diagnosi di AR. Le strategie comprendevano la monoterapia con DMARD, la terapia di combinazione con DMARDs step-up, la terapia di combinazione di DMARDs step-down e la combinazione di MTX con un farmaco antiTNF $\alpha$  (infliximab).

Quando i pazienti raggiungevano una stabile remissione clinica la terapia veniva ridotta e quindi sospesa. I dati a 5 anni di follow-up hanno valutato la frequenza della sospensione della terapia, mostrando come il 23% dei pazienti raggiungesse la remissione drug free e come il 51% di questi pazienti fosse in grado di mantenere una stabile remissione in assenza di terapia di fondo; il 46% dei pazienti doveva invece riprendere la terapia precedentemente interrotta per ripresa dell'attività di malattia. La frequenza di remissione clinica era simile nei diversi gruppi di trattamento.<sup>140</sup>

I dati presentati suggeriscono che la remissione drug free sia una condizione raggiungibile e mantenibile soltanto da una limitata quota di pazienti con AR, per questo motivo appare fondamentale

individuare con chiarezza quali pazienti possano essere avviati a questo tipo di strategia terapeutica e per quali pazienti invece, questo tipo di approccio terapeutico, sia una scelta sconsigliabile.

## FLARE DI MALATTIA DOPO SOSPENSIONE DEL DMARD

La frequenza di raggiungimento della remissione drug free, dopo sospensione di terapia con DMARDs convenzionali nei pazienti con AR, è stata valutata in due grandi coorti indipendenti al fine di studiarne la prevalenza e i fattori predittivi. La remissione drug free veniva definita come l'assenza di terapia con DMARD convenzionale (compreso lo steroide) nell'ultimo anno, assenza di articolazioni tumefatte e opinione del reumatologo. La remissione drug free è stata raggiunta da 68 dei 454 pazienti in esame (15,0%) nella Leiden EAC e da 84 di 895 pazienti (9,4%) inclusi nella coorte britannica del British Early Studio (ERAS).<sup>141,142</sup>

I fattori che sono stati associati al mantenimento della remissione drug free, in entrambe le coorti, erano l'esordio acuto di malattia, la breve durata dei sintomi prima dell'avvio del trattamento, la non abitudine al fumo di sigaretta, l'assenza di danno radiografico all'esordio, l'assenza di FR IgM e l'assenza dello shared epitope. Nella coorte britannica, la bassa attività di malattia all'esordio era predittiva del raggiungimento della remissione drug free. Nell'analisi multivariata la breve durata dei sintomi e l'assenza di autoanticorpi (ACPA e FR) apparivano come predittori indipendenti del raggiungimento della remissione drug free. Anche i dati a 5 anni dello studio BeST mostravano come l'assenza di autoanticorpi fosse in grado di predire il mantenimento della remissione drug free: la positività degli ACPA era il fattore predittivo indipendente più fortemente associato al flare di malattia.<sup>140</sup>

La valutazione del flare, ad oggi, resta argomento ampiamente discusso: genericamente vengono utilizzati gli indici compositi di malattia ma non c'è consenso a tale riguardo. Nel 2013 l'OMERACT ha valutato le diverse proposte di flare basate sul cambio del punteggio DAS28, note nella letteratura scientifica e ha identificato come un cambio nel DAS28 superiore a 1.2 punti in caso di DAS28 di remissione o bassa attività di malattia ( $DAS28 \leq 3.2$ ) oppure un cambio superiore a 0.6 in caso di DAS28 di moderata attività di malattia ( $DAS28 > 3.2$ ), fosse il miglior discriminante per riconoscere quei pazienti che andavano incontro a flare di malattia.<sup>143</sup>

Recentemente inoltre l'OMERACT ha proposto un questionario di valutazione del flare che possa integrare i dati clinimetrici raccolti: è costituito da 5 domini relativi al dolore, alla limitazione funzionale nelle attività fisiche, all'astenia, alla rigidità, alla presenza di limitazione nel prendere parte alla vita familiare, lavorativa e alle attività sociali. Valuta inoltre l'attuale presenza di un flare in atto e l'opinione

del paziente in merito al flare di malattia.<sup>144</sup> Analogamente il FLARE-RA è un questionario autosomministrato volto a esplorare il possibile flare di malattia tra le visite.<sup>145</sup>

Non esiste ad oggi però uno strumento che sia il gold standard della misurazione del flare di malattia.

**RICERCHE PERSONALI**

## **OBIETTIVI DELLO STUDIO**

La possibilità di predire precocemente in quali pazienti non verrà raggiunta la remissione utilizzando i farmaci convenzionali e la possibilità di predire se e in quali pazienti in remissione sia possibile sospendere la terapia, sono ad oggi argomenti di grande interesse clinico e di ricerca in ambito reumatologico.

Lo studio presentato ambisce all'avanzamento delle conoscenze in questo ambito specifico, ponendosi come obiettivi specifici:

- ✓ definire l'outcome clinico a lungo termine dei pazienti che sospendono il trattamento con DMARDs convenzionali
- ✓ definire nuovi indicatori capaci di predire il mantenimento dello stato di adeguato controllo di malattia in caso di sospensione delle terapie (predittori clinici, ecografici, immuno-biologici)
- ✓ comprendere le dinamiche della eventuale patologia residua nei pazienti in fase di remissione
- ✓ valutare l'outcome clinico dopo eventuale ripresa della terapia.

## **PAZIENTI E METODI**

### RECLUTAMENTO DEI PAZIENTI

I pazienti con AR inclusi in questo studio osservazionale sono stati precedentemente seguiti presso la EAC della S.C. di Reumatologia della Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia. Tutti i pazienti sono stati inizialmente trattati secondo un protocollo DAS-driven mirato al raggiungimento della bassa attività della malattia DAS28 (LDA DAS28 $\leq$ 3.2).

I pazienti sono stati trattati con monoterapia parenterale con MTX, che veniva progressivamente aumentata in caso di mancato raggiungimento del target di trattamento (DAS28 LDA), i pazienti potevano ricevere anche un concomitante trattamento steroideo.

Durante il follow-up presso la EAC i pazienti andavano incontro a tapering dello steroide fino alla sospensione e, in caso di adeguato controllo di malattia, a graduale riduzione della terapia di fondo con MTX, fino a raggiungere un dosaggio minimo pari a 10 mg/settimana.

Tra il dicembre 2011 e il marzo 2017, dopo un trattamento globale di almeno 24 mesi, in caso di raggiungimento stabile di remissione clinica (DAS28 $<$ 2.6) con basso dosaggio di MTX (10 mg/settimana) in assenza di steroide, i pazienti in persistente remissione DAS28 venivano inviati all'ambulatorio dedicato alla remissione clinica secondo i seguenti criteri:

1. maggiore età
2. soddisfacimento dei criteri classificativi ACR/EULAR 2010 per AR entro 12 mesi dalla prima visita presso la EAC
3. terapia con MTX introdotta entro 12 mesi dall'esordio dei sintomi
4. almeno 24 mesi di terapia continuativa con MTX
5. raggiungimento della remissione DAS28 per almeno 6 mesi
6. assenza di terapia con glucocorticoidi
7. firma del consenso informato al trattamento dei dati personali

### *PRIMA VALUTAZIONE PRESSO L'AMBULATORIO DEDICATO ALLA REMISSIONE CLINICA*

I pazienti che soddisfacevano tali requisiti venivano quindi inviati all'ambulatorio dedicato alla remissione clinica. In tale occasione i pazienti venivano sottoposti nuovamente ad una valutazione approfondita relativa a:

- anamnesi clinica per valutazione delle artralgie e della rigidità mattutina
- valutazione della tumefazione articolare con conta articolare su 28 e 44 articolazioni
- valutazione della dolorabilità articolare con conta su 28 articolazioni e score di Ritchie su 44
- controllo dei reattanti di fase acuta: VES e PCR (eseguiti presso il laboratorio di riferimento del paziente nei giorni immediatamente precedenti alla visita)
- ecografia articolare di polsi, I-II-III-IV-V metacarpofalangea (MCF) bilateralmente
- ecografia articolare di tibio-tarsiche, I-II-III-IV-V metatarsofalangea (MTF) bilateralmente
- prelievo di sangue venoso
- valutazione dell'attività di malattia da parte del medico su scala analogica visuale (VAS EGA 0-100)

Per ciascun paziente inoltre venivano raccolti PROs relativi a:

- valutazione del dolore su scala analogica visuale (VAS dolore 0-100)
- valutazione dell'attività di malattia da parte del paziente su scala analogica visuale (VAS PGA 0-100)
- valutazione dello stato globale di salute da parte del paziente su scala analogica visuale (VAS GH 0-100)
- Health Assessment Questionnaire Disability Index (HAQ-DI) relativo alla valutazione della disabilità funzionale<sup>146</sup>

I pazienti che presentavano, anche in tale occasione, una stabile remissione DAS28 venivano sottoposti ad una sospensione "en-bloc" del DMARD e iniziavano un protocollo di stretto monitoraggio dell'attività di malattia.



#### *FOLLOW-UP PRESSO L'AMBULATORIO DEDICATO ALLA REMISSIONE CLINICA*

Per l'intero periodo di osservazione (24 mesi) sono state previste visite trimestrali: in ciascuna visita il paziente era sottoposto all'intera serie di indagini già indicate per la prima valutazione; ad ogni visita di follow-up veniva inoltre indagata la possibile ripresa della malattia tramite:

- anamnesi clinica per valutazione del flare, delle artralgie e della rigidità mattutina
- anamnesi farmacologica relativa alla necessità di assumere farmaci sintomatici per il controllo delle artralgie
- anamnesi relativa all'insorgenza di problematiche intercorrenti che richiedessero l'utilizzo di farmaci sintomatici

Era inoltre previsto che, in caso di necessità da parte del paziente e nel sospetto di ripresa della malattia, potesse essere programmata una valutazione aggiuntiva presso l'ambulatorio dedicato: in tale occasione il paziente effettuava la completa valutazione prevista nel regolare follow-up.

Al momento della sospensione della terapia ( $\pm$  3 mesi) venivano effettuate radiografie di mani e piedi; il controllo radiografico era previsto dopo 12 e 24 mesi dalla sospensione del trattamento (vedi oltre).

#### PROTOCOLLO DI TRATTAMENTO

Ad ogni visita di follow-up:

- ❖ *in caso di mantenimento della remissione o della bassa attività di malattia ( $DAS28 \leq 3.2$ )* il paziente proseguiva senza trattamento di fondo; era consentito l'occasionale utilizzo di FANS o analgesici semplici che veniva registrato e monitorato nel tempo,
  
- ❖ *in caso di relapse di malattia inteso come  $DAS28$  di moderata attività di malattia ( $DAS28 > 3.2$ )* in una singola occasione, il trattamento con lo stesso DMARD precedentemente sospeso veniva prontamente reintrodotta; i pazienti proseguivano un ulteriore follow-up in trattamento per 6 mesi.

## INDICI COMPOSITI DI MALATTIA UTILIZZATI

Gli indici compositi valutati alla prima visita e durante il follow-up presso l'ambulatorio dedicato alla remissione clinica sono i seguenti:

**DAS44:** costituito dall'indice articolare di Ritchie, dal numero di articolazioni tumefatte (SJC) (basato sulla valutazione articolare di 44 articolazioni), dalla VES e dalla VAS GH.

E' calcolato secondo la formula:

$$\text{DAS44} = 0.54 \cdot \sqrt{(\text{RAI})} + 0.065 \cdot \sqrt{(\text{sw})} + 0.33 \cdot \text{Ln}(\text{ESR}) + 0.0072 \cdot \text{GH}$$

**DAS28:** costituito dal numero di articolazioni dolenti e tumefatte (basato sulla valutazione articolare su 28 articolazioni), dalla VES e dalla VAS GH.

E' calcolato dalla formula:

$$\text{DAS28} = 0.56 \cdot \sqrt{(\text{t28})} + 0.28 \cdot \sqrt{(\text{sw28})} + 0.70 \cdot \text{Ln}(\text{ESR}) + 0.014 \cdot \text{GH}$$

**SDAI:** indice di malattia semplificato costituito dal numero di articolazioni dolenti e tumefatte su 28 articolazioni, dalla VAS PGA, VAS EGA e dalla PCR

**CDAI:** costituito esclusivamente dai parametri clinici compresi nello SDAI, è costituito dal numero di articolazioni dolenti e tumefatte su 28 articolazioni, dalla VAS PGA e dalla VAS EGA

## ECOGRAFIA ARTICOLARE

L'ecografia articolare di polsi, MCF, caviglie e MTF è stata condotta da un operatore esperto non informato riguardo ai dati clinici del paziente. E' stato utilizzato un ecografo GE Logiq 9 scanner (General Electric Medical Systems) con trasduttore lineare ad alta frequenza (8-15 MHz) in accordo con le linee guida dell'EULAR.<sup>147</sup> L'analisi ecografica articolare comprendeva la scansione dorsale in longitudinale e trasversale<sup>92</sup> e ogni articolazione veniva valutata secondo la scala di grigi (GS) definita come la presenza di versamento articolare e/o la presenza di ipertrofia sinoviale. La presenza di ipertrofia sinoviale/versamento articolare era identificata in ciascuna articolazione come la presenza di materiale ipoecoico/anecoico in accordo con la definizione dell'OMERACT.<sup>148</sup>

La sinovite analizzata su scala di grigi veniva valutata su scala quantitativa (0-3):<sup>149,150</sup>

- ✓ Grado 0: normale (fino a 2 mm),
- ✓ Grado 1: leggera (compreso tra 2 e 3 mm),
- ✓ Grado 2: moderata (compreso tra 3 e 4 mm),

- ✓ Grado 3: marcata (superiore ai 4 mm)

La valutazione della presenza di segnale PD sinoviale veniva effettuata in una immagine ecografica che comprendesse il margine osseo, lo spazio articolare e i tessuti circostanti. La calibrazione del PD veniva modulata alla più bassa "pulse repetition frequency" (PRF) possibile al fine di massimizzare la sensibilità dell'esame. La frequenza del PD utilizzata era 7,5 MHz, finalizzata allo studio delle piccole articolazioni e dei tessuti superficiali. Il guadagno del segnale PD era impostato in modo da essere appena inferiore a quello che permetteva la comparsa di artefatti e la presenza di segnale PD veniva valutata in due piani perpendicolari.

Il segnale PD veniva graduato in base ad uno score semi-quantitativo in scala 0-3:

- ✓ Grado 0: assenza di segnale,
- ✓ Grado 1: flusso leggero (presenza di un singolo segnale vascolare),
- ✓ Grado 2: moderato (presenza di segnali confluenti in meno del 50% dell'area articolare),
- ✓ Grado 3: marcato (segnale vascolare in oltre il 50% dell'area articolare valutata).<sup>151</sup>

Veniva quindi calcolato un indice per il GS e per il PD come somma complessiva del punteggio GS e come somma complessiva del punteggio PD ottenendo così 4 punteggi distinti: un punteggio globale GS mani/polsi e uno PD mani/polsi, un punteggio globale GS piedi/caviglie e uno PD piedi/caviglie.

La tenosinovite può essere definita secondo le indicazioni dell'OMERACT.<sup>152</sup>

Il segnale PD è stato valutato a carico degli estensori delle dita delle mani con un punteggio semi-quantitativo in scala 0-3:

- ✓ Grado 0: assenza di tenosinovite
- ✓ Grado 1: tenosinovite focale
- ✓ Grado 2: tenosinovite multifocale
- ✓ Grado 4: tenosinovite diffusa

È stato globalmente ottenuto un punteggio binario (sì/no) relativo alla presenza di segnale PD a livello delle guaine tendinee.

## RADIOGRAFIA CONVENZIONALE DI MANI E PIEDI: METODO DI LETTURA

Al momento della sospensione della terapia ( $\pm 3$  mesi), venivano effettuate radiografie di mani e piedi con successivo controllo radiografico annuale (a 12 e 24 mesi dalla sospensione del trattamento). Il metodo attualmente più diffuso per la valutazione della erosività in corso di AR, utilizzato nell'ambito di trials clinici, è lo score totale di Sharp modificato da Van der Heijde (mTSS), validato anche dall'OMERACT<sup>83</sup>. Si tratta di un metodo di valutazione che ricerca la riduzione della rima articolare e la presenza di erosioni, utilizzando la radiografia effettuata in postero-anteriore di mani e piedi. Nell'immagine sono indicate le sedi anatomiche valutate per lo score.



Per la valutazione delle erosioni vengono globalmente valutate:

- *16 articolazioni di mano e polso:* sono valutate la I-II-III-IV-V MCF, la I interfalangea (IF), la IF prossimali di II-III-IV-V raggio, 6 regioni del polso come indicato nell'immagine di riferimento.
- *6 articolazioni del piede:* sono valutate la I-II-III-IV-V MTF e la I IF del primo dito.

A ciascuna articolazione della mano viene attribuito un punteggio 0-5 in base al grado di erosività riscontrato. Il punteggio del piede è compreso invece tra 0 e 10: in questo caso il punteggio per ogni articolazioni è doppio perché ogni articolazione viene valutata su entrambi i lati, come indicato.

Il punteggio relativo all'erosività è assegnato secondo uno score semi-quantitativo:

- ✓ Grado 0: normale
- ✓ Grado 1: discreta interruzione della corticale con distruzione della superficie articolare <20%

- ✓ Grado 2: erosione con distruzione della superficiale articolare compresa tra 21% e 40%
- ✓ Grado 3: erosione con distruzione della superficiale articolare compresa tra 41% e 60%
- ✓ Grado 4: erosione con distruzione della superficiale articolare compresa tra 61% e 80%
- ✓ Grado 5: erosione con distruzione della superficiale articolare >80%

Per quanto riguarda la valutazione della riduzione della rima articolare vengono valutate:

- *15 articolazioni di mano e polso:* sono valutate la I-II-III-IV-V MCF, la IF prossimali di II-III-IV-V raggio, 6 regioni del polso come indicato nell'immagine di riferimento.
- *6 articolazioni del piede:* sono valutate la I-II-III-IV-V MTF e la I IF del primo dito.

A ciascuna articolazione viene attribuito un punteggio 0-4 in base al grado riduzione della rima articolare riscontrato. Il punteggio è assegnato secondo uno score semi-quantitativo:

- ✓ Grado 0: normale
- ✓ Grado 1: focale riduzione della rima articolare
- ✓ Grado 2: diffuse riduzione della rima articolare < al 50%
- ✓ Grado 3: diffuse riduzione della rima articolare > al 50%
- ✓ Grado 4: anchilosi

Complessivamente lo score per l'erosività alle mani va da 0 a 160 unità e per i piedi va da 0 a 120 unità (totale 280) lo score per la riduzione della rima articolare alle mani va da 0 a 120 unità mentre per i piedi va da 0 a 48 unità (tot 168). Il totale del mTSS è quindi una misura compresa tra 0 e 448 unità. Il numero di articolazioni è sufficientemente ampio e lo score così esteso da garantire la sensibilità necessaria ad identificare precocemente anche un piccolo cambiamento.

La valutazione della progressione radiografica viene fatta confrontando radiografie di tempi diversi ed è il risultato della differenza dei valori ottenuti. Due sono i principali metodi di lettura delle immagini radiografie: nel primo è noto l'ordine delle radiografie in visione (lettura cronologica), mentre nel secondo l'ordine temporale non è noto (lettura accoppiata): questo metodo può comportare una stima inferiore della progressione radiografica.<sup>153</sup> Nel nostro lavoro sono state effettuate letture simultanee e cronologiche delle immagini radiografiche valutate, da parte di due operatori esperti, in cieco rispetto alle valutazioni dello studio. La lettura delle immagini presenta variabili operatore dipendenti, pertanto

lo score utilizzato in genere riflette la media della lettura effettuata da due osservatori indipendenti, con la possibilità di eventuale riletture in caso di eccessivo divario. La progressione radiologica annua può essere ottenuta come risultato del mTSS diviso per il numero di mesi di malattia.

Per definire una progressione radiografica non correlata ad errori di misurazione viene calcolata la “smallest detectable change (SMC)” su un campione di radiografie su cui si valuta la media delle differenze valutate tra due osservatori.<sup>154</sup>

Le variazioni di punteggio totale superiori a tali valori possono essere adottate come soglia quantitativa per definire la progressione radiografica nel singolo paziente.

La SMC è stata dedotta con la formula:  $1,96 \times SD \Delta \text{change scores} / [\sqrt{2} \times \sqrt{k}]$

Si considera  $k$  = numero di letture. La SDC in questo studio era pari a 3 unità.<sup>155</sup>

#### ESAMI DI LABORATORIO: AUTOANTICORPI E CXCL13

Presso il laboratorio del nostro Istituto è stato determinato il titolo del FR IgM mediante immunonefelometria, utilizzando “Dimension Vista 1500 Intelligent Lab System” (Siemens, Erlangen, Germania); il titolo degli ACPA IgG è stato determinato utilizzando un kit di seconda generazione con “Phadia ImmunoCAP 250 EliA CCP assay” (Phadia, Freiburg, Germania), secondo le raccomandazioni dei produttori. Per gli ACPA, concentrazioni superiori a 340 U/ml non sono stati ulteriormente diluiti. I campioni di siero sono stati raccolti a ciascuna visita effettuata e conservati a -20° C fino al momento dell'analisi. La misurazione per i livelli sierici di CXCL13 è stata effettuata in triplicato mediante kit enzyme-linked immunosorbent assay (E.L.I.S.A.) (R & D Systems, Minneapolis, MN, USA) secondo le raccomandazioni del produttore.

## MISURE DI OUTCOME

L'outcome primario dello studio in oggetto era la valutazione della frequenza di relapse di malattia (moderata attività di malattia DAS28 >3.2) entro 24 mesi di follow-up.

Al fine di investigare la possibilità di una remissione drug free sostenibile, sono stati valutati outcomes secondari a 24 mesi di follow-up:

- 1) *per i pazienti che proseguivano il protocollo drug free*: valutazione a 24 mesi del mantenimento di un globale controllo di malattia in termini clinici, funzionali e radiografici, definito dalla combinazione di:
  - a) bassa attività di malattia (DAS28  $\leq$ 3.2) in tutte le visite con variazioni di DAS28 <1.2 rispetto al basale (assenza di DAS28 flare di malattia),<sup>143</sup>
  - b) variazione nell'HAQ-DI  $\leq$ 0.5,<sup>156</sup>
  - c) variazione del mTSS  $\leq$  smallest detectable change (SDC) rispetto al basale;<sup>154</sup>
- 2) *per i pazienti che riprendevano il trattamento*: ripristino dello stato precedente di salute, definito dal ripristino della bassa attività di malattia (DAS28  $\leq$ 3.2) entro i 6 mesi dalla ripresa del trattamento.

## ANALISI STATISTICA

Per le caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti è stata utilizzata la statistica descrittiva: i dati sono presentati come media (SD), mediana (IQR) o frequenza relativa (%) in base all'appropriatezza. Il confronto tra caratteristiche dei pazienti è stata calcolato utilizzando l'appropriato test parametrico, non parametrico e test esatto del  $\chi^2$  (test di Fischer).

Tutti i pazienti sono stati seguiti dal momento della sospensione della terapia al termine dei 24 mesi di follow-up, i dati mancanti non sono stati imputati al fine di preservare le informazioni originali.

L'analisi di sopravvivenza con Kaplan Meier è stata utilizzata per stimare la quota di pazienti che rimanevano nel protocollo drug free ad intervalli trimestrali per i 24 mesi di follow-up.

La regressione di Cox (modello di rischi proporzionali) è stata utilizzata per identificare i fattori legati alla ripresa della malattia: i parametri risultati più significativi nella regressione univariata sono stati successivamente valutati globalmente in una regressione multivariata, in caso di collinearità è stato scelto il parametro più rilevante.

Per le analisi è stato utilizzato MedCalc per Windows versione 9.4.2.0 (MedCalc 10 Software, Mariakerke, Belgio). È stato considerato statisticamente significativo un valore di  $p < 0.05$ .

**RISULTATI**



## CARATTERISTICHE DEI PAZIENTI

Novantadue pazienti con diagnosi di AR, trattati con MTX secondo un protocollo DAS-driven e consecutivamente arruolati presso la EAC di Pavia, sono stati inviati all'ambulatorio dedicato alla remissione clinica. Al momento della valutazione per l'avvio del protocollo di remissione drug free, 7 pazienti non presentavano un quadro di stabile remissione clinica per cui hanno proseguito il trattamento con terapia di fondo e non rientrano nella presente analisi; 85 pazienti sono stati giudicati idonei all'avvio del protocollo drug free e sono stati inclusi nello studio. Nella *tabella 1* sono riportate le principali caratteristiche cliniche della popolazione in esame.

Sono stati arruolati 85 pazienti di cui 58 femmine (68.2%), l'età media alla diagnosi era di 60,5 anni, il 23.5% dei pazienti inclusi nello studio era un fumatore. Il tempo intercorso tra l'esordio del primo sintomo attribuibile alla malattia e la diagnosi era di circa 3 mesi (IQR 2.3-5.7) in linea con quanto atteso all'interno di una EAC; dopo l'introduzione della terapia con MTX la remissione era raggiunta rapidamente con una mediana di 5 mesi (IQR 2-10.5). La durata di malattia all'avvio dello studio era di quasi 4 anni e i pazienti presentavano, al momento dell'arruolamento, una remissione stabile da tempo: la mediana nella popolazione in esame era di 19 mesi (IQR 12-26).

### **Tabella 1**

#### **Caratteristiche della popolazione**

	<b>N= 85 pazienti</b>
<i>Età, media (SD), anni</i>	60.5 (14.5)
<i>Femmine, n (%)</i>	58 (68.2)
<i>Fumo, n (%)</i>	20 (23.5)
<i>Durata dei sintomi prima del trattamento, mediana (IQR), mesi</i>	3.3 (2.3-5.7)
<i>Tempo per raggiungere la prima remissione DAS28, mediana (IQR), mesi</i>	5 (2-10.5)
<i>Durata della remissione DAS28 alla sospensione della terapia, mediana (IQR), mesi</i>	19 (12-26)
<i>Durata di malattia, mediana (IQR), anni</i>	3.8 (2.9-5.9)

Dati presentati come media (SD), mediana (IQR) o frequenza relativa (%) in base all'appropriatezza.

## CARATTERISTICHE CLINIMETRICHE

Al momento della sospensione della terapia la totalità dei pazienti era in remissione DAS28 come previsto dal protocollo di arruolamento. In tale occasione è stato valutato anche il soddisfacimento di altri criteri di remissione notoriamente più stringenti: la remissione DAS44 ( $DAS44 < 1.6$ ) era soddisfatta dalla quasi totalità dei casi (80/85, 94.1%), la remissione SDAI ( $SDAI < 3.3$ ) era riscontrata in 71 pazienti (83.5%), la remissione ACR/EULAR era presente in 65 soggetti (76.5%); la completa assenza di sinovite clinicamente rilevabile, definita come assenza di articolazioni tumefatte nella conta su 44 articolazioni, era rilevata in 54 pazienti (63.5%). Il segnale PD all'ecografia di mani e piedi era presente ( $PD > 0$ ) in 47/85 soggetti (55.3%). Nella *tabella 2* sono riportate le principali caratteristiche documentate al momento della sospensione della terapia di fondo e sono confrontate con l'analogo dato rilevato al momento della diagnosi.

All'esordio di malattia i pazienti presentavano una moderata attività di malattia (DAS28 medio  $4.41 \pm 1.19$ , DAS44 medio  $2.86 \pm 0.96$ ), mentre al momento della sospensione della terapia di fondo tutti i pazienti erano in remissione DAS28 (DAS28 medio  $1.87 \pm 0.55$ ); la maggior parte dei soggetti soddisfaceva anche la remissione DAS44: al momento della sospensione della terapia il DAS44 medio era  $0.98 \pm 0.33$ . In entrambi i casi la riduzione dell'attività di malattia, tra il momento della diagnosi e il momento della sospensione della terapia, era statisticamente significativa ( $p < 0.001$ ). La mediana del numero di articolazioni tumefatte al momento della diagnosi era 7 nella conta su 28 articolazioni (IQR 3-10) e 7,5 nella conta su 44 articolazioni (IQR 4-12), mentre alla sospensione della terapia era 0 (IQR 0-1) sia per la conta su 28 che per la conta su 44 articolazioni ( $p < 0.001$ ). Alla diagnosi la mediana del numero di articolazioni dolenti su 28 era 3 (IQR 1-7) e la mediana dell'indice di Ritchie (che riflette oltre al numero di articolazioni dolorabili anche il grado di dolorabilità) era 4 (IQR 2-7) mentre entrambe le mediane erano pari a 0 (IQR 0-0) alla sospensione della terapia ( $p < 0.001$ ).

Per quanto riguarda il giudizio espresso dal paziente relativo all'attività della malattia percepita nei giorni precedenti alla visita ed espressa su una scala 0-100 (VAS PGA), all'esordio di malattia aveva una mediana di 50 (IQR 30-70) mentre alla sospensione della terapia era 0 (IQR 0-5) con una riduzione statisticamente significativa ( $p < 0.001$ ); l'analogo valore relativo all'attività della malattia espresso dal medico (VAS EGA), aveva una mediana di 47 (IQR 29-60) alla diagnosi mentre era 0

(IQR 0-6) all'avvio del protocollo drug free, confermando una riduzione statisticamente significativa ( $p < 0.001$ ).

Il grado di disabilità funzionale all'esordio di malattia, valutata con il questionario HAQ-DI, aveva un valore mediano di 0,75 (IQR 0.375-1.25) indicatore di modesta limitazione nelle attività quotidiane, mentre era 0 (IQR 0-0) al momento della sospensione della terapia ( $p < 0.001$ ).

Non sono disponibili i dati relativi alla presenza di erosioni all'esordio di malattia mentre al momento della sospensione del trattamento l'erosività documentata era in media  $9.2 \pm 7.8$  unità.

Alla diagnosi i pazienti presentavano una VES mediana di 21 mm/h (IQR 12.5-38) mentre al momento della sospensione della terapia era 11 mm/h (IQR 6-18), la PCR mediana all'esordio di malattia era 0.62 mg/dl (IQR 0.31-2.08) mentre era 0.18 mg/dl (IQR 0.1-0.32) all'avvio del protocollo drug free: in entrambi i casi la riduzione dei reattanti di fase acuta ha mostrato una riduzione statisticamente significativa ( $p < 0.001$ ).

I dati presentati indicano come i pazienti arruolati nello studio presentassero all'esordio di malattia un'artrite attiva e che, con l'avvio del trattamento, avessero tutti raggiunto un buon controllo della malattia articolare, tale da soddisfare indici compositi di remissione clinica anche piuttosto stringenti.

## Tabella 2

### Caratteristiche clinimetriche

<b>Caratteristiche cliniche</b>	<b>Alla diagnosi</b>	<b>Alla sospensione della terapia</b>	<b>p</b>
DAS28, media (SD)	4.41 (1.19)	1.87 (0.55)	<0.001
DAS44, media (SD)	2.86 (0.96)	0.98 (0.33)	<0.001
SJC28, mediana (IQR)	7 (3-10)	0 (0-1)	<0.001
SJC44, mediana (IQR)	7.5 (4-12)	0 (0-1)	<0.001
TJC28, mediana (IQR)	3 (1-7)	0 (0-0)	<0.001
RAI, mediana (IQR)	4 (2-7)	0 (0-0)	<0.001
VAS PGA, mediana (IQR)	50 (30-70)	0 (0-5)	<0.001
VAS EGA, mediana (IQR)	47 (29-60)	0 (0-6)	<0.001
HAQ-DI, mediana (IQR)	0.75 (0.375-1.25)	0 (0-0)	<0.001

VES, mediana (IQR), mm/h	21 (12.5-38)	11 (6-18)	<0.001
PCR, mediana (IQR), mg/dl	0.62 (0.31-2.08)	0.18 (0.10-0.32)	<0.001
mTTS			
mediana (IQR)	n.a.	7.5 (2.7-14.2)	n.a.
media (SD)	n.a.	9.2 (7.8)	n.a.

Dati presentati come media (SD) o mediana (IQR) in base all'appropriatezza. DAS28= disease activity score su 28 articolazioni, DAS44= disease activity score su 44 articolazioni, SJC= numero di articolazioni tumefatte, TJC= numero di articolazioni dolorabili, RAI= indice articolare di Ritchie, VAS= scala analogica visuale, PGA= patient global assessment; HAQ-DI= Health Assessment Questionnaire Disability Index; VES= velocità di eritrosedimentazione, PCR= proteina C reattiva, mTSS= modified total Sharp score, n.a.= non applicabile.

### CARATTERISTICHE ECOGRAFICHE

Come per i parametri clinimetrici anche per la valutazione ecografica è stata fatta un'analisi comparativa dei dati dell'esordio di malattia con quelli riscontrati all'avvio del protocollo di remissione drug free. I dati relativi alle caratteristiche ecografiche sono presentati nella *tabella 3*.

La mediana del segnale in scala di grigi all'ecografia delle mani al momento della diagnosi era 6 (IQR 4-11) mentre alla sospensione della terapia il GS mediano alle mani era 3 (IQR 2-5) con una riduzione statisticamente significativa rispetto ai valori dell'esordio ( $p < 0.001$ ); all'esordio di malattia non era stata condotta una valutazione ecografica a livello dei piedi né per il segnale GS né per il segnale PD; alla sospensione della terapia il GS ai piedi era 5 (IQR 2-7).

La mediana del segnale PD alle mani al momento della diagnosi era 3 (IQR 0-8) mentre alla sospensione della terapia era 1 (IQR 0-2) con una riduzione statisticamente significativa ( $p < 0.001$ ), la mediana del PD ai piedi al momento della sospensione del trattamento era 0 (IQR 0-0).

Nonostante la presenza di segnale PD fosse ancora rilevabile ( $PD > 0$ ) in 47/85 pazienti (55.3%), tale riscontro appariva significativamente ridotto in tutti i pazienti rispetto ai dati dell'esordio: abbiamo quindi condotto una seconda analisi esclusivamente per quei pazienti che presentassero segnale PD a mani o piedi ( $PD > 0$ ). Nel sottogruppo preso in esame, la mediana del segnale PD rilevabile alle mani al momento della diagnosi era 6 (IQR 2-11), mentre era 2 (IQR 1-3) al momento della sospensione della terapia. Analogamente a quanto già presentato, si confermava una riduzione statisticamente significativa rispetto ai valori dell'esordio ( $p < 0.001$ ).

Per ultimo, nel contesto ecografico, è stata valutata la presenza/assenza di tenosinovite a carico degli estensori delle dita della mano. Tale valutazione è stata condotta soltanto al momento della

sospensione della terapia: una tenosinovite era riscontrabile solamente in un esiguo numero di pazienti, infatti solo in 7 pazienti (8.2%) all'avvio del protocollo drug free era documentabile tale evidenza e in 6 di questi 7 casi la tenosinovite si associava alla presenza di sinovite PD positiva.

**Tabella 3**

**Caratteristiche ecografiche**

<b>Caratteristiche ecografiche</b>	<b>Alla diagnosi</b>	<b>Alla sospensione della terapia</b>	<b>p</b>
<i>US-GS, mediana (IQR)</i>			
<i>Mani</i>	6 (4-11)	3 (2-5)	<0.001
<i>Piedi</i>	n.a.	5 (2-7)	n.a.
<i>US-PD, mediana (IQR)</i>			
<i>Mani</i>	3 (0-8)	1 (0-2)	<0.001
<i>Piedi</i>	n.a.	0 (0-0)	n.a.
<i>US-PD (se PD&gt;0)*, mediana (IQR)</i>			
<i>Mani</i>	6 (2-11)	2 (1-3)	<0.001
<i>Piedi</i>	n.a.	2 (1-3)	n.a.
<i>Tenosinovite, presente, n (%)</i>	n.a.	7 (8.2)	n.a.

Dati presentati come mediana (IQR) o frequenza relativa (%) in base all'appropriatezza. US= ultrasonografia, GS= scala di grigi, PD= power Doppler, n.a.= non applicabile.

\*Analisi effettuata solo sui pazienti che presentavano, alla valutazione ecografica, un segnale PD>0

**CARATTERISTICHE SIEROLOGICHE**

Anche per quanto riguarda lo stato anticorpale sono state valutate le caratteristiche sierologiche dei pazienti inclusi nello studio e sono state confrontate con i dati raccolti al momento della diagnosi. Nella *tabella 4* sono presentati i dati sierologici della popolazione in esame.

Il FR IgM era positivo in 34 pazienti (40%) al momento della diagnosi ed era confermato in 29 pazienti (34.1%) al momento della sospensione del trattamento senza una significativa riduzione (p=0.52), la mediana del titolo del FR IgM all'esordio era 88 U/ml (IQR 33.2-250.7) mentre, al momento della sospensione del trattamento, era 37 U/ml (IQR 20.1-107.2) con una significativa riduzione nel titolo

( $p=0.003$ ). La positività degli ACPA IgG era riscontrata in 37 pazienti (43.5%) all'esordio della malattia e si confermava in 32 pazienti (37.6%) alla sospensione del trattamento ( $p=0.53$ ); la mediana del titolo era 125 U/ml all'esordio (IQR 34-340) e 111 U/ml (IQR 30.5-306.7) all'avvio del protocollo drug free ( $p=0.19$ ).

La positività del FR IgM era rilevabile in 28 dei 37 pazienti che al momento della diagnosi presentavano ACPA IgG positivi: il 75.7% dei pazienti presentava quindi all'esordio di malattia una doppia positività anticorpale e tale dato si confermava in 23 di 32 pazienti (71.9%) al momento della sospensione del trattamento. La frequenza di sieronegativizzazione degli ACPA IgG era del 13.5%, non si è invece documentato nessun caso di positività; la frequenza di negativizzazione per il FR IgM era del 20.6% tra l'esordio della malattia e l'avvio del protocollo drug free, mentre la positività nello stesso periodo era del 3.9%.

#### Tabella 4

##### Caratteristiche sierologiche

<b>Caratteristiche sierologiche</b>	<b>Alla diagnosi</b>	<b>Alla sospensione della terapia</b>	<b>p</b>
<i>FR IgM positività, n (%)</i>	34 (40)	29 (34.1)	0.52
<i>FR IgM titolo, mediana (IQR), U/ml*</i>	88 (33.2-250.7)	37 (20.1-107.2)	0.003
<i>ACPA IgG positività, n (%)</i>	37 (43.5)	32 (37.6)	0.53
<i>ACPA IgG titolo, mediana (IQR), U/ml*</i>	125 (34-340)	111 (30.5-306.7)	0.19

Dati presentati come mediana (IQR) o frequenza relativa (%) in base all'appropriatezza. FR= fattore reumatoide, ACPA= anticorpi antipeptide ciclico citrullinato. \*valutazione effettuata nei pazienti risultati sieropositivi alla diagnosi.

## FOLLOW-UP E FREQUENZA DI RELAPSE DELLA MALATTIA

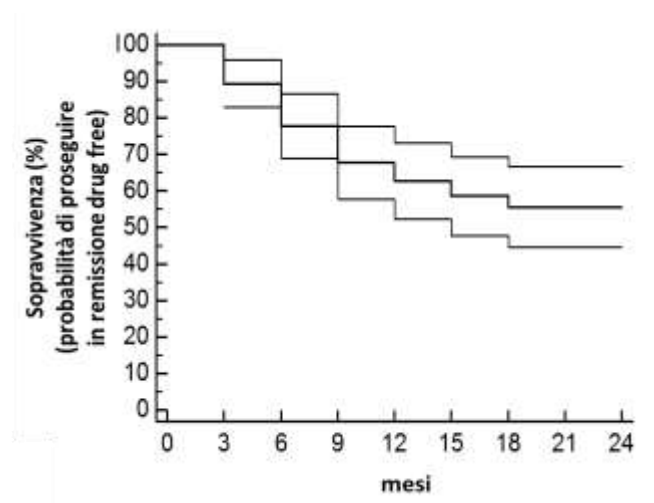
I pazienti che hanno completato il follow-up a 12 mesi sono 80 degli 85 pazienti inclusi nello studio: 5 (5.9%) sono stati esclusi dallo studio o per ritiro del consenso (1 paziente) o per necessità di intraprendere trattamento con glucocorticoidi per patologia non reumatologica (4 pazienti); 72 pazienti sono giunti al mese 18 del follow-up mentre 65 pazienti hanno completato il follow-up a 24 mesi.

Nei 2 anni di follow-up, 36 degli 85 pazienti inclusi nello studio (42.5%) hanno avuto necessità di reintrodurre il trattamento di fondo per il controllo della malattia articolare. Le variazioni di DAS28 al momento della ripresa del trattamento mostravano un cambio superiore a 1.2 punti in 29/36 pazienti (80.6%) con una variazione, rispetto al momento dell'arruolamento, di 2.3 punti di DAS28 (IQR 1.4-2.7). La probabilità di proseguire nel protocollo drug free era del 77.6% a 6 mesi, del 62.8% a 12 mesi e del 55.5% a 24 mesi (vedi *figura 1*).

La ripresa del trattamento avveniva dopo un tempo mediano di 6 mesi (IQR 4.5-10.5).

**Figura 1**

### **Kaplan-Meier relativa al mantenimento della remissione drug free**



Analisi di sopravvivenza relativa alla probabilità di mantenimento della remissione drug free nella popolazione in esame: la linea in grassetto corrisponde alla percentuale di pazienti che si stima possa proseguire il protocollo drug free nei 24 mesi di follow-up; le linee sottili indicano l'intervallo di confidenza al 95%.

## PREDITTORI DI RELAPSE DI MALATTIA: ANALISI UNIVARIATA

Abbiamo quindi analizzato se i principali parametri valutati fossero in grado di prevedere la fuoriuscita dal protocollo drug free e la necessità di riprendere il trattamento nei 24 mesi di follow-up.

Ciascun parametro è stato valutato in base alla propria distribuzione lineare e quando disponibile, in base al cut off di riferimento noto.

### *Predittori di relapse di malattia: caratteristiche demografiche e cliniche*

L'età media della popolazione che ha ripreso il trattamento era di circa 58 anni vs 62 anni della popolazione che ha proseguito il protocollo drug free, né l'età, né il sesso, né l'abitudine al fumo hanno dimostrato di essere in grado di predire il possibile relapse di malattia nei 24 mesi di follow-up ( $p=ns$ ). Nel gruppo che non ha ripreso il trattamento era riscontrabile una più duratura stabilità della remissione prima della sospensione del trattamento, con una mediana di 22 mesi vs i 16.5 mesi del gruppo che ha ripreso la terapia: la maggior stabilità della remissione clinica nella nostra popolazione non riduceva significativamente il rischio di relapse mostrando esclusivamente un modesto trend verso la significatività ( $p=0.095$ ); non si è inoltre evidenziato un incremento del rischio di recidiva dell'artrite in base alla durata globale della malattia ( $p=ns$ ).

Per quanto riguarda i dati clinici valutati al momento della sospensione della terapia, il DAS28 e il DAS44 al basale non erano in grado di predire il relapse di malattia, così come il soddisfacimento o meno della più stringente remissione ACR/EULAR ( $p=ns$ ). Il raggiungimento della remissione SDAI ( $SDAI \leq 3.3$ ) invece era più frequente nel gruppo che non ha ripreso il trattamento, con valori di significatività borderline rispetto al gruppo che ha dovuto riprendere la terapia per relapse di malattia (HR 2.11,  $p=0.054$ ).

Il numero di articolazioni tumefatte (conta su 28 e 44 articolazioni), il numero di articolazioni dolorabili e l'indice di dolorabilità articolare (RAI) erano sovrapponibili nei due gruppi in esame e non hanno mostrato di predire il relapse di malattia nella nostra popolazione ( $p=ns$ ).

Il giudizio relativo all'attività di malattia espresso dal paziente (VAS PGA) non si è rivelato un buon predittore del possibile relapse di malattia ( $p=ns$ ); il questionario HAQ-DI e la valutazione dell'erosività (mTSS) al baseline mostravano simili valori e non erano in grado di predire il relapse ( $p=ns$ ). Nessuna differenza era riscontrabile per quanto riguarda gli indici di fase acuta, che non erano in grado di



predire la ripresa della malattia (p=ns). Nella *tabella 5* sono riportati i dati completi relativi ai parametri demografici e clinici descritti.

**Tabella 5**

**Predittori di relapse di malattia: caratteristiche demografiche e clinimetriche (analisi univariata)**

<b>Caratteristiche alla sospensione della terapia</b>	<b>Ripresa della terapia per relapse n=36</b>	<b>Prosecuzione protocollo drug free n=49</b>	<b>HR n=85</b>	<b>IC 95% n=85</b>	<b>p n=85</b>
<b>Generali</b>					
Età, anni media (SD)	57.9 (15.1)	62.5 (13.9)	0.98	0.96-1.01	0.15
Sesso femminile, n (%)	25 (69.4)	33 (67.3)	1.19	0.59-2.42	0.62
Fumo di sigaretta n (%)	11 (30.6)	9 (18.4)	1.52	0.75-3.08	0.25
Durata di stabile remissione DAS28, mesi mediana (IQR) media (SD)	16.5 (9-26.5) 19.5 (11.5)	22 (12-26) 25.1 (18.9)	0.98	0.95-1.00	<b>0.095</b>
Durata di malattia, anni mediana (IQR) media (SD)	3.7 (3-6.2) 4.6 (1.9)	4 (2.8-5.6) 4.3 (1.7)	1.04	0.86-1.25	0.69
<b>Cliniche</b>					
DAS28 Media (SD)	1.83 (0.6)	1.89 (0.52)	0.85	0.47-1.54	0.59
DAS44 media (SD) • ≥1.6, n (%)	1 (0.36) 3 (8.3)	0.96 (0.31) 2 (4.1)	1.2 1.9	0.42-3.39 0.59-6.19	0.74 0.29
SDAI mediana (IQR) media (SD) • >3.3, n (%)	0.75 (0.25-3.35) 2.15 (2.68) 9 (25)	1.1 (0.26-2.43) 1.48 (1.65) 5 (10.2)	1.11 2.11	0.97-1.27 0.99-4.5	0.15 <b>0.054</b>
Remissione Booleana ACR/EULAR • Non soddisfatta, n (%)	10 (27.8)	10 (20.4)	1.31	0.63-2.71	0.47
SJC44 mediana (IQR) media (SD) • >0, n (%)	0 (0-1.5) 0.83 (1.28) 14 (38.9)	0 (0-1) 0.45 (0.68) 17 (34.7)	1.26 1.13	0.95-1.67 0.58-2.21	0.11 0.71
RAI mediana (IQR) media (SD)	0 (0-0) 0.36 (0.76)	0 (0-0) 0.12 (0.48)	1.4	0.93-2.11	0.11
SJC28 mediana (IQR) media (SD)	0 (0-1.5) 0.81 (1.28)	0 (0-1) 0.41 (0.64)	1.26	0.95-1.67	0.11
TJC28 mediana (IQR) media (SD)	0 (0-0) 0.14 (0.42)	0 (0-0) 0.04 (0.2)	1.61	0.73-3.57	0.24

VAS PGA, mm mediana (IQR) media (SD) • >10, n (%)	0 (0-5) 2.75 (4.96) 1 (2.8)	0 (0-4.2) 2.98 (6.02) 3 (6.1)	0.99 0.48	0.93-1.05 (0.07-3.44)	0.77 0.46
HAQ-DI mediana (IQR) media (SD)	0 (0-0) 0.02 (0.07)	0 (0-0) 0.06 (0.15)	0.11	0-4.66	0.25
VES, mm/h mediana (IQR) media (SD)	10 (6-14) 11.36 (8)	12 (6-18) 14.18 (11.92)	0.98	0.94-1.02	0.24
PCR, mg/dl mediana (IQR) media (SD) • >1 mg/dl, n (%)	0.18 (0.1-0.33) 0.24 (0.2) 0 (0)	0.18 (0.1-0.32) 0.43 (1.28) 2 (4.1)	0.80 --	0.32-1.98 --	0.63 0.96
mTSS mediana (IQR) media (SD)	6 (2.5-12.12) 7.61 (6.37)	7.5 (3.5-15) 10.33 (8.59)	0.96	0.92-1.01	0.15

Dati presentati come media (SD), mediana (IQR) o frequenza relativa (%) in base all'appropriatezza. HR= hazard ratio, IC= intervallo di confidenza. DAS28= disease activity score su 28 articolazioni, DAS44= disease activity score su 44 articolazioni, SDAI= simplified disease activity index, RAI= indice articolare di Ritchie, SJC= numero di articolazioni tumefatte, TJC= numero di articolazioni dolorabili, VAS= scala analogica visuale, PGA= patient global assessment; HAQ-DI= Health Assessment Questionnaire Disability Index; VES= velocità di eritrosedimentazione, PCR= proteina C reattiva, mTSS= modified total Sharp score.

#### *Predittori di relapse di malattia: caratteristiche ecografiche*

In riferimento alle caratteristiche ecografiche della popolazione in esame, il segnale GS medio alle mani al baseline era sovrapponibile nei due gruppi a confronto: era  $3.69 \pm 2.15$  nel gruppo che ha ripreso il trattamento vs  $3.61 \pm 2.27$  nel gruppo che non ha ripreso la terapia. Analogamente, anche considerando il GS globale a mani e piedi, non si evidenziavano significative differenze e il GS non mostrava di predire il relapse di malattia ( $p=ns$ ).

Il segnale PD evidenziato alle mani era in media  $1.28 \pm 1.61$  nel gruppo che ha ripreso il trattamento vs  $1.1 \pm 1.36$  nel gruppo che non ha ripreso la terapia, la presenza di segnale PD evidenziabile alle mani (PD mani >0) era presente nel 52.8% dei pazienti ritrattati e nel 51% dei pazienti del gruppo che non ha presentato relapse di malattia; dati sovrapponibili erano riscontrabili anche nella valutazione del PD di mani e piedi e globalmente il segnale PD evidenziabile al momento della sospensione della terapia non era in grado di predire l'eventuale relapse dell'artrite ( $p=ns$ ).

La tenosinovite era riscontrabile soltanto in 7/85 pazienti: 4 di questi pazienti hanno ripreso il trattamento mentre 3 pazienti hanno proseguito il protocollo drug free e tale riscontro non aumentava significativamente il rischio di ripresa di malattia ( $p=ns$ ).

Nella *tabella 6* sono presentati i dati completi relativi ai parametri ecografici in esame.

**Tabella 6**

**Predittori di relapse di malattia: caratteristiche ecografiche (analisi univariata)**

<b>Caratteristiche alla sospensione della terapia</b>	<b>Ripresa della terapia per relapse n=36</b>	<b>Prosecuzione protocollo drug free n=49</b>	<b>HR n=85</b>	<b>IC 95% n=85</b>	<b>p n=85</b>
<b>Ecografia</b>					
US-GS mani mediana (IQR) media (SD)	4 (2-5) 3.69 (2.15)	3 (2-4) 3.61 (2.27)	1.03	0.89-1.18	0.72
US-GS mani e piedi mediana (IQR) media (SD)	8.5 (4-12) 8.97 (5.75)	8 (4-11) 8.1 (4.24)	1.03	0.96-1.1	0.45
US-PD mani mediana (IQR) media (SD) • >0, n (%)	1 (0-2) 1.28 (1.61) 19 (52.8)	1 (0-2) 1.1 (1.36) 25 (51)	1.07 1.12	0.86-1.32 0.58-2.14	0.54 0.74
US-PD mani e piedi mediana (IQR) media (SD) • >0, n (%)	1 (0-2) 2 (3.19) 21 (58.3)	1 (0-2) 1.43 (1.88) 26 (53.1)	1.09 1.25	0.97-1.24 0.64-2.41	0.16 0.52
US-PD tenosinovite • >0, n (%)	4 (11.1)	3 (6.1)	1.46	0.52-4.12	0.47

Dati presentati come media (SD), mediana (IQR) o frequenza relativa (%) in base all'appropriatezza. HR= hazard ratio, IC= intervallo di confidenza. US= ultrasonografia, GS= scala di grigi, PD= power Doppler.

*Predittori di relapse di malattia: caratteristiche sierologiche*

In riferimento ai dati sierologici, il 52.8% dei pazienti del gruppo che ha ripreso la terapia aveva positività del FR IgM vs il 20.4% dei pazienti del gruppo che non ha ripreso il trattamento, dimostrando di essere un forte predittore del relapse di malattia articolare con un rischio stimato pari a 2.69 (p=0.003).

Analogamente anche la positività degli ACPA ha dimostrato di essere un forte predittore della recidiva dell'artrite: il 61.1% dei pazienti ritrattati era ACPA positivo vs il 20.4% dei pazienti in stabile remissione, con un rischio 3.54 volte maggiore di andare incontro a relapse in caso di positività degli ACPA (p<0.001). Quando analizzati come variabile continua, la positività degli ACPA mostrava un rischio pari a 1.005 (p<0.001) che rappresenta un incremento del 5% del rischio di ritrattamento per ogni incremento di 10 U/ml del titolo degli ACPA.

CXCL13 aveva un valore mediano di 70.1 pg/ml (IQR 49-99.9) nel gruppo che ha ripreso il trattamento vs 55 pg/ml (IQR 42.5-72.5) nel gruppo che non ha ripreso la terapia (p=0.005): il 25.7% dei pazienti

ritrattati presentava valori di CXCL13 superiori a 100 pg/ml contro il 10.2% dei pazienti senza relapse dell'artrite (p=0.002). Nella *tabella 7* sono riportati i dati relativi ai dati anticorpali dei pazienti in esame.

**Tabella 7**

**Predittori di relapse di malattia: caratteristiche sierologiche (analisi univariata)**

<b>Caratteristiche alla sospensione della terapia</b>	<b>Ripresa della terapia per relapse n=36</b>	<b>Prosecuzione protocollo drug free n=49</b>	<b>HR n=85</b>	<b>IC 95% n=85</b>	<b>p n=85</b>
<b>Sierologia</b>					
FR IgM titolo, U/ml mediana (IQR) media (SD) • positivo, n (%)	17.3 (10-60.8) 72.89 (140.88) 19 (52.8)	10 (10-10) 29.17 (72.01) 10 (20.4)	1.002 2.69	0.999-1.004 1.39-5.20	0.13 <b>0.003</b>
ACPA IgG titolo, U/ml mediana (IQR) media (SD) • positivo, n (%)	66 (1.15-310.5) 127.87 (145.09) 22 (61.1)	0.9 (0.5-2.45) 23.62 (59.13) 10 (20.4)	1.005 3.54	1.002-1.007 1.8-6.94	<b>&lt;0.001</b> <b>&lt;0.001</b>
CXCL13 titolo, pg/ml mediana (IQR) media (SD) • >100, n (%)	70.1 (49-99.9) 88.53 (81.46) 9 (25.7)	55 (42.5-72.5) 62.66 (27.88) 5 (10.2)	1.005 3.36	1.001-1.008 1.54-7.33	<b>0.005</b> <b>0.002</b>

Dati presentati come media (SD), mediana (IQR) o frequenza relativa (%) in base all'appropriatezza. HR= hazard ratio, IC= intervallo di confidenza. FR= fattore reumatoide, ACPA= anticorpi antipeptide ciclico citrullinato.

Alla luce dei principali parametri clinici, ecografici e sierologici presentati, abbiamo rivalutato la persistenza in protocollo drug free, come presentato nella *figura 2*.

I pazienti che non raggiungevano la remissione SDAI al momento della sospensione della terapia, avevano una persistenza nel protocollo drug free significativamente inferiore rispetto ai pazienti che in tale occasione soddisfacevano oltre alla remissione DAS28, anche una più stringente remissione SDAI (p=0.038).

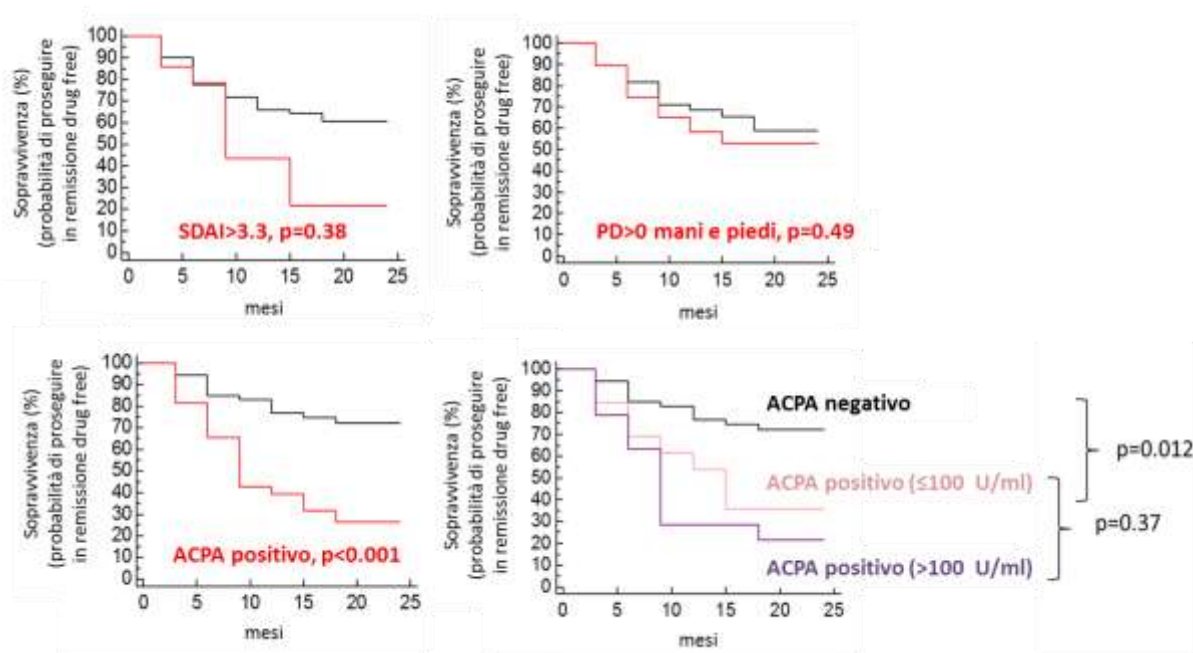
La presenza di segnale PD a mani e piedi (PD>0) non mostrava invece di ridurre significativamente la persistenza nel protocollo di remissione drug free (p=0.49).

Per quanto riguarda la positività degli ACPA IgG, l'analisi di sopravvivenza ha confermato come la positività anticorpale riducesse significativamente la probabilità di proseguire nel protocollo di remissione drug free (p<0.001). Stratificando i pazienti sulla base di ACPA negatività, ACPA ≤100 U/ml e ACPA >100 U/ml,<sup>157</sup> si confermava come la probabilità di rimanere nel protocollo drug free

fosse significativamente maggiore per i pazienti ACPA negativi rispetto ai pazienti ACPA positivi ( $p=0.012$ ). Una ulteriore stratificazione in base al titolo degli ACPA, come superiore o inferiore a 100 U/ml, riduceva leggermente la probabilità di mantenere il protocollo drug free ma la riduzione non appariva significativa.

**Figura 2**

**Kaplan-Meier relativa alla persistenza in remissione drug free (pazienti stratificati per SDAI, segnale PD e positività degli ACPA)**



Analisi di sopravvivenza relativa alla probabilità di mantenimento della remissione drug free nella popolazione in esame, stratificata in base a SDAI, segnale PD ecografico e positività degli ACPA IgG.

*Pannello in alto a sinistra:* stima della persistenza in protocollo drug free dei pazienti in remissione SDAI al momento della sospensione della terapia (linea nera) rispetto ai pazienti che non erano in remissione SDAI (linea rossa).

*Pannello in alto a destra:* stima della persistenza in protocollo drug free dei pazienti che non presentavano segnale PD all'ecografia di mani e piedi al momento della sospensione della terapia (PD=0) (linea nera), rispetto ai pazienti che presentavano PD>0 (linea rossa).

*Pannello in basso a sinistra:* stima della persistenza in protocollo drug free dei pazienti sieronegativi per gli ACPA al momento della sospensione della terapia (linea nera) rispetto ai pazienti ACPA positivi (linea rossa).

*Pannello in basso a destra:* stima della persistenza in protocollo drug free dei pazienti sieronegativi per gli ACPA al momento della sospensione della terapia (linea nera) rispetto ai pazienti ACPA positivi con titolo di ACPA IgG positivo ≤100 U/ml (linea rosa), o con titolo degli ACPA IgG >100 U/ml (linea viola).

## PREDITTORI DI RELAPSE DI MALATTIA: ANALISI MULTIVARIATA

I fattori che nella regressione univariata sono risultati essere maggiormente rilevanti sono stati successivamente inclusi nell'analisi multivariata: nel caso di parametri collineari è stato scelto il fattore più significativo. L'analisi multivariata è presentata in *tabella 8*.

In un modello che includeva la durata di remissione stabile prima della sospensione del trattamento (inferiore ai 12 mesi), il mancato raggiungimento della remissione CDAI e la positività degli ACPA, abbiamo evidenziato come l'ACPA positività fosse il fattore indipendente più fortemente associato al relapse della malattia articolare: il rischio di andare incontro a ritrattamento appariva 3.36 volte più alto nei pazienti ACPA positivi rispetto agli ACPA negativi ( $p < 0.001$ ).

**Tabella 8**

### **Rischio di ripresa della terapia con DMARD (analisi multivariata)**

<b>Caratteristiche</b>	<b>HR</b>	<b>IC 95%</b>	<b>P</b>
<i>Durata di remissione prima della sospensione (&lt;12 mesi) *</i>	1.77	0.86-3.65	0.12
SDAI >3.3	1.29	0.58-2.89	0.53
ACPA positività	<b>3.36</b>	1.66-6.79	<b>&lt;0.001</b>

Regressione multivariata di Cox relativa ai principali predittori di relapse di malattia. HR= hazard ratio, IC= intervallo di confidenza. \* quartile inferiore della durata stabile di remissione prima della sospensione del trattamento

Abbiamo quindi valutato se l'eventuale scelta di criteri più stringenti di remissione fosse in grado di modificare la probabilità di persistenza in protocollo drug free, come presentato in *figura 3*.

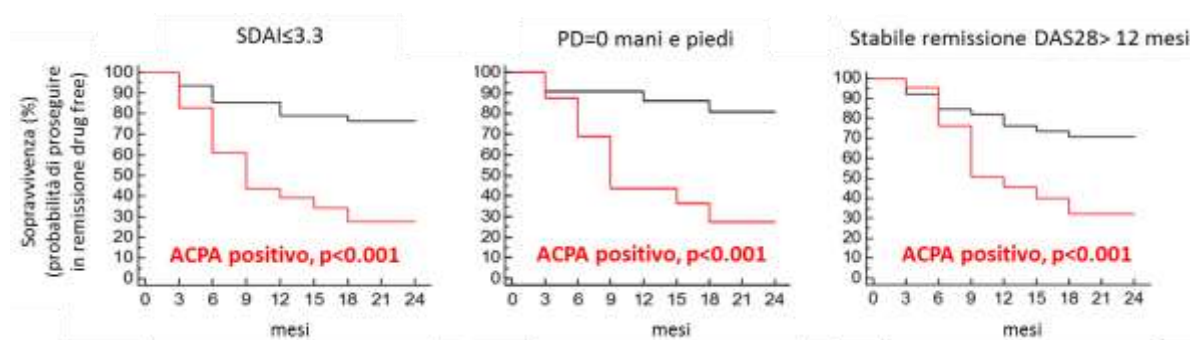
Prendendo in esame solo i pazienti che soddisfacevano la remissione SDAI al momento della sospensione del trattamento (71 pazienti), si confermava come la positività degli ACPA riducesse drasticamente, anche in questo sottogruppo, la probabilità di proseguire nel protocollo drug ( $p < 0.001$ ).

Ripetendo la stessa analisi con un parametro di stabilità della malattia ancora più stringente come la completa assenza di sinovite PD positiva all'ecografia di mani e piedi (PD=0) (38 pazienti), si confermava come la positività degli ACPA riducesse, anche in questo sottogruppo, la probabilità di

mantenere il protocollo drug free ( $p < 0.001$ ). Lo stesso risultato si otteneva quando venivano selezionati soltanto i pazienti che al momento dell'avvio del protocollo drug free presentassero una remissione stabile da almeno un anno (rispetto ai 6 mesi previsti dai criteri di arruolamento del nostro studio) (60 pazienti): anche in questo caso si confermava una ridotta probabilità di mantenere la remissione drug free nei pazienti sieropositivi per gli ACPA rispetto ai sieronegativi ( $p = 0.009$ ).

### Figura 3

**Kaplan-Meier relativa alla persistenza in remissione drug free in pazienti che soddisfano criteri più stringenti di stabilità della malattia**



Analisi di sopravvivenza relativa alla probabilità di mantenimento della remissione drug free utilizzando criteri più stringenti di remissione (clinici, ecografici e maggior durata della remissione).

*Pannello di sinistra:* analisi effettuata esclusivamente nel sottogruppo che al momento della sospensione della terapia soddisfaceva la remissione SDAI. Probabilità di proseguire nel protocollo di remissione drug free nei pazienti in remissione SDAI con ACPA negativi (linea nera), rispetto a pazienti in remissione SDAI con ACPA positivi (linea rossa).

*Pannello centrale:* analisi effettuata esclusivamente nel sottogruppo che al momento della sospensione della terapia non presentava segnale PD all'ecografia di mani e piedi ( $PD=0$ ). Probabilità di proseguire nel protocollo di remissione drug free nei pazienti con  $PD=0$  con ACPA negativi (linea nera), rispetto ai pazienti con  $PD=0$  con ACPA positivi (linea rossa).

*Pannello di destra:* analisi effettuata esclusivamente nel sottogruppo che al momento della sospensione della terapia era in stabile remissione DAS28 da oltre 12 mesi. Probabilità di proseguire nel protocollo di remissione drug free nei pazienti con remissione superiore a 12 mesi con ACPA negatività (linea nera), rispetto ai pazienti con remissione superiore a 12 mesi con ACPA positività (linea rossa).

### OUTCOME DEI PAZIENTI CHE HANNO PROSEGUITO IL PROTOCOLLO DRUG FREE

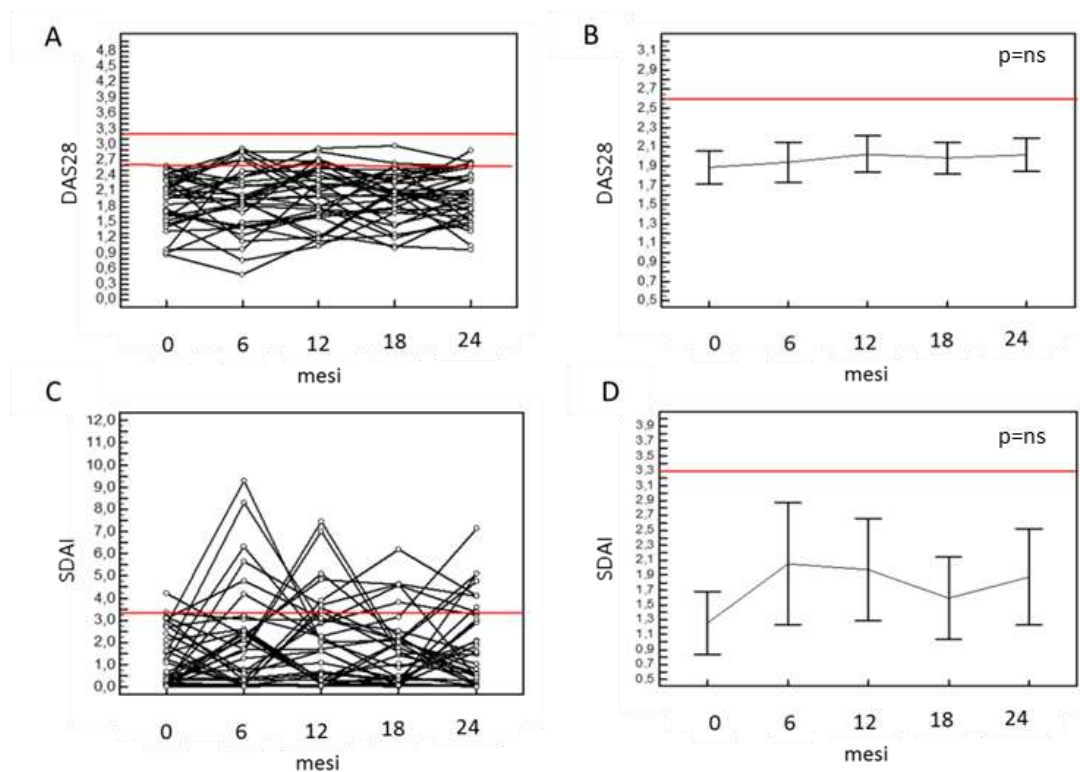
Ad oggi 35 pazienti sono giunti al termine dei 24 mesi di follow-up senza necessità di riprendere il trattamento di fondo. In questi pazienti abbiamo valutato la qualità della remissione mantenuta durante i 2 anni di osservazione. Una remissione DAS28 stabile in tutte le visite era dimostrabile in 19 casi

(54,3%), in 16 di 35 pazienti (45,7%) abbiamo invece evidenziato episodi auto-limitanti di transitoria perdita della remissione con DAS28 di bassa attività di malattia. Nell'ambito della bassa attività di malattia DAS28, il peggioramento del  $\text{DAS28} \geq 1,2$  punti rispetto al DAS28 presentato al momento della sospensione del trattamento era riscontrabile soltanto in un soggetto (2,9%).

In generale, nei pazienti che mantenevano il protocollo drug free non si osservavano significativi cambiamenti in termini di DAS28 o di SDAI tra i vari time points (analisi statistica per misure ripetute,  $p=\text{ns}$ ) (Figura 4).

**Figura 4**

**Outcome dei pazienti che hanno proseguito il protocollo drug free**



Analisi relativa alle fluttuazioni del DAS28 e dello SDAI riscontrate durante il follow-up di 24 mesi nei pazienti che hanno concluso l'osservazione senza necessità di riprendere la terapia di fondo.

ns= non statisticamente significativo

A) valori grezzi del DAS28 ai time points semestrali valutati, le linee rosse indicano il cut off del DAS28: DAS28 remissione  $< 2.6$ , DAS28 bassa attività di malattia  $\geq 2.6, \leq 3.2$ .

B) valori medi del DAS28 e intervalli di confidenza al 95% ai time points semestrali valutati. Analisi per misure ripetute.

C) valori grezzi dello SDAI ai time points semestrali valutati, la linea rossa indica il cut off della remissione SDAI  $\leq 3.3$ .

D) valori medi dello SDAI e intervalli di confidenza al 95% ai time points semestrali valutati. Analisi per misure ripetute.



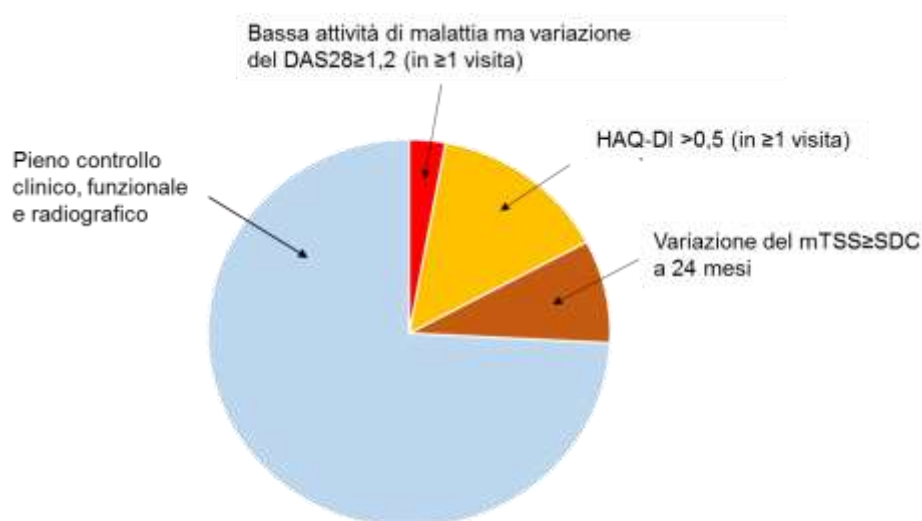
### Controllo di malattia clinico, funzionale e radiografico

Al termine dei 24 mesi di follow-up abbiamo valutato quanti pazienti avessero mantenuto nel tempo un adeguato controllo globale di malattia sia in termini clinici (inteso come DAS28 di bassa attività di malattia  $\leq 3.2$  con variazione del DAS28 non superiore a 1.2 punti), che funzionali (HAQ-DI  $\leq 0.5$ ), che radiografici (variazione del mTSS inferiore al valore della SDC).

Dei 35 pazienti che hanno concluso i 24 mesi di osservazione senza necessità di riprendere la terapia di fondo, il 14.3% (5/35 pazienti) ha presentato anche sono in una visita un peggioramento del quadro funzionale (HAQ-DI  $> 0.5$ ); l'8.6% (3/35 pazienti) ha presentato invece una lieve progressione radiografica a 2 anni di follow-up. Globalmente il 74.3% dei pazienti (26/35 pazienti) ha concluso l'intero periodo di osservazione mantenendo stabilmente un adeguato controllo di malattia in termini clinici, funzionali e radiografici. I dati relativi a tale controllo sono presentati in *figura 5*.

### Figura 5

#### Controllo di malattia clinico, funzionale e radiografico a 24 mesi



Mantenimento del controllo di malattia clinico, funzionale e radiografico nel gruppo che ha concluso i 2 anni di osservazione senza necessità di riprendere la terapia:

*porzione azzurra:* 26/35 pazienti (74.3%): controllo clinico, funzionale e radiografico per tutto il follow-up

*porzione gialla:* 5/35 pazienti (14.3%): mancato controllo funzionale (HAQ-DI  $> 0.5$ ) in almeno una visita

*porzione marrone:* 3/35 pazienti (8.6%): mancato controllo radiografico con variazione dello score totale di Sharp modificato da Van der Heijde (mTSS) superiore alla smallest detectable change (SDC)

*porzione rossa:* 1/35 pazienti (2.8%): mancato controllo clinico (bassa attività di malattia DAS28 ma variazione del DAS28  $\geq 1.2$  punti) in almeno 1 visita.

## OUTCOME DEI PAZIENTI CHE HANNO RIPRESO IL TRATTAMENTO

Ad oggi 36 pazienti hanno avuto necessità di riprendere il trattamento per relapse di malattia: di questi, 31 pazienti hanno concluso il follow-up di 6 mesi dopo la ripresa del trattamento. I dati sono presentati in *figura 6*.

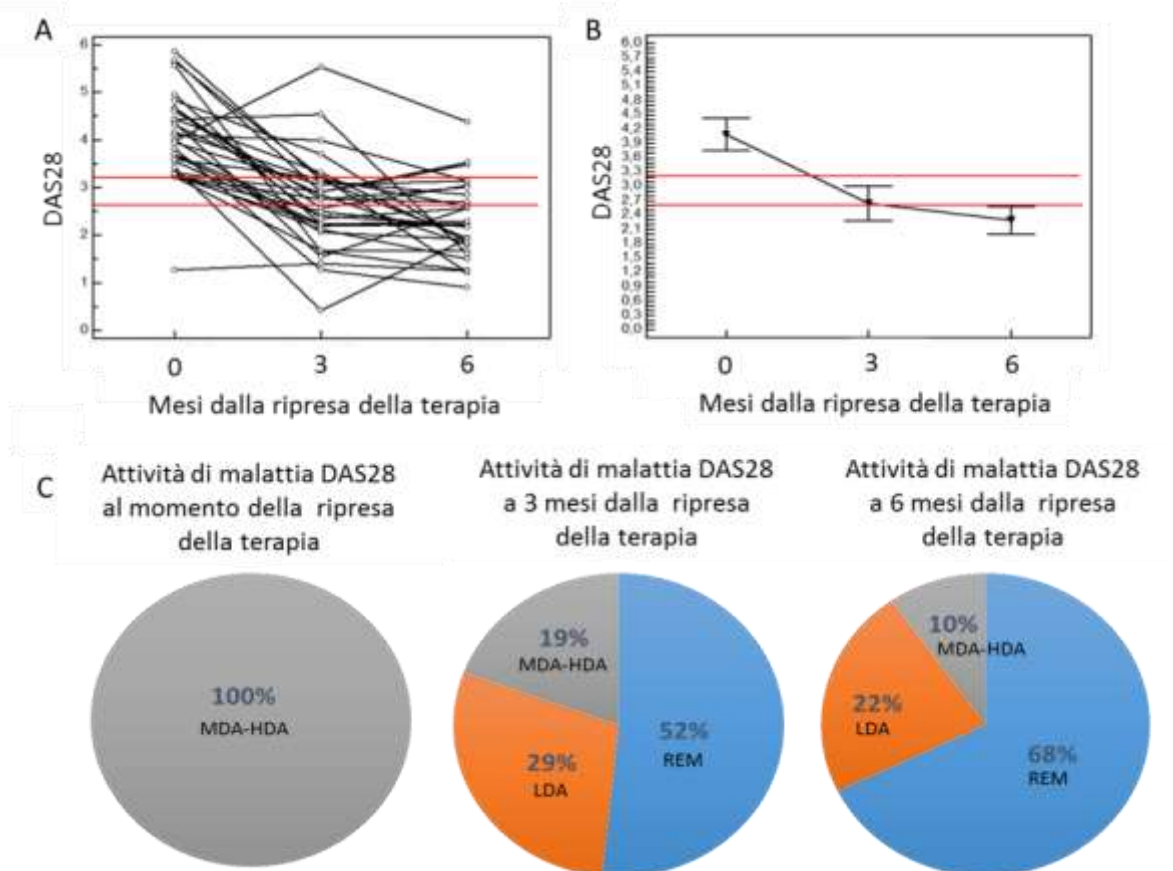
La ripresa della terapia ha prontamente indotto una rapida risposta clinica già evidenziabile a 3 mesi dalla ripresa del farmaco. L'attività di malattia DAS28, dal momento della ripresa del trattamento alla visita dopo 3 mesi, mostrava una significativa riduzione ( $p < 0.001$ ); negli ulteriori 3 mesi di follow-up non si osservavano ulteriori significative variazioni del DAS28 ( $p = 0.12$ ).

Il ripristino di uno stato di remissione DAS28 entro 6 mesi dalla ripresa del trattamento di fondo era riscontrabile in 21/31 pazienti (67.7%), mentre il raggiungimento della bassa attività di malattia DA28 era presente nella quasi totalità dei pazienti (28/31 pazienti, 90.3%) a 6 mesi.

A 6 mesi dalla ripresa della terapia, 3 pazienti presentavano una moderata attività di malattia DAS28: 2 di questi pazienti hanno raggiunto nuovamente un adeguato controllo di malattia (bassa attività di malattia DAS28) nei mesi successivi, un paziente (3,2%) non ha presentato una sufficiente risposta al protocollo di ritrattamento e ha richiesto un approccio farmacologico alternativo.

Figura 6

Outcome dei pazienti dopo la ripresa del trattamento



Analisi relativa alle fluttuazioni del DAS28 nei 6 mesi di follow-up successivi alla ripresa della terapia.

A) valori grezzi del DAS28 ai time points valutati; le linee rosse indicano il cut off del DAS28: DAS28 < 2.6, remissione, DAS28 ≥ 2.6 e ≤ 3.2 = bassa attività di malattia

B) valori medi del DAS28 e intervalli di confidenza al 95% ai principali time points valutati.

C) attività di malattia evidenziata nei 6 mesi di follow-up successivi alla ripresa della terapia: è indicata la percentuale di pazienti che soddisfa ciascun parametro di attività di malattia DAS28.

a sinistra: attività di malattia DAS28 al momento della ripresa del trattamento\*

al centro: attività di malattia DAS28 dopo 3 mesi dalla ripresa del trattamento\*

a destra: attività di malattia DAS28 dopo 6 mesi dalla ripresa del trattamento\*

\*HDA= high disease activity (DAS28 > 5.1), MDA= moderate disease activity (DAS28 > 3.2, ≤ 5.1), LDA= low disease activity (DAS28 ≥ 2.6, ≤ 3.2) REM= remissione (DAS28 < 2.6)

**DISCUSSIONE**

Questo è il primo studio che esplora nella real life la prospettiva di un approccio "untreat-to-target" nei pazienti con early AR che hanno raggiunto una stabile remissione DAS28.

La popolazione presa in esame all'esordio della malattia mostrava un'artrite attiva le cui caratteristiche generali appaiono sovrapponibili a quelle dei pazienti valutati nelle principali EAC europee.<sup>142,158</sup> A differenza dei pazienti inclusi nello studio BeSt invece, la diagnosi di AR era stata effettuata in tempi più rapidi: tale risultato appare in linea con le più moderne aspettative di una EAC e la necessità di contrastare il noto delay tra l'esordio dei sintomi e la diagnosi.<sup>56</sup>

Al momento dell'arruolamento in questo protocollo di studio tutti i pazienti avevano raggiunto un buon controllo della malattia articolare<sup>71</sup> ed erano in remissione DAS28. Questo criterio, come già descritto, correla notoriamente con un grado di remissione piuttosto leggero e i pazienti che raggiungono la remissione secondo tale parametro possono mostrare una attività residua di malattia evidenziabile con parametri più stringenti come ad esempio lo SDAI,<sup>159</sup> o tramite metodiche di imaging.<sup>88</sup> A sostegno di tale evidenza anche nella nostra popolazione, nonostante fosse raggiunto un buon controllo complessivo dell'attività di malattia, era possibile evidenziare la presenza di modesti segni sia clinici che ecografici di malattia residua.<sup>68</sup> All'applicazione di criteri di remissione più stringenti, infatti, si riduceva il numero di pazienti in grado di soddisfare tali parametri e oltre la metà dei pazienti in esame presentava segnale PD presente all'ecografia di mani e piedi.

La possibile riduzione del titolo del FR in risposta ad un idoneo trattamento è nota in letteratura, generalmente però tale riduzione non appare sufficiente per una sierconversione, soprattutto per titoli medio-alti.<sup>27</sup> Tale dato si è confermato anche nella nostra casistica: nonostante ci fosse una significativa riduzione del titolo anticorpale non si assisteva ad una sierconversione statisticamente significativa. Per quanto riguarda gli ACPA invece, sia come positività che come titolo, nel nostro studio non si assisteva ad una significativa riduzione, in linea con quanto noto in letteratura<sup>28</sup> infatti la positività anticorpale sembra essere solo parzialmente influenzata dal trattamento.

La sospensione della terapia senza ripresa di malattia è stata osservata in oltre il 55% dei pazienti, in linea con i dati disponibili in letteratura per coorti analoghe a quella esplorata in questo studio<sup>140</sup> e circa il 75% dei pazienti mostrava una stabilità clinica, funzionale e radiografica al termine dei 24 mesi di follow-up.<sup>84</sup>

Il più forte predittore indipendente del ritrattamento è risultato essere la positività autoanticorpale, in linea con quanto emerso anche in studi simili.<sup>140</sup> Anche utilizzando parametri più stringenti di selezione dei pazienti, come ad esempio una più lunga durata della remissione prima della sospensione della terapia, oppure parametri di remissione maggiormente stringenti come la remissione SDAI, oppure includendo nella valutazione solo pazienti che non presentassero attività residua di malattia rilevabile in ecografia, non si sono evidenziati altri predittori di relapse di malattia.

L'avvio del protocollo drug free in modo "cross-sezionale" in una popolazione in remissione stabile per almeno 6 mesi, ci ha portato ad ottenere valori di durata della remissione clinica molto eterogenei e più ampi di quanto atteso in uno studio "inception based": la prevalenza e la sostenibilità della remissione drug free potrebbero quindi essere differenti rispetto ad altri contesti clinici. Tuttavia, questo approccio ci ha permesso di testare la variabile "durata di remissione stabile prima della sospensione del trattamento" in un più ampio spettro temporale e tale opportunità ci ha portato a dimostrare il suo limitato valore come possibile fattore di rischio per il relapse.

La constatazione che molti dei parametri clinici noti in letteratura per essere associati a perdita della remissione non siano stati discriminanti nella predizione del relapse in questo studio, non appare sorprendente alla luce delle caratteristiche specifiche della popolazione in esame.<sup>142</sup> Nella maggioranza dei pazienti infatti, la diagnosi di AR era stata posta in tempi molto rapidi e i pazienti avevano prontamente iniziato una adeguata terapia di fondo: la combinazione di tali fattori si associa notoriamente ad una maggior frequenza di remissione sostenuta.<sup>61,160</sup> Per tale motivo quindi fattori quali la durata dei sintomi prima dell'avvio del trattamento, l'attività della malattia all'esordio o il tempo di remissione stabile prima della sospensione della terapia, potrebbero aver avuto poca rilevanza nel determinare il mantenimento o la perdita della remissione nella nostra popolazione.

Una analoga osservazione potrebbe essere posta nei confronti del quadro ecografico: il PD ha dimostrato in letteratura di essere in grado di predire un relapse a breve termine nei pazienti in remissione durante il trattamento farmacologico.<sup>92</sup> In questo lavoro in un contesto di remissione clinica invece il PD non si è dimostrato altrettanto buono come predittore della ripresa della malattia articolare. Tuttavia il ruolo dell'ecografia articolare nel follow-up dei pazienti con AR è controverso e non esiste un completo consenso riguardo alla ottimale metodologia da utilizzare,<sup>101</sup> tanto che ad oggi, anche nelle più recenti raccomandazioni internazionali, il ruolo dell'ecografia resta dibattuto<sup>34</sup>.

Allo stesso modo nemmeno la tenosinovite,<sup>99</sup> che è stata recentemente proposta come possibile indicatore di instabilità della remissione, si è rivelata un buon predittore di relapse nella nostra popolazione in cui comunque tale evidenza era solo raramente riscontrata.

Tra i criteri di remissione più o meno stringenti<sup>159</sup> che il paziente aveva raggiunto al momento della sospensione del trattamento, soltanto la mancata remissione SDAI mostrava un incremento borderline del rischio di relapse: tale osservazione conferma l'ipotesi che una remissione DAS28 non sia sufficiente per garantire una stabile sospensione del trattamento e che sia suggeribile, per l'arruolamento in un protocollo drug free, l'utilizzo di un parametro di remissione più stringente. Tuttavia nemmeno il raggiungimento della remissione SDAI si è rivelata una richiesta adeguata per evitare il relapse di malattia e, nell'analisi multivariata, l'unico parametro emerso come predittore indipendente della ripresa dell'artrite era la positività anticorpale.

Complessivamente questi risultati dimostrano come una parte delle recidive di malattia osservate possa essere verosimilmente spiegata dalla persistenza della sinovite,<sup>88</sup> nel contesto di una remissione basata su criteri notoriamente poco selettivi e che tale riscontro possa essere ottimizzato tramite l'utilizzo di criteri più stringenti di remissione, come l'utilizzo dello SDAI. E' noto infatti che lo SDAI sia un parametro più stringente di malattia rispetto al DAS28, tanto da essere stato suggerito come alternativa rispetto ai più recenti criteri di remissione proposti dall'ACR/EULAR.<sup>46</sup> La sinovite residua ha dimostrato però di non essere in grado di spiegare tutti i casi di recidiva di malattia riscontrati nel nostro studio: la restante quota dei relapse potrebbe essere invece da imputare alla persistenza di foci immuno-infiammatori al di fuori dei siti studiati, alla memoria patologica sinoviale e alle alterazioni costitutive non rilevabili con gli strumenti clinici ed ecografici a disposizione.<sup>88</sup> In linea con questi concetti infatti, l'unico predittore indipendente della riattivazione della malattia era la positività degli ACPA IgG che non si associava all'inflammatione residua, né clinica né ecografica. Tale ipotesi appare supportata anche dall'evidenza che tutti i parametri sierologici valutati fossero predittori del relapse, oltre alla positività degli ACPA, anche la positività del FR e i livelli di CXCL13 erano infatti ottimi predittori della recidiva di malattia.

La scelta di valutare esclusivamente la positività degli ACPA IgG, all'interno dell'analisi multivariata, è legata al grado di collinearità dei fattori proposti: è stato quindi scelto il parametro che, oltre a presentare la più alta significatività, avesse anche le migliori caratteristiche di specificità e

riproducibilità. Inoltre, la positività anticorpale ha dimostrato ampiamente in letteratura di avere un effetto additivo sulla comparsa di erosioni ossee<sup>24</sup>, di aumento della flogosi in vitro<sup>118</sup> e di aumento del rischio di artrite nei pazienti con artralgie.<sup>115</sup> La produzione anticorpale sembrerebbe quindi essere coinvolta, non solo nella fase pre-clinica di malattia, ma anche nella fase post-remissione e di essere in grado di influenzare fortemente le dinamiche di stabilità della remissione stessa.

La grande maggioranza dei pazienti che rimaneva nel protocollo drug free ha mostrato un quadro di stabilità sia clinica che funzionale che radiologica, con una progressione dell'erosività sovrapponibile a quella nota nei pazienti in remissione durante trattamento farmacologico.<sup>84</sup> I pazienti che hanno ripreso il trattamento per il controllo dell'artrite hanno rapidamente recuperato un buon controllo di malattia, in linea con la buona risposta clinica al ritrattamento evidenziata in letteratura.<sup>140</sup>

La stabilità clinica, funzionale e radiografica evidenziata nei pazienti che hanno proseguito il follow-up, unitamente alla soddisfacente risposta clinica in caso di ripresa della terapia, sostengono il concetto secondo cui un regime drug free possa essere un'opzione concreta in un sottogruppo di pazienti classificati in base ai criteri del 2010 che raggiungono la remissione.

Lo studio in corso ha alcune limitazioni: si tratta di uno studio monocentrico e di conseguenza può presentare delle limitazioni legate alla popolazione reclutata; tuttavia la nostra coorte rappresenta ad oggi la più ampia popolazione di AR in remissione drug free analizzata con metodica ultrasonografica e basata sull'introduzione dei più recenti criteri sia per la classificazione della malattia, sia per il raggiungimento della remissione. Lo studio in corso non ci ha inoltre permesso di definire potenziali differenze tra i pazienti in remissione stabile rispetto ai pazienti che presentavano, durante il follow-up, una remissione instabile: ulteriori studi e follow-up più estesi permetteranno di studiare meglio l'impatto della stabilità della remissione sui risultati funzionali, radiografici e sugli outcomes a lungo termine in regime di drug free.

In conclusione, un approccio drug free strettamente controllato può essere preso in considerazione nei pazienti con early AR in stabile remissione SDAI e in trattamento con DMARDs tradizionali, tenendo sempre presente la possibilità di riattivazione di malattia, soprattutto nei pazienti con positività anticorpale. Prima di poter considerare la prospettiva di una remissione drug free in tutti i pazienti con



AR sarà necessario un ulteriore approfondimento dei processi di perdita della tolleranza immunitaria e delle lesioni tissutali sub-infiammatorie.

## BIBLIOGRAFIA

1. Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2016;388:2023-38.
2. Lauper K, Gabay C. Cardiovascular risk in patients with rheumatoid arthritis. *Semin Immunopathol*. 2017;39:447-59.
3. Silman AJ, Pearson JE. Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res*. 2002;4:S265-72.
4. Alamanos Y, Voulgari P V, Drosos AA. Incidence and prevalence of rheumatoid arthritis, based on the 1987 American College of Rheumatology criteria: a systematic review. *Semin Arthritis Rheum*. 2006;36:182-8.
5. Silman AJ, MacGregor AJ, Thomson W, et al. Twin concordance rates for rheumatoid arthritis: results from a nationwide study. *Br J Rheumatol*. 1993;32:903-7.
6. Jiang X, Frisell T, Askling J, et al. To what extent is the familial risk of rheumatoid arthritis explained by established rheumatoid arthritis risk factors? *Arthritis Rheumatol*. 2015;67:352-62.
7. Frisell T, Hellgren K, Alfredsson L, Raychaudhuri S, Klareskog L, Askling J. Familial aggregation of arthritis-related diseases in seropositive and seronegative rheumatoid arthritis: a register-based case-control study in Sweden. *Ann Rheum Dis*. 2016;75:183-9.
8. Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1987;30:1205-13.
9. Viatte S, Plant D, Han B, et al. Association of HLA-DRB1 haplotypes with rheumatoid arthritis severity, mortality, and treatment response. *JAMA*. 2015;313:1645-56.
10. Barra L, Pope J, Bessette L, Haraoui B, Bykerk V. Lack of seroconversion of rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide in patients with early inflammatory arthritis: a systematic literature review. *Rheumatology*. 2011;50:311-16.
11. Nell-Duxneuner V, Machold K, Stamm T, et al. Autoantibody profiling in patients with very early rheumatoid arthritis: a follow-up study. *Ann Rheum Dis*. 2010;69:169-74.
12. Gay S, Klein K. Epigenetics in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2015 Jan;27:76-82
13. Silman AJ, Newman J, MacGregor AJ. Cigarette smoking increases the risk of rheumatoid

- arthritis. Results from a nationwide study of disease-discordant twins. *Arthritis Rheum.* 1996;39:732-5.
14. Millar K, Lloyd SM, McLean JS, et al. Personality, socio-economic status and inflammation: cross-sectional, population-based study. Stover CM, ed. *PLoS One.* 2013;8:e58256.
  15. Ebringer A, Wilson C. HLA molecules, bacteria and autoimmunity. *J Med Microbiol.* 2000;49:305-11.
  16. Scher JU, Littman DR, Abramson SB. Microbiome in Inflammatory Arthritis and Human Rheumatic Diseases. *Arthritis Rheumatol.* 2016;68:35-45.
  17. Firestein GS, McInnes IB. Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Immunity.* 2017;46:183-96.
  18. Nielen MMJ, van Schaardenburg D, Reesink HW, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum.* 2004;50:380-6.
  19. van Gaalen FA, van Aken J, Huizinga TWJ, et al. Association between HLA class II genes and autoantibodies to cyclic citrullinated peptides (CCPs) influences the severity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2004;50:2113-21.
  20. Gonzalez A, Icen M, Kremers HM, et al. Mortality trends in rheumatoid arthritis: the role of rheumatoid factor. *J Rheumatol.* 2008;35:1009-14.
  21. Reynisdottir G, Olsen H, Joshua V, et al. Signs of immune activation and local inflammation are present in the bronchial tissue of patients with untreated early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2016;75:1722-7.
  22. Rombouts Y, Willemze A, van Beers JJBC, et al. Extensive glycosylation of ACPA-IgG variable domains modulates binding to citrullinated antigens in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2016;75:578-85.
  23. Sabharwal UK, Vaughan JH, Fong S, Bennett PH, Carson DA, Curd JG. Activation of the classical pathway of complement by rheumatoid factors. Assessment by radioimmunoassay for C4. *Arthritis Rheum.* 1982;25:161-7.
  24. Harre U, Georgess D, Bang H, et al. Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin. *J Clin Invest.* 2012;122:1791-802.

25. Anquetil F, Clavel C, Offer G, Serre G, Sebbag M. IgM and IgA rheumatoid factors purified from rheumatoid arthritis sera boost the Fc receptor- and complement-dependent effector functions of the disease-specific anti-citrullinated protein autoantibodies. *J Immunol.* 2015;194:3664-74.
26. Spadaro A, Riccieri V, Sili Scavalli A, Taccari E, Zoppini A. One year treatment with low dose methotrexate in rheumatoid arthritis: effect on class specific rheumatoid factors. *Clin Rheumatol.* 1993;12:357-60.
27. Bobbio-Pallavicini F, Alpini C, Caporali R, Avalle S, Bugatti S, Montecucco C. Autoantibody profile in rheumatoid arthritis during long-term infliximab treatment. *Arthritis Res Ther.* 2004;6:R264-72.
28. De Rycke L, Verhelst X, Kruithof E, et al. Rheumatoid factor, but not anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, is modulated by infliximab treatment in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2005;64:299-302.
29. McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2011;365:2205-19.
30. Brzustewicz E, Bryl E. The role of cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis-- Practical and potential application of cytokines as biomarkers and targets of personalized therapy. *Cytokine.* 2015;76:527-36.
31. Jung SM, Kim KW, Yang C-W, Park S-H, Ju JH. Cytokine-Mediated Bone Destruction in Rheumatoid Arthritis. *J Immunol Res.* 2014;2014:1-15.
32. Harre U, Schett G. Cellular and molecular pathways of structural damage in rheumatoid arthritis. *Semin Immunopathol.* 2017;39:355-63.
33. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid Arthritis Classification Criteria. *2010;62:2569-81.*
34. Smolen JS, Landewé R, Bijlsma J, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2016 update. *Ann Rheum Dis.* 2017;76:960-77.
35. van Nies JAB, Krabben A, Schoones JW, Huizinga TWJ, Kloppenburg M, van der Helm-van Mil AHM. What is the evidence for the presence of a therapeutic window of opportunity in

- rheumatoid arthritis? A systematic literature review. *Ann Rheum Dis.* 2014;73:861-70.
36. Smolen JS, Aletaha D, Bijlsma JWJ, et al. Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of an international task force. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:631-37.
  37. Mease PJ. Improving the routine management of rheumatoid arthritis: the value of tight control. *J Rheumatol.* 2010;37:1570-8.
  38. Favalli EG, Biggioggero M, Meroni PL. Methotrexate for the treatment of rheumatoid arthritis in the biologic era: still an "anchor" drug? *Autoimmun Rev.* 2014;13:1102-8.
  39. Smolen JS, Kalden JR, Scott DL, et al. Efficacy and safety of leflunomide compared with placebo and sulphasalazine in active rheumatoid arthritis: a double-blind, randomised, multicentre trial. European Leflunomide Study Group. *Lancet.* 1999;353:259-66.
  40. Sharp JT, Strand V, Leung H, Hurley F, Loew-Friedrich I. Treatment with leflunomide slows radiographic progression of rheumatoid arthritis: results from three randomized controlled trials of leflunomide in patients with active rheumatoid arthritis. Leflunomide Rheumatoid Arthritis Investigators Group. *Arthritis Rheum.* 2000;43:495-505.
  41. Graudal N, Jürgens G. Similar effects of disease-modifying antirheumatic drugs, glucocorticoids, and biologic agents on radiographic progression in rheumatoid arthritis: meta-analysis of 70 randomized placebo-controlled or drug-controlled studies, including 112 comparisons. *Arthritis Rheum.* 2010;62:2852-63.
  42. Bakker MF, Jacobs JWG, Welsing PMJ, et al. Low-Dose Prednisone Inclusion in a Methotrexate-Based, Tight Control Strategy for Early Rheumatoid Arthritis. *Ann Intern Med.* 2012;156:329.
  43. Smolen JS, Landewé R, Breedveld FC, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2013 update. *Ann Rheum Dis.* 2014;73:492-509.
  44. Combe B, Landewe R, Lukas C, et al. EULAR recommendations for the management of early arthritis: report of a task force of the European Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCISIT). *Ann Rheum Dis.* 2007;66:34-45.
  45. Combe B, Landewe R, Daien CI, et al. 2016 update of the EULAR recommendations for the management of early arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2017;76:948-59.

46. Felson DT, Smolen JS, Wells G, et al. American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism Provisional Definition of Remission in Rheumatoid Arthritis for Clinical Trials. *Arthritis Rheum.* 2011;63:573-86.
47. Felson D. Defining remission in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2012;71:i86-8.
48. Mierau M, Schoels M, Gonda G, Fuchs J, Aletaha D, Smolen JS. Assessing remission in clinical practice. *Rheumatology.* 2007;46:975-9.
49. Quinn MA, Emery P. Window of opportunity in early rheumatoid arthritis: Possibility of altering the disease process with early intervention. *Clin Exp Rheumatol.* 2003;21.
50. Sørensen J, Hetland ML, all departments of rheumatology in Denmark. Diagnostic delay in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and ankylosing spondylitis: results from the Danish nationwide DANBIO registry. *Ann Rheum Dis.* 2015;74:e12.
51. Raza K, Stack R, Kumar K, et al. Delays in assessment of patients with rheumatoid arthritis: variations across Europe. *Ann Rheum Dis.* 2011;70:1822-5.
52. Kumar K, Daley E, Carruthers DM, et al. Delay in presentation to primary care physicians is the main reason why patients with rheumatoid arthritis are seen late by rheumatologists. *Rheumatology.* 2007;46:1438-40.
53. Lard LR, Huizinga TW, Hazes JM, Vliet Vlieland TP. Delayed referral of female patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2001;28:2190-2.
54. Emery P, Breedveld FC, Dougados M, Kalden JR, Schiff MH, Smolen JS. Early referral recommendation for newly diagnosed rheumatoid arthritis: evidence based development of a clinical guide. *Ann Rheum Dis.* 2002;61:290-7.
55. Gremese E, Salaffi F, Bosello SL, et al. Very early rheumatoid arthritis as a predictor of remission: a multicentre real life prospective study. *Ann Rheum Dis.* 2013;72:858-62.
56. van der Linden MPM, le Cessie S, Raza K, et al. Long-term impact of delay in assessment of patients with early arthritis. *Arthritis Rheum.* 2010;62:3537-46.
57. Lard LR, Visser H, Speyer I, et al. Early versus delayed treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis: comparison of two cohorts who received different treatment strategies. *Am J Med.* 2001;111:446-51.
58. Nell VPK, Machold KP, Eberl G, Stamm TA, Uffmann M, Smolen JS. Benefit of very early

- referral and very early therapy with disease-modifying anti-rheumatic drugs in patients with early rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2004;43:906-14.
59. Scirè CA, Lunt M, Marshall T, Symmons DPM, Verstappen SMM. Early remission is associated with improved survival in patients with inflammatory polyarthritis: results from the Norfolk Arthritis Register. *Ann Rheum Dis*. 2014;73:1677-82.
  60. Puolakka K, Kautiainen H, Möttönen T, et al. Early suppression of disease activity is essential for maintenance of work capacity in patients with recent-onset rheumatoid arthritis: five-year experience from the FIN-RACo trial. *Arthritis Rheum*. 2005;52:36-41.
  61. Cush JJ. Early rheumatoid arthritis - is there a window of opportunity? *J Rheumatol*. 2007;34:1-7.
  62. Pinals RS, Masi AT, Larsen RA. Preliminary criteria for clinical remission in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1981;24:1308-15.
  63. Prevoo ML, van Gestel AM, van T Hof MA, van Rijswijk MH, van de Putte LB, van Riel PL. Remission in a prospective study of patients with rheumatoid arthritis. American Rheumatism Association preliminary remission criteria in relation to the disease activity score. *Br J Rheumatol*. 1996;35:1101-5.
  64. Sesin CA, Bingham CO. Remission in rheumatoid arthritis: wishful thinking or clinical reality? *Semin Arthritis Rheum*. 2005;35:185-196.
  65. Ranganath VK, Khanna D, Paulus HE. ACR remission criteria and response criteria. *Clin Exp Rheumatol*. 24;6:S-14-21.
  66. Ometto F, Botsios C, Raffeiner B, et al. Methods used to assess remission and low disease activity in rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev*. 2010;9:161-4.
  67. van der Leeden M, Steultjens MP, van Schaardenburg D, Dekker J. Forefoot disease activity in rheumatoid arthritis patients in remission: results of a cohort study. *Arthritis Res Ther*. 2010;12:R3.
  68. Mäkinen H, Kautiainen H, Hannonen P, Sokka T. Is DAS28 an appropriate tool to assess remission in rheumatoid arthritis? *Ann Rheum Dis*. 2005;64:1410-3.
  69. Balsa A, de Miguel E, Castillo C, Peiteado D, Martín-Mola E. Superiority of SDAI over DAS-28 in assessment of remission in rheumatoid arthritis patients using power Doppler

- ultrasonography as a gold standard. *Rheumatology*. 2010;49:683-90.
70. Linde L, Sørensen J, Østergaard M, Hørslev-Petersen K, Hetland ML. Does clinical remission lead to normalization of EQ-5D in patients with rheumatoid arthritis and is selection of remission criteria important? *J Rheumatol*. 2010;37:285-90.
  71. Gülfe A, Aletaha D, Saxne T, Geborek P. Disease activity level, remission and response in established rheumatoid arthritis: performance of various criteria sets in an observational cohort, treated with anti-TNF agents. *BMC Musculoskelet Disord*. 2009;10:41.
  72. Sokka T, Hetland ML, Mäkinen H, et al. Remission and rheumatoid arthritis: Data on patients receiving usual care in twenty-four countries. *Arthritis Rheum*. 2008;58:2642-51.
  73. Mäkinen H, Hannonen P, Sokka T. Definitions of remission for rheumatoid arthritis and review of selected clinical cohorts and randomised clinical trials for the rate of remission. *Clin Exp Rheumatol*. 24;6:S-22-8.
  74. Wolfe F, Michaud K, Pincus T. A composite disease activity scale for clinical practice, observational studies, and clinical trials: the patient activity scale (PAS/PAS-II). *J Rheumatol*. 2005;32:2410-5.
  75. Castrejon I, Dougados M, Combe B, Guillemin F, Fautrel B, Pincus T. Can Remission in Rheumatoid Arthritis Be Assessed Without Laboratory Tests or a Formal Joint Count? Possible Remission Criteria Based on a Self-report RAPID3 Score and Careful Joint Examination in the ESPOIR Cohort. *J Rheumatol*. 2013;40:386-93.
  76. Wells GA, Boers M, Shea B, et al. Minimal disease activity for rheumatoid arthritis: a preliminary definition. *J Rheumatol*. 2005;32:2016-24.
  77. Mittendorf T, Dietz B, Sterz R, Cifaldi MA, Kupper H, von der Schulenburg J-M. Personal and economic burden of late-stage rheumatoid arthritis among patients treated with adalimumab: an evaluation from a patient's perspective. *Rheumatology*. 2008;47:188-93.
  78. Hazes JMW, Geuskens GA, Burdorf A. Work limitations in the outcome assessment of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2005;32:980-2.
  79. WHO Scientific Group on the Burden of Musculoskeletal Conditions at the Start of the New Millennium. The burden of musculoskeletal conditions at the start of the new millennium. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 2003;919:i-x.



80. Prevo 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.
81. Hochberg MC, Chang RW, Dwosh I, Lindsey S, Pincus T, Wolfe F. The American College of Rheumatology 1991 revised criteria for the classification of global functional status in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1992;35:498-502.
82. Sharp JT, Lidsky MD, Collins LC, Moreland J. Methods of scoring the progression of radiologic changes in rheumatoid arthritis. Correlation of radiologic, clinical and laboratory abnormalities. *Arthritis Rheum.* 14:706-20.
83. van der Heijde D. How to read radiographs according to the Sharp/van der Heijde method. *J Rheumatol.* 1999;26:743-5.
84. Emery P, Kavanaugh A, Bao Y, Ganguli A, Mulani P. Comprehensive disease control (CDC): what does achieving CDC mean for patients with rheumatoid arthritis? *Ann Rheum Dis.* 2015;74:2165-74.
85. Colebatch AN, Edwards CJ, Østergaard M, et al. EULAR recommendations for the use of imaging of the joints in the clinical management of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2013;72:804-14.
86. Cohen SB, Strand V, Aguilar D, Ofman JJ. Patient- versus physician-reported outcomes in rheumatoid arthritis patients treated with recombinant interleukin-1 receptor antagonist (anakinra) therapy. *Rheumatology.* 2004;43:704-11.
87. Strand V, Cohen S, Crawford B, Smolen JS, Scott DL, Leflunomide Investigators Groups. Patient-reported outcomes better discriminate active treatment from placebo in randomized controlled trials in rheumatoid arthritis. *Rheumatology.* 2004;43:640-7.
88. Brown AK, Conaghan PG, Karim Z, et al. An explanation for the apparent dissociation between clinical remission and continued structural deterioration in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2008;58:2958-67.
89. Zufferey P, Möller B, Brulhart L, et al. Persistence of ultrasound synovitis in patients with rheumatoid arthritis fulfilling the DAS28 and/or the new ACR/EULAR RA remission definitions:

- Results of an observational cohort study. *Jt Bone Spine*. 2014;81:426-32.
90. Geng Y, Han J, Deng X, Zhang Z. Presence of power Doppler synovitis in rheumatoid arthritis patients with synthetic and/or biological disease-modifying anti-rheumatic drug-induced clinical remission: experience from a Chinese cohort. *Clin Rheumatol*. 2014;33:1061-6.
  91. Saleem B, Brown AK, Quinn M, et al. Can flare be predicted in DMARD treated RA patients in remission, and is it important? A cohort study. *Ann Rheum Dis*. 2012;71:1316-21.
  92. Scirè CA, Montecucco C, Codullo V, Epis O, Todoerti M, Caporali R. Ultrasonographic evaluation of joint involvement in early rheumatoid arthritis in clinical remission: power Doppler signal predicts short-term relapse. *Rheumatology*. 2009;48:1092-7.
  93. Iwamoto T, Ikeda K, Hosokawa J, et al. Prediction of relapse after discontinuation of biologic agents by ultrasonographic assessment in patients with rheumatoid arthritis in clinical remission: high predictive values of total gray-scale and power Doppler scores that represent residual synovial inflammation before discontinuation. *Arthritis Care Res*. 2014;66:1576-81.
  94. Foltz V, Gandjbakhch F, Etchepare F, et al. Power Doppler ultrasound, but not low-field magnetic resonance imaging, predicts relapse and radiographic disease progression in rheumatoid arthritis patients with low levels of disease activity. *Arthritis Rheum*. 2012;64:67-76.
  95. Hama M, Uehara T, Takase K, et al. Power Doppler ultrasonography is useful for assessing disease activity and predicting joint destruction in rheumatoid arthritis patients receiving tocilizumab--preliminary data. *Rheumatol Int*. 2012;32:1327-33.
  96. Ikeda K, Nakagomi D, Sanayama Y, et al. Correlation of radiographic progression with the cumulative activity of synovitis estimated by power Doppler ultrasound in rheumatoid arthritis: difference between patients treated with methotrexate and those treated with biological agents. *J Rheumatol*. 2013;40:1967-76.
  97. Tokai N, Ogasawara M, Gorai M, et al. Predictive value of bone destruction and duration of clinical remission for subclinical synovitis in rheumatoid arthritis patients. *Mod Rheumatol*. 2015;25:540-5.
  98. Nguyen H, Ruysse-Witrand A, Gandjbakhch F, Constantin A, Foltz V, Cantagrel A. Prevalence of ultrasound-detected residual synovitis and risk of relapse and structural progression in rheumatoid arthritis patients in clinical remission: a systematic review and meta-

- analysis. *Rheumatology*. 2014;53:2110-8.
99. Bellis E, Scirè CA, Carrara G, et al. Ultrasound-detected tenosynovitis independently associates with patient-reported flare in patients with rheumatoid arthritis in clinical remission: results from the observational study STARTER of the Italian Society for Rheumatology. *Rheumatology*. 2016;55:1826-36.
  100. D'Agostino MA, Terslev L, Wakefield R, et al. Novel algorithms for the pragmatic use of ultrasound in the management of patients with rheumatoid arthritis: from diagnosis to remission. *Ann Rheum Dis*. 2016;75:1902-8.
  101. Caporali R, Smolen JS. Back to the future: forget ultrasound and focus on clinical assessment in rheumatoid arthritis management. *Ann Rheum Dis*. August 2017:annrheumdis-2017-211458.
  102. Saleem B, Keen H, Goeb V, et al. Patients with RA in remission on TNF blockers: when and in whom can TNF blocker therapy be stopped? *Ann Rheum Dis*. 2010;69:1636-42.
  103. Magni-Manzoni S, Scirè CA, Ravelli A, et al. Ultrasound-detected synovial abnormalities are frequent in clinically inactive juvenile idiopathic arthritis, but do not predict a flare of synovitis. *Ann Rheum Dis*. 2013;72:223-8.
  104. Koski JM, Saarakkala S, Helle M, Hakulinen U, Heikkinen JO, Hermunen H. Power Doppler ultrasonography and synovitis: correlating ultrasound imaging with histopathological findings and evaluating the performance of ultrasound equipments. *Ann Rheum Dis*. 2006;65:1590-5.
  105. Padovano I, Costantino F, Breban M, D'Agostino MA. Prevalence of ultrasound synovial inflammatory findings in healthy subjects. *Ann Rheum Dis*. 2016;75:1819-23.
  106. Dale J, Stirling A, Zhang R, et al. Targeting ultrasound remission in early rheumatoid arthritis: the results of the TaSER study, a randomised clinical trial. *Ann Rheum Dis*. 2016;75:1043-50.
  107. Haavardsholm EA, Aga A-B, Olsen IC, et al. Ultrasound in management of rheumatoid arthritis: ARCTIC randomised controlled strategy trial. *BMJ*. 2016;i 4205.
  108. Brown AK, Quinn MA, Karim Z, et al. Presence of significant synovitis in rheumatoid arthritis patients with disease-modifying antirheumatic drug-induced clinical remission: evidence from an imaging study may explain structural progression. *Arthritis Rheum*. 2006;54:3761-73.
  109. McQueen FM. Imaging in early rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2013;27:499-522.

110. Watanabe T, Takase-Minegishi K, Ihata A, et al. (18)F-FDG and (18)F-NaF PET/CT demonstrate coupling of inflammation and accelerated bone turnover in rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol*. 2016;26:180-7.
111. Aletaha D, Funovits J, Breedveld FC, Sharp J, Segurado O, Smolen JS. Rheumatoid arthritis joint progression in sustained remission is determined by disease activity levels preceding the period of radiographic assessment. *Arthritis Rheum*. 2009;60:1242-9.
112. Kirino Y, Hama M, Takase-Minegishi K, et al. Predicting joint destruction in rheumatoid arthritis with power Doppler, anti-citrullinated peptide antibody, and joint swelling. *Mod Rheumatol*. 2015;25:842-8.
113. Rantapää-Dahlqvist S, de Jong BAW, Berglin E, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2003;48:2741-9.
114. Agrawal S, Misra R, Aggarwal A. Autoantibodies in rheumatoid arthritis: association with severity of disease in established RA. *Clin Rheumatol*. 2007;26:201-4.
115. Burgers LE, van Steenberg HW, Ten Brinck RM, Huizinga TW, van der Helm-van Mil AH. Differences in the symptomatic phase preceding ACPA-positive and ACPA-negative RA: a longitudinal study in arthralgia during progression to clinical arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2017;76:1751-4.
116. Katchamart W, Koolvisoot A, Aromdee E, Chiowchanwesawakit P, Muengchan C. Associations of rheumatoid factor and anti-citrullinated peptide antibody with disease progression and treatment outcomes in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*. 2015;35:1693-9.
117. Mustila A, Korpela M, Haapala A-M, et al. Anti-citrullinated peptide antibodies and the progression of radiographic joint erosions in patients with early rheumatoid arthritis treated with FIN-RACo combination and single disease-modifying antirheumatic drug strategies. *Clin Exp Rheumatol*. 29:500-5.
118. Schett G, Gravallese E. Bone erosion in rheumatoid arthritis: mechanisms, diagnosis and treatment. *Nat Rev Rheumatol*. 2012;8:656-64.
119. van Schaardenburg D, Nielen MMJ, Lems WF, et al. Bone metabolism is altered in preclinical rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2011;70:1173-4.

120. Müller-Ladner U, Pap T, Gay RE, Neidhart M, Gay S. Mechanisms of disease: the molecular and cellular basis of joint destruction in rheumatoid arthritis. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2005;1:102-10.
121. Klaasen R, Thurlings RM, Wijbrandts CA, et al. The relationship between synovial lymphocyte aggregates and the clinical response to infliximab in rheumatoid arthritis: a prospective study. *Arthritis Rheum*. 2009;60:3217-24.
122. Manzo A, Paoletti S, Carulli M, et al. Systematic microanatomical analysis of CXCL13 and CCL21 in situ production and progressive lymphoid organization in rheumatoid synovitis. *Eur J Immunol*. 2005;35:1347-59.
123. Takemura S, Braun A, Crowson C, et al. Lymphoid neogenesis in rheumatoid synovitis. *J Immunol*. 2001;167:1072-80.
124. Bugatti S, Manzo A, Vitolo B, et al. High expression levels of the B cell chemoattractant CXCL13 in rheumatoid synovium are a marker of severe disease. *Rheumatology*. 2014;53:1886-95.
125. Bugatti S, Manzo A, Benaglio F, et al. Serum levels of CXCL13 are associated with ultrasonographic synovitis and predict power Doppler persistence in early rheumatoid arthritis treated with non-biological disease-modifying anti-rheumatic drugs. *Arthritis Res Ther*. 2012;14:R34.
126. Deighton C, O'Mahony R, Tosh J, Turner C, Rudolf M. Management of rheumatoid arthritis: summary of NICE guidance. *BMJ*. 2009;338:b702.
127. O'Mahony R, Richards A, Deighton C, Scott D. Withdrawal of disease-modifying antirheumatic drugs in patients with rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis*. 2010;69:1823-6.
128. De Silva M, Hazleman BL. Long-term azathioprine in rheumatoid arthritis: a double-blind study. *Ann Rheum Dis*. 1981;40:560-3.
129. Gøtzsche PC, Hansen M, Stoltenberg M, et al. Randomized, placebo controlled trial of withdrawal of slow-acting antirheumatic drugs and of observer bias in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*. 1996;25:194-9.
130. Kremer JM, Rynes RI, Bartholomew LE. Severe flare of rheumatoid arthritis after

- discontinuation of long-term methotrexate therapy. Double-blind study. *Am J Med.* 1987;82:781-6.
131. ten Wolde S, Breedveld FC, Hermans J, et al. Randomised placebo-controlled study of stopping second-line drugs in rheumatoid arthritis. *Lancet.* 1996;347:347-52.
  132. Van der Leeden H, Dijkmans BA, Hermans J, Cats A. A double-blind study on the effect of discontinuation of gold therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 1986;5:56-61.
  133. Scott IC, Kingsley GH, Scott DL. Can we discontinue synthetic disease-modifying anti-rheumatic drugs in rheumatoid arthritis? *Clin Exp Rheumatol.* 31;4:S4-8.
  134. ten Wolde S, Hermans J, Breedveld FC, Dijkmans BA. Effect of resumption of second line drugs in patients with rheumatoid arthritis that flared up after treatment discontinuation. *Ann Rheum Dis.* 1997;56:235-39.
  135. Paulus HE, Egger MJ, Ward JR, Williams HJ. Analysis of improvement in individual rheumatoid arthritis patients treated with disease-modifying antirheumatic drugs, based on the findings in patients treated with placebo. The Cooperative Systematic Studies of Rheumatic Diseases Group. *Arthritis Rheum.* 1990;33:477-84.
  136. Tiippana-Kinnunen T, Paimela L, Kautiainen H, Laasonen L, Leirisalo-Repo M. Can disease-modifying anti-rheumatic drugs be discontinued in long-standing rheumatoid arthritis? A 15-year follow-up. *Scand J Rheumatol.* 2010;39:12-18.
  137. Landewé RBM, Boers M, Verhoeven AC, et al. COBRA combination therapy in patients with early rheumatoid arthritis: long-term structural benefits of a brief intervention. *Arthritis Rheum.* 2002;46:347-56.
  138. Möttönen T, Hannonen P, Leirisalo-Repo M, et al. Comparison of combination therapy with single-drug therapy in early rheumatoid arthritis: a randomised trial. FIN-RACo trial group. *Lancet.* 1999;353:1568-73.
  139. Clegg DO, Dietz F, Duffy J, et al. Safety and efficacy of hydroxychloroquine as maintenance therapy for rheumatoid arthritis after combination therapy with methotrexate and hydroxychloroquine. *J Rheumatol.* 1997;24:1896-902.
  140. Klarenbeek NB, van der Kooij SM, Güler-Yüksel M, et al. Discontinuing treatment in patients

- with rheumatoid arthritis in sustained clinical remission: exploratory analyses from the BeSt study. *Ann Rheum Dis*. 2011;70:315-19.
141. Goekoop-Ruiterman YPM, Huizinga TWJ. Rheumatoid arthritis: can we achieve true drug-free remission in patients with RA? *Nat Rev Rheumatol*. 2010;6:68-70.
  142. van der Woude D, Young A, Jayakumar K, et al. Prevalence of and predictive factors for sustained disease-modifying antirheumatic drug-free remission in rheumatoid arthritis: results from two large early arthritis cohorts. *Arthritis Rheum*. 2009;60:2262-71.
  143. van der Maas A, Lie E, Christensen R, et al. Construct and criterion validity of several proposed DAS28-based rheumatoid arthritis flare criteria: an OMERACT cohort validation study. *Ann Rheum Dis*. 2013;72:1800-5.
  144. Bartlett SJ, Barbic SP, Bykerk VP, et al. Content and Construct Validity, Reliability, and Responsiveness of the Rheumatoid Arthritis Flare Questionnaire: OMERACT 2016 Workshop Report. *J Rheumatol*. 2017;44:1536-43.
  145. Fautrel B, Morel J, Berthelot J-M, et al. Validation of FLARE-RA, a Self-Administered Tool to Detect Recent or Current Rheumatoid Arthritis Flare. *Arthritis Rheumatol*. 2017;69:309-319.
  146. Fries JF, Spitz PW, Young DY. The dimensions of health outcomes: the health assessment questionnaire, disability and pain scales. *J Rheumatol*. 9:789-93.
  147. Backhaus M, Burmester GR, Gerber T, et al. Guidelines for musculoskeletal ultrasound in rheumatology. *Ann Rheum Dis*. 2001;60:641-9.
  148. Wakefield RJ, Balint P V, Szkudlarek M, et al. Musculoskeletal ultrasound including definitions for ultrasonographic pathology. *J Rheumatol*. 2005;32:2485-7.
  149. Naredo E, Collado P, Cruz A, et al. Longitudinal power Doppler ultrasonographic assessment of joint inflammatory activity in early rheumatoid arthritis: predictive value in disease activity and radiologic progression. *Arthritis Rheum*. 2007;57:116-24.
  150. Meenagh G, Filippucci E, Delle Sedie A, et al. Ultrasound imaging for the rheumatologist. XVIII. Ultrasound measurements. *Clin Exp Rheumatol*. 26:982-5.
  151. Iagnocco A, Epis O, Delle Sedie A, et al. Ultrasound imaging for the rheumatologist. XVII. Role of colour Doppler and power Doppler. *Clin Exp Rheumatol*. 26:759-62.
  152. Naredo E, D'Agostino MA, Wakefield RJ, et al. Reliability of a consensus-based ultrasound

- score for tenosynovitis in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2013;72:1328-34.
153. van Der Heijde D, Boonen A, Boers M, Kostense P, van Der Linden S. Reading radiographs in chronological order, in pairs or as single films has important implications for the discriminative power of rheumatoid arthritis clinical trials. *Rheumatology.* 1999;38:1213-20.
154. Bruynesteyn K, Boers M, Kostense P, van der Linden S, van der Heijde D. Deciding on progression of joint damage in paired films of individual patients: smallest detectable difference or change. *Ann Rheum Dis.* 2005;64:179-82.
155. Navarro-Compán V, van der Heijde D, Ahmad HA, Miller CG, Wolterbeek R, Landewé R. Measurement error in the assessment of radiographic progression in rheumatoid arthritis (RA) clinical trials: the smallest detectable change (SDC) revisited. *Ann Rheum Dis.* 2014;73:1067-70.
156. Wells GA, Tugwell P, Kraag GR, Baker PR, Groh J, Redelmeier DA. Minimum important difference between patients with rheumatoid arthritis: the patient's perspective. *J Rheumatol.* 1993;20:557-60.
157. Bugatti S, Bogliolo L, Vitolo B, Manzo A, Montecucco C, Caporali R. Anti-citrullinated protein antibodies and high levels of rheumatoid factor are associated with systemic bone loss in patients with early untreated rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2016;18:226.
158. Goekoop-Ruiterman YPM, de Vries-Bouwstra JK, Allaart CF, et al. Clinical and radiographic outcomes of four different treatment strategies in patients with early rheumatoid arthritis (the BeSt study): A randomized, controlled trial. *Arthritis Rheum.* 2008;58:S126-S135.
159. Shamma RM, Ranganath VK, Paulus HE. Remission in Rheumatoid Arthritis. 2010:355-62.
160. Mankia K, Emery P. A new window of opportunity in rheumatoid arthritis: targeting at-risk individuals. *Curr Opin Rheumatol.* 2016;28:260-6.