

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA

**CORSO DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE PEDIATRICHE
(XXXIII CICLO) - CURRICULUM REUMATOLOGIA PEDIATRICA**



**VALORE PREDITTIVO DELL'ECOGRAFIA
MUSCOLOSCHIELETRICA NEI PAZIENTI AFFETTI
DA ARTRITE IDIOPATICA GIOVANILE
IN REMISSIONE CLINICA**

Tutor: Chiar.ma Prof.ssa CLARA MALATTIA

Candidato: MARTA MAZZONI

SOMMARIO

<i>1</i>	<i>INTRODUZIONE</i>	<i>3</i>
<i>2</i>	<i>SCOPO DELLO STUDIO</i>	<i>14</i>
<i>3</i>	<i>PAZIENTI E METODI</i>	<i>15</i>
3.1	Disegno dello studio.....	15
3.2	Valutazione clinica.....	16
3.3	Determinazione dei livelli ematici dei biomarkers di infiammazione.....	18
3.4	Valutazione mediante ecografia muscoloscheletrica.....	19
3.5	Analisi statistica dei dati	24
<i>4</i>	<i>RISULTATI</i>	<i>26</i>
4.1	Caratteristiche demografiche e della valutazione clinica	26
4.2	Risultati della valutazione mediante ecografia muscoloscheletrica	28
4.3	Risultati della determinazione ematica di biomarkers dell'infiammazione	31
4.4	Risultati del follow-up clinico ed ecografico	33
4.5	Relazione tra variabili demografico-cliniche e la ricaduta di malattia.....	36
4.6	Relazione tra sinovite –tenosinovite subclinica e la ricaduta di malattia.....	42
4.7	Relazione tra biomarkers sierici dell'infiammazione e la ricaduta di malattia	45
4.8	Analisi multivariata	47
<i>5</i>	<i>DISCUSSIONE</i>	<i>49</i>
<i>6</i>	<i>BIBLIOGRAFIA</i>	<i>56</i>

1 INTRODUZIONE

L'artrite idiopatica giovanile (AIG) rappresenta la più comune malattia reumatica cronica dell'infanzia ed una delle cause maggiori di disabilità acquisita a breve e a lungo termine. Studi epidemiologici hanno evidenziato un'incidenza dell'AIG nei Paesi Occidentali variabile tra 7 e 21 nuovi casi su 100000 bambini all'anno ed una prevalenza variabile tra 16 e 150 casi per 100000 bambini [1].

L'AIG non identifica una singola entità clinica, bensì una diagnosi di esclusione che si applica a tutte le artriti che insorgano prima dei 16 anni, persistano per più di 6 settimane e siano di eziologia sconosciuta. La definizione di AIG comprende, pertanto, un gruppo eterogeneo di artriti croniche che verosimilmente rappresentano entità patologiche differenti e che si distinguono per la modalità di presentazione clinica, per la prognosi e talora per il diverso background genetico. L'attuale classificazione proposta dall'International League of Associations for Rheumatology (ILAR) identifica, sulla base delle caratteristiche cliniche riscontrate nei primi 6 mesi di malattia, sette categorie principali di AIG, come riportato in *Tabella 1* [2].

Tabella 1. Frequenza, età d'esordio e distribuzione per sesso delle diverse categorie di AIG secondo la classificazione proposta dall'International League of Associations for Rheumatology (ILAR).

Sottotipo di AIG	Frequenza	Età d'esordio	Sesso
AIG sistemica	4-17%	Tutta l'età pediatrica	F=M
AIG oligoarticolare	27-56%	Picco 2-4 anni	F>>>M
AIG poliarticolare FR+	2-7%	Tarda infanzia o adolescenza	F>>M
AIG poliarticolare FR-	11-28%	Due picchi: 2-4 anni; 6-12 anni	F>>M
Artrite-entesite correlata	3-11%	Età scolare o adolescenza	M>>F
Artrite psoriasica	2-11%	Due picchi: 2-4 anni; 9-11 anni	F>M
Artrite indifferenziata	11-21%

AIG: artrite idiopatica giovanile; **FR:** fattore reumatoide

- AIG sistemica: è definita dalla presenza, oltre all'interessamento articolare, di febbre quotidiana, intermittente e persistente, della durata di almeno 2 settimane e dalla presenza di una o più delle seguenti manifestazioni sistemiche: tipico rash cutaneo evanescente, epatosplenomegalia, linfadenopatia generalizzata e sierosite. L'artrite è solitamente simmetrica e poliarticolare; in alcuni di questi pazienti essa è modesta e recede col miglioramento della sintomatologia sistemica, mentre in altri l'interessamento articolare domina il quadro clinico, con possibilità di sequele articolari importanti, mentre la sintomatologia sistemica tende progressivamente ad attenuarsi

fino a scomparire. Si può riscontrare inoltre, accanto all'aumento significativo degli indici di flogosi, un quadro di trombocitosi, leucocitosi con neutrofilia e anemia microcitica. Nel 5-8% dei casi la AIG sistemica si può complicare con la comparsa di una sindrome da attivazione macrofagica (MAS), caratterizzata da pancitopenia, febbre elevata e continua, insufficienza epatica, coagulopatia con manifestazioni emorragiche, sintomi neurologici e un costante aumento dei livelli di ferritina.

- *AIG oligoarticolare*: è definita dall'interessamento di 4 o meno articolazioni nei primi 6 mesi di malattia. La maggior parte dei pazienti che appartengono a questa categoria presentano un'artrite asimmetrica che colpisce prevalentemente le grandi articolazioni, un'insorgenza precoce (entro i 6 anni di vita), una marcata predilezione per il sesso femminile, la presenza in circolo di anticorpi antinucleo (ANA) e, in circa un terzo dei casi, la comparsa di iridociclite cronica. La classificazione ILAR distingue due categorie di oligoartrite a seconda che, dopo i primi 6 mesi di malattia, l'artrite rimanga confinata a 4 o meno articolazioni (oligoartrite persistente) o si estenda a 5 o più articolazioni (oligoartrite estesa). La prognosi è generalmente buona: nelle forme con oligoartrite persistente la malattia spesso con il tempo si spegne senza lasciare, se correttamente trattata, reliquati articolari importanti; nelle forme con oligoartrite estesa vi è un maggior rischio di esiti a distanza.
- *AIG poliarticolare fattore reumatoide positiva (FR+)*: rappresenta l'equivalente in età pediatrica dell'artrite reumatoide FR-positiva dell'adulto, a cui è sovrapponibile sia sotto il profilo clinico che di laboratorio. È caratterizzata dall'interessamento simmetrico di 5 o più articolazioni nel corso dei primi 6 mesi di malattia e dalla presenza di titoli costanti ed elevati di fattore reumatoide (FR) che risultano positivi in almeno due misurazioni distanziate di 3 mesi. Predilige le piccole articolazioni delle mani e dei

pieci; si osserva soprattutto nelle adolescenti, ed è rara l'insorgenza prima degli 8 anni. La prognosi articolare è severa, con elevato potenziale erosivo.

- AIG poliarticolare fattore reumatoide negativa (FR-): è caratterizzata dall'interessamento di 5 o più articolazioni nel corso dei primi 6 mesi di malattia, in pazienti in cui il FR risulta negativo. La poliartrite FR- è probabilmente la più eterogenea di tutte le forme di AIG, infatti nel suo ambito si possono riconoscere due principali quadri clinici: il primo è rappresentato da una malattia identica all'artrite oligoarticolare nella sua variante estesa, con la sola differenza di una più rapida estensione dell'interessamento articolare nei primi 6 mesi di malattia; il secondo è caratterizzato da un'artrite simmetrica che interessa sia le grandi che le piccole articolazioni, che insorge in genere in età scolare ed è ANA negativa.
- Artrite associata ad entesite: colpisce prevalentemente i maschi dopo gli 8 anni di età ed è caratterizzata dall'associazione di artrite ed entesite. La maggioranza dei pazienti è HLA-B27 positiva; l'artrite è generalmente pauciarticolare, asimmetrica e prevalentemente localizzata agli arti inferiori, talora accompagnata da uveite. Mentre nelle altre forme di AIG è molto raro l'interessamento dell'anca nelle fasi di esordio della malattia, l'artrite associata ad entesite esordisce sovente con ricorrenti episodi di coxite e rappresenta il quadro pediatrico della spondiloartropatia dell'adulto.
- Artrite psoriasica: è caratterizzata dall'associazione di artrite con manifestazioni cutanee psoriasiche. In assenza di psoriasi la diagnosi può essere posta in presenza di un'artrite associata a due delle seguenti caratteristiche: storia familiare di psoriasi in uno dei parenti di primo grado, presenza di dattilite, presenza di *nail pitting* (segno dell'onico-displasia psoriasica).
- Artrite indifferenziata: include tutte le forme di artrite che non siano classificabili in alcuna categoria o soddisfino i criteri di più di una categoria.

Nonostante la sempre migliore comprensione dei meccanismi che regolano la risposta immunitaria, l'eziologia dell'AIG rimane ancora oggi sostanzialmente ignota. Si ritiene che l'artrite cronica sia secondaria ad una abnorme reazione immunitaria che riconosce un'origine multifattoriale [3]. Le anomalie funzionali dei linfociti T e l'aspetto istologico della sinovite suggeriscono il possibile ruolo patogenetico dell'immunità cellulo-mediata; d'altro canto, in alcune forme, la presenza in circolo di auto-anticorpi non organo-specifici, quali anticorpi antinucleo o fattore reumatoide, suggerisce il possibile ruolo anche di un'alterazione dell'immunità umorale.

Nonostante l'eterogeneità della patologia, è possibile ritrovare un comune meccanismo eziopatogenetico, rappresentato da un processo infiammatorio cronico a carico della membrana sinoviale, la quale, normalmente costituita da un sottile strato di cellule, va incontro ad una importante ipertrofia sino a trasformarsi in una struttura villosa (panno sinoviale) che protrude nello spazio articolare con conseguente comparsa di tumefazione, dolore e limitazione funzionale. Il tessuto sottostante è sede di neovascolarizzazione e di una massiccia infiltrazione da parte di cellule infiammatorie con conseguente importante produzione di molecole pro-infiammatorie come *tumor necrosis factor* (TNF), interleuchina-1 (IL-1) e interleuchina-6 (IL-6). Queste citochine aumentano a loro volta il reclutamento delle cellule infiammatorie nell'articolazione e inducono i fibroblasti della sinovia, i condrociti e gli osteoclasti a secernere una varietà di molecole (tra cui le proteasi) che, con il tempo e nei casi più gravi, causano l'erosione della cartilagine articolare e dell'osso subcondrale. Il danno che ne deriva, inizialmente funzionale e potenzialmente reversibile, può tuttavia divenire permanente ed essere responsabile di diversi gradi di disabilità funzionale a lungo termine [4-6].

La terapia dell'AIG è molto cambiata negli ultimi 20 anni grazie all'introduzione di nuovi farmaci in grado di esercitare una inibizione selettiva nei confronti delle principali citochine pro-infiammatorie implicate nella patogenesi dell'AIG. Anche se non conosciamo ancora l'eziologia delle singole forme di AIG e non disponiamo quindi di terapie causali, possediamo però potenti farmaci in grado di contrastare, più efficacemente che in passato, l'infiammazione che la malattia produce, alleviare la sintomatologia, ridurre significativamente o prevenire la comparsa di un danno strutturale a lungo termine (disease-modifying therapies).

Il principale target del trattamento dei pazienti affetti da AIG è quello di indurre la remissione di malattia [7-10], che è divenuta oggi un obiettivo perseguibile grazie ai recenti progressi terapeutici. I dati oggi disponibili in letteratura mostrano che un 26-40% dei pazienti, grazie ai nuovi potenti farmaci, riescono a raggiungere uno stato di remissione di malattia [8, 11]. La definizione di remissione clinica si fonda tutt'oggi sui criteri proposti da Wallace [8-9, 11], che prendono in considerazione delle variabili cliniche e di laboratorio. Tali variabili, pur rappresentando un importante surrogato nella definizione dell'attività di malattia, hanno tuttavia il limite di non quantificare l'entità dell'infiammazione direttamente a livello articolare. Considerato che il rischio di ricaduta di malattia, dopo il raggiungimento di uno stato di remissione e la sospensione della terapia di fondo, è alto, risulta altamente auspicabile poter disporre di strumenti capaci di predire la riattivazione della flogosi articolare. Non esistono, ad oggi, all'esordio della malattia, criteri clinici uniformemente validati che permettano di identificare i casi di AIG con andamento più severo, meritevoli di un trattamento più aggressivo *ab initio*. Ciò ha portato ad una crescente richiesta di nuove tecniche di imaging che siano in grado da un lato di visualizzare direttamente il processo infiammatorio a livello della membrana sinoviale e di monitorare in maniera più accurata la sua evoluzione in risposta all'intervento terapeutico; dall'altro di distinguere precocemente i soggetti che svilupperanno una malattia caratterizzata da un maggior potenziale erosivo da

quelli che presenteranno un decorso spontaneamente favorevole. Questa distinzione permetterà di impostare un trattamento sempre più personalizzato, al fine di evitare di esporre soggetti non a rischio a terapie aggressive, costose e non scevre da effetti collaterali.

La radiografia convenzionale (RC), che attualmente viene considerata la tecnica di imaging di riferimento per la valutazione della progressione della malattia nei pazienti con AIG, di fatto non permette di visualizzare il processo infiammatorio a carico dei tessuti molli sia articolari che periarticolari, ed è pertanto poco informativa nelle fasi precoci di malattia. Inoltre, le lesioni radiologiche a carico della cartilagine, valutabili indirettamente attraverso una stima della riduzione degli spazi articolari e dell'assottigliamento dell'osso subcondrale, sono evidenziate dalla radiografia solo dopo uno o due anni di evoluzione, quando spesso sono già divenute irreversibili [12-14].

L'ecografia muscoloscheletrica e la Risonanza Magnetica (RM) permettono invece di visualizzare direttamente la membrana sinoviale e il versamento articolare, garantendo quindi un monitoraggio accurato del processo infiammatorio e della progressione del danno strutturale.

I recenti progressi e il continuo sviluppo tecnologico delle apparecchiature ecografiche e l'attuale disponibilità di sonde con frequenza sempre più elevata hanno reso possibile lo studio in dettaglio dell'apparato muscoloscheletrico e l'esplorazione più accurata delle caratteristiche morfo-strutturali dei tessuti perischeletrici. La ripetibilità dell'indagine ecografica, i costi trascurabili, la non invasività, l'assenza di radiazioni ionizzanti, l'elevata risoluzione spaziale, l'ampia diffusione, la possibilità di valutare multiple articolazioni nella stessa seduta e l'ottima accettabilità da parte del paziente senza necessità di sedazione, ne fanno la metodica ideale per la diagnosi, il monitoraggio dell'evoluzione della malattia e la valutazione dell'efficacia della terapia nei pazienti con artrite infiammatoria cronica.

Le principali lesioni evidenziabili con l'ecografia muscoloscheletrica mediante metodica *B-mode (scala di grigi)* nei pazienti affetti da AIG sono: il versamento articolare, l'ispessimento della membrana sinoviale, le alterazioni erosive a carico della cartilagine articolare e dell'osso subcondrale, e il coinvolgimento tendineo. L'impiego della tecnica *Doppler mode (power e/o color Doppler)*, valutando la vascolarizzazione della membrana sinoviale, permette inoltre una più accurata valutazione dell'entità del processo infiammatorio. Pur essendo noti i vantaggi dell'impiego dell'ecografia muscoloscheletrica nello studio di pazienti affetti da artrite cronica di natura infiammatoria, tale metodica riconosce tutt'oggi, come principali limiti, il fatto di essere un esame operatore-dipendente, di essere influenzata dalla sensibilità e dalle proprietà dell'ecografo utilizzato e di non essere la tecnica ideale per valutare distretti articolari come lo scheletro assiale [15]. Al fine di rendere omogenea e più obbiettiva l'interpretazione e la riproducibilità dei principali rilievi ecografici, un gruppo internazionale dedicato alla ricerca nell'ambito dell'ecografia applicata alla valutazione dei pazienti con AR (Outcome Measures in Rheumatoid Arthritis Clinical Trials - OMERACT - Special Interest Group on US) ha proposto e validato le definizioni dei principali rilievi patologici riscontrabili nella AR [16]. Tuttavia, le peculiarità anatomiche dello scheletro in crescita (in primis l'incompleta ossificazione, la variazione di spessore delle cartilagini con l'età, la presenza della cartilagine epifisaria e la vascolarizzazione della stessa, etc.) rendono la valutazione ecografica dei pazienti con AIG differente rispetto a quella dell'adulto e più ardua, anche in considerazione della difficoltà di discriminare tra alterazioni fisiologiche riconducibili al processo di crescita e rilievi patologici correlati alla malattia. Sulla base di questi presupposti è scaturita pertanto la necessità di stabilire e validare delle definizioni di quelle che sono le peculiari caratteristiche ecografiche delle articolazioni in crescita dei bambini sani [17]. Oltretutto la mancanza di un approccio standardizzato per l'acquisizione delle immagini in età pediatrica, nonché delle definizioni dei principali rilievi patologici

riscontrabili nell'AIG, ha portato al recente sviluppo di un metodo sistematico di esecuzione dell'ecografia muscoloscheletrica nelle diverse fasce dell'età pediatrica [18] e alla validazione della definizione ecografica di sinovite in nei bambini affetti da artrite infiammatoria cronica [19].

Studi condotti su pazienti adulti affetti da Artrite Reumatoide (AR) giudicati clinicamente in remissione e in terapia con disease-modifying antirheumatic drugs, hanno dimostrato che circa il 60-80% di questi pazienti presentava una condizione di persistente flogosi articolare, nota come sinovite subclinica, evidenziabile solo mediante tecniche di imaging, responsabile sia di una riaccensione della patologia che di una progressione del danno strutturale [20].

È stato stimato che circa un terzo dei pazienti con AR in remissione clinica presenta infatti una progressione radiologica del danno articolare, verosimilmente correlata alla presenza di sinovite subclinica, rafforzando così l'importanza di utilizzare l'imaging per una valutazione più sensibile e accurata dello stato di remissione [21].

Questi risultati non possono essere direttamente estrapolati e applicati ai pazienti affetti da AIG. Anche se l'impiego dell'ecografia articolare per lo studio dell'AIG è più recente rispetto all'esperienza acquisita nell'adulto con AR, studi recentemente pubblicati hanno dimostrato che anche nel paziente pediatrico l'ecografia muscoloscheletrica giochi un ruolo importante ad integrazione della valutazione clinica, cogliendo un possibile quadro di infiammazione sinoviale nelle articolazioni giudicate clinicamente non affette [22-23]. La possibilità di individuare un processo infiammatorio subclinico potrebbe inoltre svolgere un ruolo cruciale nell'ambito di una più accurata definizione dello stato di remissione della malattia. In un recente studio condotto su 28 pazienti con AIG in remissione clinica, più del 50% dei pazienti presentavano segni ecografici di persistenza del processo infiammatorio a carico della membrana sinoviale [24]. Mentre nell'adulto la sinovite subclinica si associa ad un aumentato

rischio di ricaduta di malattia e alla progressione del danno, nel bambino il significato prognostico di tale reperto rimane ancora da chiarire.

Lo studio condotto da Magni-Manzoni *et al.* [25] ha evidenziato la presenza di sinovite subclinica nel 70% di pazienti con AIG in remissione da almeno 3 mesi. Nel corso del follow-up, 24 dei 39 (61,5%) pazienti hanno mantenuto l'inattività di malattia, 15/39 (38,5%) sono invece ricaduti dopo un periodo medio di 10,6 mesi. Confrontando nei due gruppi di pazienti, ricaduti e non, la frequenza di anomalie ecografiche in termini di ipertrofia sinoviale e versamento articolare al momento dell'arruolamento, questa è risultata analoga; la frequenza di positività al Power Doppler (PD) è addirittura risultata maggiore nei pazienti che si sono mantenuti in remissione.

Tali risultati sono stati confermati da un altro studio in cui 18 dei 40 (45%) pazienti arruolati presentavano sinovite subclinica alla visita basale nonostante uno stato di inattività di malattia; ma tale reperto ecografico di infiammazione subclinica non è risultato essere un predittore di ricaduta di malattia nel corso del follow-up [26].

Risultati contrastanti sono invece emersi da altri due studi [27-28]. Nel primo di questi studi sono stati osservati per un periodo di oltre trenta mesi 35 pazienti in remissione clinica, di cui un 68% presentava sinovite subclinica. Il 57% dei pazienti ha presentato una ricaduta di malattia nel corso del follow-up. Il rischio di ricaduta è risultato essere 5 volte superiore nei pazienti con sinovite subclinica accompagnata da positività al PD e 14 volte superiore nei soggetti ancora in terapia di fondo; si è notato inoltre come le articolazioni interessate da lesioni visibili all'ecografia, indipendentemente dalla positività al PD, fossero maggiormente esposte a danno erosivo nel corso del follow-up.

Nel secondo studio [28], De Lucia *et al.* hanno incluso 88 pazienti con AIG clinicamente inattiva da almeno tre mesi; al momento del reclutamento 20/88 (23%) mostravano sinovite

subclinica all'ecografia. Nel corso del follow-up la riaccensione della malattia è stata registrata nel 46,6% dei pazienti. Dall'analisi è emersa una differenza significativa in termini di ricaduta di malattia tra il gruppo di pazienti con ecografia negativa al basale e il gruppo di pazienti con evidenza di sinovite subclinica, dimostrando quindi il ruolo dell'ecografia nel predire il rischio di ricaduta nel paziente affetto da AIG in remissione clinica.

Dalla letteratura emergono quindi considerazioni non univoche circa il ruolo dell'ecografia muscoloscheletrica nel predire il rischio di ricaduta di malattia e/o di progressione del danno articolare nei pazienti con AIG in remissione clinica.

È inoltre noto come i biomarkers sierici appartenenti alla famiglia delle proteine S100 [myeloid-related protein - MRP 8 (S100A8) e MRP 14 (S100A9), e S100A12], siano espressione di attività di malattia subclinica nei pazienti affetti da AIG in remissione e possano costituire dei potenziali predittori di ricaduta di malattia dopo sospensione del trattamento di fondo [29-31]. Ad oggi tuttavia una estesa validazione dell'impiego di questi biomarkers non è ancora stata effettuata.

L'integrazione della valutazione clinica con l'ecografia muscoloscheletrica ed i biomarkers sierici potrebbe garantire una più accurata determinazione dello stato di remissione del paziente affetto da AIG, permettendo di discriminare quei pazienti che possano beneficiare della sospensione del trattamento farmacologico senza incorrere nel rischio di una ricaduta di malattia.

2 SCOPO DELLO STUDIO

Il presente studio si propone di chiarire il valore dell'ecografia muscoloscheletrica nel management dei pazienti affetti da AIG in remissione clinica e di studiare il suo potere prognostico nel predire una ricaduta di malattia.

Pertanto gli obiettivi del presente studio sono:

- calcolare la prevalenza di sinovite e tenosinovite subclinica evidenziata mediante ecografia muscoloscheletrica in una coorte di pazienti affetti da AIG in remissione clinica;
- esplorare l'associazione tra sinovite e tenosinovite subclinica e il rischio di ricaduta di malattia;
- valutare la persistenza di sinovite subclinica rivalutando i pazienti nel corso del follow-up mediante ecografia muscoloscheletrica e indagare il ruolo della terapia di fondo sull'eventuale persistenza o meno nel tempo della sinovite subclinica;
- valutare il valore prognostico di biomarkers sierici (proteine S100A 8/9, S100A12, citochine e chemochine di infiammazione e neoangiogenesi) nella predizione del rischio di ricaduta di malattia nel paziente affetto da AIG in remissione clinica;
- qualora venisse confermato il valore prognostico dei biomarkers sierici di infiammazione, si procederà all'identificazione di un valore cut-off associato a un aumentato rischio di riaccensione di malattia.

3 PAZIENTI E METODI

3.1 Disegno dello studio

Il presente studio è di tipo longitudinale, prospettico, osservazionale ed è stato condotto presso la Clinica Pediatrica e Reumatologia dell'IRCCS Istituto G. Gaslini di Genova.

Da novembre 2017 sono stati inclusi, e seguiti in follow-up fino a novembre 2020, 135 pazienti, che rispondevano ai seguenti criteri di inclusione:

- diagnosi di AIG definita in base ai criteri di classificazione stabiliti, nella revisione del 2001, dall'International League of Association for Rheumatology [2];
- stato di remissione clinica secondo i criteri di Wallace [8-9, 11];
- consenso scritto da parte dei genitori (o del tutore legale) nonché del paziente stesso, qualora in grado di esprimerlo in rapporto all'età.

Non sono stati inclusi i pazienti che presentavano uno o più dei seguenti criteri di esclusione:

- assente stato di remissione clinica identificato secondo i criteri di Wallace [8-9, 11];
- rifiuto alla partecipazione allo studio.

I pazienti inclusi nello studio sono stati sottoposti, nel corso della visita basale, ad una valutazione reumatologica completa comprendente esame clinico generale e conta delle articolazioni colpite dal processo infiammatorio, esami ematochimici, questionari riguardanti lo stato di capacità funzionale e la qualità di vita globale del paziente. Nel corso della stessa giornata i pazienti sono stati sottoposti all'esecuzione di ecografia muscoloscheletrica estesa a 56 articolazioni. I pazienti sono stati valutati clinicamente ed ecograficamente ogni 6 mesi circa, per una durata mediana di follow-up di 1,4 anni. Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico dell'Istituto G. Gaslini e i genitori dei pazienti e i pazienti stessi (qualora in

grado di esprimere il proprio volere in rapporto all'età) hanno firmato il consenso informato al momento dell'inclusione nel presente studio.

3.2 Valutazione clinica

I pazienti inclusi nello studio sono stati sottoposti ad una valutazione clinica completa attraverso l'impiego di strumenti standardizzati e validati per il rilievo dell'attività di malattia e del danno strutturale.

In particolare, sono stati raccolti i seguenti dati:

- dati demografici di ciascun paziente: sesso, data di nascita, etnia, data di esordio di malattia e data di inizio della remissione clinica, data della valutazione clinica ed ecografica;
- sottotipo ILAR di AIG;
- esito della valutazione oculistica mediante lampada a fessura per la determinazione dell'eventuale presenza di iridociclite cronica anteriore;
- terapie farmacologiche somministrate al paziente negli ultimi 6 mesi;
- la conta del numero di articolazioni attive ovvero articolazioni con tumefazione, dolore al movimento e limitazione funzionale; l'artrite viene infatti definita "attiva" quando è presente tumefazione e/o dolore con limitazione funzionale [32];
- la "VAS physician", ovvero il giudizio globale del medico circa l'attività della malattia misurato su una scala analogico visiva (Visual Analogic Scale, VAS) di 10 cm (0= nessuna attività; 10= massima attività);

- la “global VAS”, ovvero la valutazione globale da parte dei genitori inerente allo stato di benessere generale del figlio misurata utilizzando una VAS di 10 cm (0= molto buona; 10= molto scadente);
- la “VAS pain”, ovvero la valutazione da parte dei genitori dell’entità del dolore avvertito dal figlio, misurata da una VAS di 10 cm (0=nessun dolore; 10=dolore molto intenso);
- il “Childhood Health Assessment Questionnaire” (C-HAQ) [33], un questionario compilato dai genitori o dal paziente stesso, ove appropriato in base alla sua età, consistente in 30 domande, suddivise in 8 domini che indagano le capacità funzionali del paziente nei diversi ambiti della vita quotidiana (vestirsi e riordinarsi, alzarsi, mangiare, camminare, igiene, estensione, presa, attività varie). Il punteggio globale varia da 0 a 3 (0= capace di compiere tutte le attività testate senza alcuna difficoltà; 3= incapace di compiere le attività testate);
- livelli ematici degli indici di infiammazione: velocità di sedimentazione eritrocitaria (VES) determinata mediante metodo Westergren e livello ematico di proteina C-reattiva (PCR) determinata con nefelometria.

La valutazione clinica è stata condotta da due pediatri reumatologi con più di 20 anni di esperienza nella valutazione dei pazienti con AIG ed è stata eseguita prima dello studio per imaging.

Lo stato di malattia inattiva e di remissione clinica sono stati definiti secondo i criteri preliminari di Wallace [8-9, 11].

Sulla base di questi criteri la malattia inattiva è stata definita come:

- assenza di articolazioni con artrite attiva (tumefazione articolare o, in sua assenza, di dolore e limitazione funzionale);

- assenza di febbre, rash, sierosite, splenomegalia o linfadenopatia generalizzata secondaria all'AIG;
- assenza di uveite attiva;
- valori ematici normali di PCR e VES;
- valutazione globale del medico di attività di malattia indicante uno stato di malattia inattiva.

Si distinguono due definizioni di remissione clinica: la remissione clinica in corso di trattamento farmacologico (*clinical remission on medication - CRM*), quando i suddetti criteri di malattia inattiva vengono soddisfatti per almeno 6 mesi continuativi in pazienti che assumono terapia per l'artrite o l'uveite, e remissione clinica in assenza di trattamento farmacologico (*clinical remission off medication - CR*), quando i criteri di malattia inattiva vengono soddisfatti per almeno 12 mesi continuativi in pazienti che non assumono alcun farmaco per l'artrite e l'uveite [8, 11].

3.3 Determinazione dei livelli ematici dei biomarkers di infiammazione

In occasione della visita basale, in quei pazienti per i quali era già previsto un prelievo ematico per controllo routinario degli esami ematochimici, è stato raccolto un campione aggiuntivo di 3 ml di sangue venoso al fine di dosare i livelli sierici dei biomarkers di infiammazione e neoangiogenesi sotto riportati. I campioni ematici raccolti sono stati preservati a -80°C presso il laboratorio di Immunologia e delle Malattie Reumatiche dell'IRCCS Istituto G. Gaslini.

Le citochine, chemochine e proteine S100 che sono state dosate sono le seguenti:

- pannello di 13 citochine e chemochine analizzate mediante tecnica di citofluorimetria (kit bd cytometric bead array - cba) [34-35]: ILR-1 (interleukin-1 receptor), G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor), GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), IL-6 (interleukin-6), IL-10 (interleukin-10), IL-12 (interleukin-12), CXCL9 (CXC chemokine ligand 9), CXCL10 (CXC chemokine ligand 10), MIP-1 α (macrophage inflammatory protein 1 α), TNFR1 (tumor necrosis factor receptor type I), TNFR2 (tumor necrosis factor receptor type II), RANTES (regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted), VEGF (vascular endothelial growth factor);
- proteine secrete da fagociti attivati [MRP 8 (S100A8) e MRP 14 (S100A9)] dosate mediante kit commerciale enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (the PhiCal Calprotectin and Buhlmann);
- proteina S100A12 dosata utilizzando un kit commerciale ELISA (CycLex Co., Nagano, Japan).

3.4 Valutazione mediante ecografia muscoloscheletrica

Al momento dell'inclusione nello studio i pazienti sono stati sottoposti a valutazione ecografica estesa a 56 articolazioni mediante utilizzo di ecografo Esaote Mylab®, equipaggiato con sonde lineari a bassa ed alta frequenza.

Per ogni articolazione esaminata sono state definite le principali lesioni elementari evidenziabili con l'ecografia in corso di artrite, quali il versamento articolare, l'ispessimento della membrana sinoviale e il coinvolgimento tendineo. È stato applicato un protocollo standardizzato e la definizione ecografica di sinovite proposta dall'OMERACT (Outcome Measures in Rheumatoid Arthritis for Clinical Trials) che prevede una valutazione sia mediante B-mode (valutazione in scala di grigi) che mediante l'impiego della tecnica Doppler

mode (color e/o power Doppler) [19]. In ogni articolazione è stato valutato il versamento articolare (range 0-3), l'ipertrofia sinoviale (range 0-3), la vascolarizzazione della sinovia mediante tecnica PD (range 0-3) e il coinvolgimento tendineo (range 0-3). La valutazione mediante ecografia muscoloscheletrica è stata effettuata indipendentemente da due medici con rispettivamente 5 e 10 anni di esperienza in imaging muscoloscheletrico applicato a pazienti pediatrici affetti da artrite infiammatoria cronica.

In particolare, sono stati valutati i seguenti distretti articolari bilateralmente:

- articolazioni I-V metacarpofalangee (MCF);
- articolazioni I-V interfalangee prossimali (IFP) e II-V distali (IFD);
- articolazione radiocarpica;
- articolazione intercarpica;
- articolazione del gomito;
- articolazione coxofemorale;
- articolazione del ginocchio;
- articolazione tibiotarsica o tibiotalare;
- articolazione sottoastragalica o subtalare;
- articolazione talonavicolare;
- articolazione navicolo-I cuneiforme;
- articolazioni I-V metatarsofalangee (MTF).

Per ogni articolazione esaminata sono state definite le principali lesioni elementari evidenziabili con l'ecografia.

Si definisce *sinovite* la presenza di alterazioni articolari evidenziabili mediante ecografia muscoloscheletrica con tecnica B-mode, che includono la presenza di versamento articolare e/o ipertrofia della membrana sinoviale [19].

Per versamento articolare si intende la presenza a livello intra-articolare di anomalo materiale anecoico o ipoecoico, che è spostabile generando una pressione mediante la sonda ecografica.

Per ipertrofia della membrana sinoviale si intende la presenza a livello intra-articolare di anomalo materiale ipoecoico che non risulta spostabile generando una pressione mediante la sonda ecografica.

Per definire l'entità della sinovite mediante tecnica B-mode è stato utilizzato il seguente score:

- **Grado 0:** assenti segni di versamento articolare o ipertrofia della membrana sinoviale (assente distensione della capsula e del recesso articolare);
- **Grado 1:** segni di versamento articolare o ipertrofia della membrana sinoviale che determinano una lieve distensione della capsula e del recesso articolare;
- **Grado 2:** segni di versamento articolare o ipertrofia della membrana sinoviale che determinano una moderata distensione della capsula e del recesso articolare;
- **Grado 3:** segni di versamento articolare o ipertrofia della membrana sinoviale che determinano una severa distensione della capsula e del recesso articolare.

Solo nei pazienti in cui è stata riscontrata in B-mode la presenza di ipertrofia della membrana sinoviale è stata eseguita anche valutazione della *vascolarizzazione della sinovia* in Doppler mode mediante tecnica Power Doppler (PD) [19], la cui entità è stata quantificata come segue:

- **Grado 0:** assenti segni di vascolarizzazione nell'ambito della membrana sinoviale ipertrofica;
- **Grado 1 (lieve):** presenza fino a 3 segnali Doppler nell'ambito della membrana sinoviale ipertrofica;
- **Grado 2 (moderato):** presenza di più di 3 segnali Doppler, ma estesi a meno del 30% del totale della membrana sinoviale ipertrofica;

- **Grado 3 (severo):** presenza di segnali Doppler estesi a più del 30% del totale della membrana sinoviale ipertrofica.

Si definisce *tenosinovite* la presenza di distensione della guaina dei tendini da parte di materiale ipo/anecoico rispetto alle fibre tendinee, evidenziabile mediante ecografia muscoloscheletrica con tecnica B-mode, che può essere imputata alla presenza di versamento o ipertrofia della membrana sinoviale [16].

Per definire l'entità della tenosinovite mediante tecnica B-mode è stato utilizzato il seguente score:

- **Grado 0:** assenti segni di versamento articolare o ipertrofia della membrana sinoviale (assente distensione della guaina del tendine);
- **Grado 1:** segni di versamento articolare o ipertrofia della membrana sinoviale che determinano una lieve distensione della guaina del tendine;
- **Grado 2:** segni di versamento articolare o ipertrofia della membrana sinoviale che determinano una moderata distensione della guaina del tendine;
- **Grado 3:** segni di versamento articolare o ipertrofia della membrana sinoviale che determinano una severa distensione della guaina del tendine.

Solo nei pazienti in cui è stata riscontrata la presenza di tenosinovite in B-mode è stata eseguita anche valutazione della vascolarizzazione del tendine mediante tecnica PD, la cui entità è stata quantificata come segue:

- **Grado 0:** assenti segni di vascolarizzazione;
- **Grado 1 (lieve):** presenza di segnali Doppler in un'unica area nell'ambito della guaina distesa da membrana sinoviale ipertrofica (visualizzata in due piani perpendicolari);

- **Grado 2 (moderato):** presenza di più segnali Doppler estesi a più di un'area nell'ambito della guaina distesa da membrana sinoviale ipertrofica (visualizzata in due piani perpendicolari)
- **Grado 3 (severo):** presenza di diffusi segnali Doppler estesi alla quasi totalità della guaina distesa da membrana sinoviale ipertrofica (visualizzata in due piani perpendicolari).

È stato quindi calcolato uno score ecografico complessivo, sommando i singoli score attribuiti a ciascuna lesione patologica in ogni articolazione.

La sinovite subclinica è stata definita dalla presenza in ciascun distretto articolare di versamento articolare e/o ipertrofia della membrana sinoviale con B-mode score ≥ 1 , in presenza o meno di segni di vascolarizzazione al PD. Al fine di testare la solidità dei nostri risultati è stata utilizzata anche una definizione alternativa di sinovite subclinica data dalla presenza in ciascun distretto articolare di versamento articolare e/o ipertrofia della membrana sinoviale con B-mode score ≥ 2 . La tenosinovite subclinica è stata definita dalla presenza di distensione della guaina tendinea da parte di versamento e/o ipertrofia sinoviale con B-mode score ≥ 1 , in presenza o meno di segni di vascolarizzazione al PD.

I pazienti sono stati seguiti in follow-up ogni 6 mesi circa. In occasione delle visite di follow-up i pazienti sono stati sottoposti nuovamente a valutazione clinica ed ecografica completa, al fine di evidenziare eventuale ricaduta di malattia e/o persistenza di sinovite subclinica evidenziata mediante ecografia muscoloscheletrica.

3.5 Analisi statistica dei dati

È stata effettuata inizialmente una descrizione dei pazienti in studio sia per quanto riguarda le caratteristiche demografiche (sesso, età all'esordio, ecc.) che per quanto riguarda le variabili cliniche (presenza di sinovite subclinica, di tenosinovite, ecc.).

I dati descrittivi quantitativi sono stati riportati in termini di mediane e di 1° e 3° quartile (1° q – 3° q); il test di Shapiro-Wilk è stato utilizzato per verificare la normalità delle distribuzioni.

Per quanto riguarda l'analisi dell'associazione tra variabili demografiche (sesso) e cliniche (presenza di sinovite subclinica, sottotipo di AIG, ecc.) e ricaduta (sì/no) è stato utilizzato il test chi-quadrato oppure il test Esatto di Fisher in caso di frequenze attese < 5.

Per ciò che concerne il confronto della presenza/assenza di sinovite subclinica tra basale e follow-up è stato utilizzato il test di McNemar.

In riferimento al confronto delle variabili quantitative (es.: B-mode score oppure PD score totale, ecc.) nei due gruppi di pazienti (ricaduti vs non ricaduti) è stato utilizzato il test non parametrico U di Mann-Whitney.

Sono state poi costruite curve di sopravvivenza per analizzare il ruolo di alcune variabili (presenza/assenza di sinovite subclinica, categoria di durata della malattia, ecc.) in funzione della ricaduta (sì/no), tenendo in considerazione anche il tempo alla ricaduta. Per confrontare la significatività di queste variabili è stato dunque utilizzato il test "Log-Rank".

Infine, per valutare la relazione tra alcune variabili cliniche e la ricaduta, tenendo anche in considerazione il tempo alla ricaduta, è stata utilizzata un'analisi multivariata ed è quindi stato studiato un modello di Cox con la variabile ricaduta (sì/no) come variabile di outcome e considerando il tempo (mesi) dalla prima ecografia alla ricaduta (nei pazienti che ricadono) e il tempo (mesi) dalla prima ecografia fino all'ultimo follow-up (nei pazienti che non ricadono). Sono state valutate le seguenti variabili predittive: sesso, età al baseline ($\geq 8,3$ anni vs $< 8,3$ anni), durata della remissione ($\geq 1,9$ anni vs $< 1,9$ anni), sinovite subclinica (sì vs no)

valutata mediante B-mode e Doppler mode, tenosinovite subclinica (sì vs no) valutata mediante B-mode o Doppler mode, categoria diagnostica (oligo-articolare persistente vs oligoarticolare estesa vs poliarticolare/sistemica), tipo di terapia al baseline (nessuna vs MTX vs biologico con/senza MTX).

Le variabili predittive scelte per il modello erano quelle di interesse clinico e quelle risultate significative all'analisi bivariata.

Alcune di queste variabili di tipo quantitativo (durata di malattia al baseline, durata della remissione e score totale B-mode+PD), sono state rese dicotomiche, prima del loro inserimento nel modello di Cox, sulla base dell'analisi della loro curva ROC.

Per l'analisi del modello di Cox è stato utilizzato un metodo di tipo "backward" partendo da un modello "saturo" che includeva tutte le variabili di interesse e rimuovendo progressivamente quelle che allo "score test" non risultavano significative. Per quanto riguarda invece la significatività finale delle singole variabili predittive è stato utilizzato il test "Likelihood Ratio" (LR test). Per ogni variabile è stato calcolato e riportato il valore dell'Hazard Ratio (HR) e il suo relativo Intervallo di Confidenza al 95% (IC 95%).

Tutti i test erano a due code ed un valore di $P < 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo. Per la gestione dei dati è stato utilizzato il software Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation) e per le analisi statistiche è stato utilizzato il software "Statistica" (versione 9, StatSoft Corporation, Tulsa, OK, USA) per le analisi bivariate e il software "Stata" (versione 7.0, College Station, TX, USA) per l'analisi multivariata (modello di Cox).

Infine, la concordanza tra i due ecografisti è stata valutata calcolando il coefficiente "K" di Cohen: valori di "K" $< 0,4$ indicano una concordanza insoddisfacente, tra 0,4 e 0,6 una concordanza moderata, tra 0,6 e 0,8 una concordanza sostanziale e $> 0,8$ eccellente.

4 RISULTATI

4.1 Caratteristiche demografiche e della valutazione clinica

Nel presente studio sono stati inclusi 135 pazienti che soddisfacevano i criteri di inclusione stabiliti e che sono stati visitati consecutivamente presso la divisione Clinica Pediatrica e Reumatologia dell'IRCCS Istituto G. Gaslini a partire da novembre 2017. I pazienti sono stati seguiti in follow-up fino a novembre 2020. Di questi pazienti, 29/135 (21,5%) erano maschi e 106/135 (78,5%) erano femmine. L'età mediana dei pazienti alla visita basale era di 11,3 anni (7,5-15,2); la durata mediana di malattia al momento di inclusione dello studio era di 5,7 anni (3,5-10,4); la durata mediana di remissione clinica era di 1,4 anni (0,9-2,4). Cinquantasette/135 (42,2%) pazienti erano affetti da AIG oligoarticolare persistente, 41/135 (30,4%) pazienti erano affetti da AIG oligoarticolare estesa, 32/135 (23,7%) pazienti erano affetti da AIG poliarticolare (dei quali il 93,7% erano FR-), 5/135 (3,7%) pazienti erano affetti da AIG sistemica. Dei 135 pazienti inclusi nello studio, 57/135 (42,2%) erano in remissione clinica e non stavano assumendo alcun trattamento farmacologico (CR), mentre 78/135 (57,7%) pazienti erano in remissione clinica in corso di terapia (CRM): di questi 39/135 (28,9%) pazienti stava assumendo methotrexate, 28/135 (20,7%) pazienti erano trattati con farmaci biologici (etanercept, adalimumab, tocilizumab), 11/135 (8,1%) pazienti stavano assumendo una combinazione di methotrexate e farmaco biologico. Nessun paziente era in trattamento con glucocorticoidi o farmaci anti-infiammatori non steroidei (FANS). La durata mediana del follow-up è stata di 1,4 anni (0,9-1,9). Nel corso del follow-up, 58/135 (42,9%) pazienti in remissione clinica persistente sono stati sottoposti a seconda valutazione mediante ecografia muscolo-scheletrica (durata mediana dell'intervallo tra ecografia basale e di follow-up 0,6 anni). Le caratteristiche demografiche nonché i risultati della valutazione clinica al momento di inclusione nello studio sono riportati nella **Tabella 2**.

Tabella 2. Dati demografici e clinici dei 135 pazienti inclusi nello studio.

Dati demografici e clinici	N (%)
Sesso:	
Femmine	106/135 (78,5%)
Maschi	29/135 (21,5%)
Categoria AIG (ILAR):	
Oligoarticolare persistente	57/135 (42,2%)
Oligoarticolare estesa	41/135 (30,4%)
Poliarticolare FR-	30/135 (22,2%)
Poliarticolare FR+	2/135 (1,5%)
Sistemica	5/135 (3,7%)
Pazienti in remissione senza terapia (CR):	57/135 (42,2%)
Pazienti in remissione in corso di terapia (CRM):	78/135 (57,7%)
Tipo di farmaco:	
Methotrexate	39/135 (28,9%)
Biologico (ETN o ADA o TCZ)	28/135 (20,7%)
Methotrexate + biologico	11/135 (8,1%)
	Mediana (Q₁; Q₃)
Età al momento della visita basale (anni)	11,3 (7,5;15,2)
Età all'esordio della malattia (anni)	3,0 (1,8; 6,9)
Durata della malattia al momento della visita basale (anni)	5,7 (3,5; 10,4)
Durata della remissione al momento della visita basale (anni)	1,4 (0,9; 2,4)
Numero di articolazioni attive	0,0 (0,0; 0,0)
VAS del medico (0= nessuna attività; 10 cm= massima attività)	0,0 (0,0; 0,0)
VAS paziente/genitore (0= molto bene; 10 cm= molto male)	0,0 (0,0; 0,0)
C-HAQ (0= nessuna limitazione; 3= massima limitazione)	0,000 (0,000; 0,100)
PCR (mg/dl)	0,0 (0,0; 0,0)
VES (mm1h)	8,0 (6,0; 10,0)

AIG: artrite idiopatica giovanile; **ILAR:** International League of Associations for Rheumatology; **FR:** fattore reumatoide; **CR:** clinical remission off medication; **CRM:** clinical remission on medication; **ETN:** etanercept; **ADA:** adalimumab; **TCZ:** tocilizumab; **VAS:** visual analog scale; **C-HAQ:** Childhood Health Assessment Questionnaire; **PCR:** proteina C reattiva; **VES:** velocità di eritrosedimentazione.

4.2 Risultati della valutazione mediante ecografia muscoloscheletrica

Tutti i 135 pazienti inclusi nello studio sono stati sottoposti in occasione della visita basale ad ecografia muscoloscheletrica estesa a 56 articolazioni. Per 74/135 (54,8%) pazienti la valutazione mediante ecografia muscoloscheletrica è stata eseguita indipendentemente da due medici esperti in imaging del paziente pediatrico con artrite infiammatoria cronica.

La concordanza tra i due ecografisti per la determinazione della sinovite e tenosinovite subclinica in B-mode e mediante PD è stata calcolata per ogni distretto articolare di ciascuno dei 74 pazienti per i quali era disponibile la doppia valutazione. Nel complesso la concordanza è risultata da sostanziale a eccellente. Per quanto riguarda la valutazione in B-mode il valore di “*K di Cohen*” peggiore riscontrato è stato $k=0,66$ (IC 95%: 0,45-0,87) nei tendini flessori della caviglia sinistra, mentre il valore migliore riscontrato è stato $k=1,0$ (IC 95%: 0,90-1,0) nella subtalare sinistra; considerando invece la “*concordanza osservata*” la peggiore è risultata nella valutazione della radiocarpica sinistra (94,6%), mentre in diversi distretti articolari è risultata essere del 100% con valori di $k=1$ e IC 95%: 0,82-1,0 (gomito destro e sinistro, intercarpica destra, IV metacarpofalangea destra e sinistra, talonavicolare destra, I metatarsofalangea sinistra e II metatarsofalangea destra). Per quanto riguarda la valutazione mediante metodica PD il valore di “*K di Cohen*” peggiore riscontrato è stato $k=0,83$ (IC 95%: 0,63-1,0) nella radiocarpica destra, mentre il valore migliore riscontrato è stato $k=1,0$ (IC 95%: 0,82-1,0) nella intercarpica destra, talonavicolare destra e I metacarpofalangea destra; considerando invece la “*concordanza osservata*” la peggiore è risultata nella valutazione della radiocarpica destra (98,7%), mentre in diversi distretti articolari è risultata essere del 100% (intercarpica destra, talonavicolare destra e I metacarpofalangea destra).

Nonostante i pazienti sottoposti ad ecografia muscoloscheletrica si trovassero in uno stato di remissione clinica, è stato riscontrato un quadro di sinovite subclinica la cui prevalenza varia

a seconda che vengano utilizzati criteri ecografici più o meno stringenti per definirne l'entità. La sinovite subclinica evidenziata mediante tecnica B-mode con uno score ≥ 1 è stata riscontrata in 82/135 (60,7%) pazienti (**Grafico 1a**) e in 222/7560 (2,9%) articolazioni (**Tabella 3**). La sinovite subclinica evidenziata mediante tecnica B-mode con uno score ≥ 2 è stata evidenziata in 32/135 (23,7%) pazienti (**Grafico 1b**) e in 53/7560 (0,7%) articolazioni (**Tabella 3**). Sono stati rilevati segni di vascolarizzazione al PD in 26/135 (19,3%) pazienti (**Grafico 2**) e in 37/7560 (0,5%) articolazioni (**Tabella 3**). La sinovite subclinica è stata rilevata più frequentemente nelle articolazioni della caviglia e del polso.

Venti/135 (14,8%) pazienti presentavano un quadro di tenosinovite subclinica di cui 4 con PD positivo.

Grafico 1. Prevalenza di sinovite subclinica nei 135 pazienti in remissione clinica. **1a:** sinovite B-mode score ≥ 1 . **1b:** sinovite B-mode score ≥ 2 .

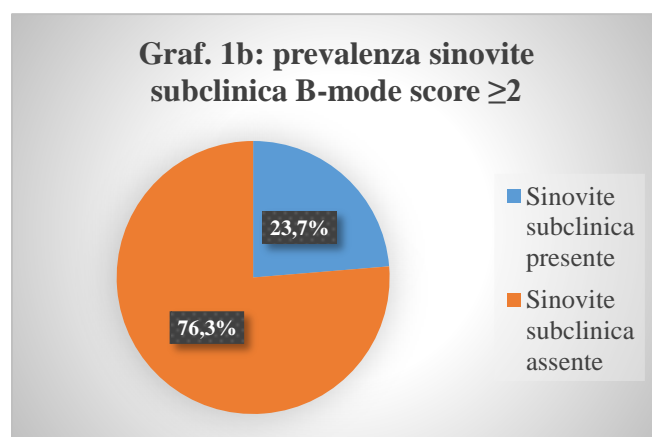
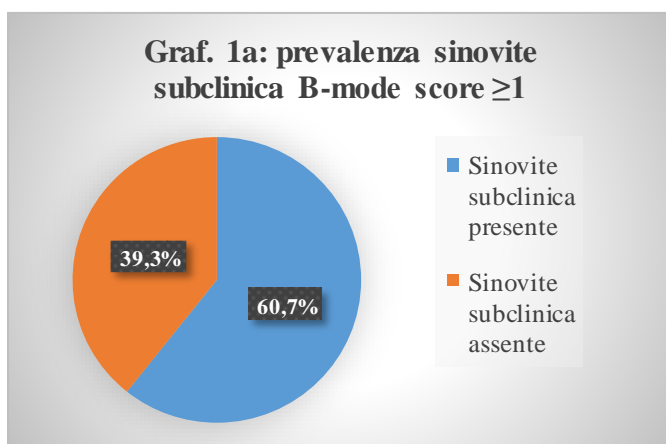


Grafico 2. Prevalenza di sinovite subclinica con segni di vascolarizzazione al PD nei 135 pazienti in remissione clinica.

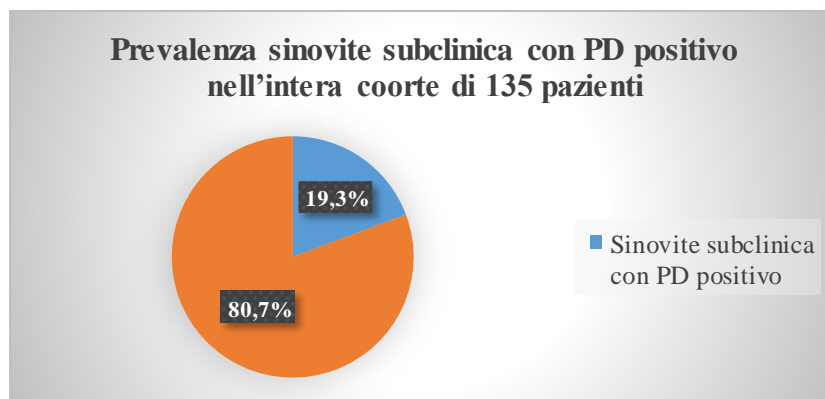


Tabella 3. Prevalenza di sinovite subclinica con B-mode score ≥ 1 o ≥ 2 e PD score ≥ 1 nei diversi distretti articolari studiati mediante ecografia muscolo-scheletrica.

Articolazioni valutate mediante ecografia muscolo-scheletrica	B-mode score ≥ 1 N (%)	B-mode score ≥ 2 N (%)	PD score ≥ 1 N (%)
Gomito [N=270]	17 (6,3%)	7 (2,6%)	1 (0,4%)
Polso:			
Radiocarpica [N=270]	29 (10,7%)	4 (1,5%)	4 (1,5%)
Intercarpica [N=270]	12 (4,4%)	2 (0,7%)	3 (1,1%)
MCF I-V [N=1350]	24 (1,8%)	5 (0,4%)	4 (0,3%)
IFP [N=1350]	6 (0,4%)	0 (0,0%)	1 (0,07%)
IFD [N=1080]	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Coxo-femorale [N=270]	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Ginocchio [N=270]	24 (8,9%)	3 (1,1%)	3 (1,1%)
Caviglia e mesopiede:			
Tibiotarsica [N=270]	19 (7,1%)	5 (1,8%)	2 (0,7%)
Talo-navicolare [N=270]	22 (8,1%)	8 (2,9%)	5 (1,8%)
Navicolo-I cuneiforme [N=270]	4 (1,5%)	1 (0,4%)	3 (1,1%)
Subtalare [N=270]	22 (8,1%)	7 (2,6%)	10 (3,7%)
MTF I-V [N=1350]	43 (3,2%)	11 (0,8%)	1 (0,07%)

MCF: metacarpofalangea; IFP: interfalangea prossimale; IFD: interfalangea distale; MTF: metatarsofalangea.

Paragonando le caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti con e senza sinovite subclinica non sono state identificate differenze significative.

Cinquantatré su 82 (64,6%) pazienti con sinovite subclinica con B-mode score ≥ 1 stava assumendo una terapia di fondo; in particolare, 25/53 (47,2%) erano in trattamento con methotrexate, 21/53 (39,6%) pazienti assumevano un farmaco biologico e 7/53 (13,2%) effettuavano una combinazione di methotrexate e farmaco biologico. Ventidue su 32 (68,7%) pazienti con sinovite subclinica con B-mode score ≥ 2 stava assumendo una terapia di fondo; in particolare, 10/22 (45,5%) erano in trattamento con methotrexate, 9/22 (40,9%) pazienti assumevano un farmaco biologico e 3/22 (13,6%) effettuavano una combinazione di methotrexate e farmaco biologico.

4.3 Risultati della determinazione ematica di biomarkers dell'infiammazione

In 63/135 (46,7%) pazienti, per i quali era già previsto un prelievo ematico di controllo, è stata eseguita la determinazione sierica di 13 citochine e chemochine espressione di infiammazione e neoangiogenesi e in 40/135 (29,6%) pazienti è stato eseguito il dosaggio di proteine secrete da fagociti attivati [MRP 8 (S100A8) e MRP 14 (S100A9) e proteina S100A12]. I valori ottenuti nei pazienti in remissione clinica inclusi nel presente studio sono riassunti nella **Tabella 4**. Al momento non sono ancora disponibili dei range di normalità validati in base alla fascia di età dei pazienti pediatrici con cui confrontare i valori ottenuti nella nostra casistica.

Tabella 4. Livelli ematici dei biomarkers di infiammazione ottenuti in occasione della visita basale in un sottogruppo di pazienti inclusi nello studio.

Citochine	N pazienti	Mediana (1° - 3° quartile)	Min - Max
sILRI (pg/ml)	63	157,2 (0 - 295,5)	0 - 513,2
G-CSF (pg/ml)	63	27,9 (0 - 37,7)	0 - 56,6
GM-CSF (pg/ml)	63	0 (0 - 0)	0 - 10,8
IL-6 (pg/ml)	63	0 (0 - 4,1)	0 - 16,4
IL-10 (pg/ml)	63	0 (0 - 0)	0 - 11
IL-12/IL-23p40 (pg/ml)	63	7,4 (0 - 28,9)	0 - 83,9
MIG (CXCL9) (pg/ml)	63	14,4 (0 - 54,1)	0 - 272
MIP-1 α (pg/ml)	63	0 (0 - 0)	0 - 11,4
sTNFRI (pg/ml)	63	72,3 (0 - 112,7)	0 - 265
sTNFRII (ng/ml)	63	3,2 (1,9 - 5,0)	0,3 - 50,9
IP-10 (CXCL10) (ng/ml)	63	0,1 (0,08 - 0,3)	0,03 - 0,9
RANTES (ng/ml)	63	8,7 (6,3 - 3,0)	2,7 - 61,5
VEGF (pg/ml)	63	0 (0 - 0)	0 - 195,3
S100A8A9 ng/ml	40	554,4 (276,7 - 2047,9)	0 - 10512,7
S100A12 ng/ml	40	21,3 (0 - 44,3)	0 - 323,7

ILR-1: interleukin-1 receptor; **G-CSF:** granulocyte colony-stimulating factor; **GM-CSF:** granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; **IL-6:** interleukin-6; **IL-10:** interleukin-10; **IL-12:** interleukin-12; **CXCL9:** CXC chemokine ligand 9; **CXCL10:** CXC chemokine ligand 10; **MIP-1 α :** macrophage inflammatory protein 1 α ; **TNFRI:** tumor necrosis factor receptor type I; **TNFRII:** tumor necrosis factor receptor type II; **RANTES:** regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted; **VEGF:** vascular endothelial growth factor.

4.4 Risultati del follow-up clinico ed ecografico

Nel corso del follow-up 58/135 (42,9%) pazienti in remissione clinica persistente sono stati sottoposti a seconda valutazione mediante ecografia muscolo-scheletrica (durata mediana di follow-up 0,6 anni). Dalla seconda valutazione ecografica è emersa una persistenza della sinovite subclinica con B-mode score ≥ 1 nel 58,6% dei pazienti e con B-mode score ≥ 2 nel 27,6% dei pazienti; tale reperto non appariva influenzato dalle modifiche apportate alla terapia (p=0,84) (*Tabella 5*).

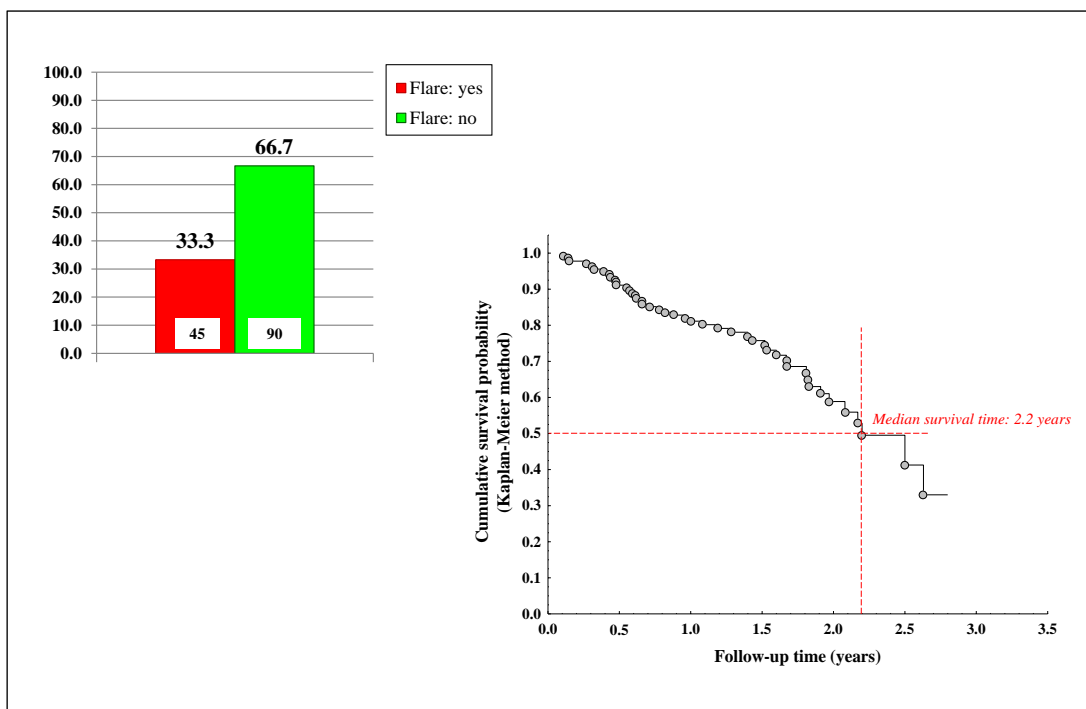
Tabella 5. Modifiche alla terapia e persistenza di sinovite subclinica.

	Persistenza della sinovite subclinica		P
	Si	No	(Chi-quadrato)
Terapia invariata	19/36 (52,8 %)	17/36 (47,2 %)	0,84
Terapia ridotta o sospesa	11/22 (50 %)	11/22 (50 %)	

Nel corso del follow-up 45/135 (33,3%) pazienti hanno presentato una riaccensione di malattia, di questi 24 pazienti sono ricaduti dopo un intervallo di tempo mediano di 0,5 anni dalla prima valutazione ecografica e 21 pazienti dopo un intervallo di tempo mediano di 1,0 anni dalla seconda valutazione ecografica.

Il tempo mediano di sopravvivenza (“*median survival time*”) dell’intera coorte è stato di 2,2 anni (*Grafico 3*).

Grafico 3. Curva di sopravvivenza in termini di ricaduta di malattia dell'intera coorte.



Dei 53/135 pazienti che non presentavano alcun segno di infiammazione alla ecografia basale, 14 (26,4%) pazienti hanno presentato almeno una ricaduta di malattia. Degli 82/135 pazienti con presenza di sinovite subclinica B-mode score ≥ 1 alla ecografia basale, 31 (37,8%) pazienti hanno avuto almeno una ricaduta di malattia nel corso del follow-up e di questi il 54,8% (17/31) ha presentato una ricaduta di malattia nella stessa sede articolare in cui era stata riscontrata la sinovite subclinica in occasione della visita basale. Mentre nell'ambito dei 32 pazienti con presenza di sinovite subclinica B-mode score ≥ 2 alla ecografia basale, 16/32 (50%) pazienti hanno avuto almeno una ricaduta di malattia nel corso del follow-up e di questi 10 (62,5%) pazienti sono andati incontro a una riaccensione nella stessa sede articolare in cui era presente la sinovite subclinica (*Tabella 6a e 6b*). Tra i pazienti che presentavano un quadro di sinovite subclinica evidenziata mediante tecnica B-mode, 26 pazienti avevano anche segni di vascolarizzazione al PD e il 50% (13/26) di questi pazienti è andata incontro a ricaduta di malattia.

Tabella 6a. Frequenze assolute e percentuali dei pazienti con e senza sinovite subclinica B-mode score ≥ 1 e che hanno presentato o meno una ricaduta clinica.

	Ricaduta clinica NO	Ricaduta clinica SI'	Totale
Sinovite subclinica ASSENTE	39 (28,9%)	14 (10,4%)	53 (39,3%)
Sinovite subclinica B-mode score ≥ 1	51 (37,8%)	31 (22,9%)	82 (60,7%)
Totale	90 (66,7%)	45 (33,3%)	135 (100%)

Tabella 6b. Frequenze assolute e percentuali dei pazienti con e senza sinovite subclinica B-mode score ≥ 2 e che hanno presentato o meno una ricaduta clinica.

	Ricaduta clinica NO	Ricaduta clinica SI'	Totale
Sinovite subclinica ASSENTE	74 (54,8%)	29 (21,4%)	103 (76,2%)
Sinovite subclinica B-mode score ≥ 2	16 (11,9%)	16 (11,9%)	32 (23,8%)
Totale	90 (66,7%)	45 (33,3%)	135 (100%)

Dei 20/135 pazienti che presentavano segni di tenosinovite subclinica evidenziata con metodica B-mode all'ecografia, 7 soggetti (35%) hanno presentato almeno una ricaduta di malattia. Il 75% (3/4) dei pazienti che presentavano un quadro di tenosinovite subclinica con segni di vascolarizzazione al PD è andato incontro a una riaccensione della malattia nel corso del follow-up.

Dei 45 pazienti che hanno presentato una ricaduta di malattia, 39 (86,7%) pazienti erano in remissione clinica in corso di terapia farmacologica, di cui 17 erano in terapia con

methotrexate, 17 con farmaco biologico e 5 con terapia combinata. Durante l'intervallo di tempo tra la visita di basale e la ricaduta di malattia 9/39 (23,1%) pazienti avevano mantenuto il trattamento farmacologico invariato, mentre 30/39 (76,9%) pazienti avevano eseguito una riduzione/sospensione della terapia in atto al momento dell'inclusione.

4.5 Relazione tra variabili demografico-cliniche e la ricaduta di malattia

L'analisi bivariata ha dimostrato il ruolo predittivo, in termini di ricaduta di malattia, di alcune *variabili demografiche e cliniche*, come riportato nella **Tabella 7**.

In particolare, è emerso che la categoria di AIG oligoarticolare estesa (Log-Rank test, $P=0,0014$), la durata della remissione di malattia ($P=0,0025$), la remissione clinica in corso di trattamento farmacologico (CRM) ($P=0,0001$) e il tipo di terapia al basale con outcome peggiore per i pazienti trattati con bDMARDs ($P=0,0001$) sono le variabili che correlano in modo significativo con la riattivazione di malattia.

Tabella 7. Relazione tra variabili demografiche e cliniche e ricaduta di malattia [N=135].

	Pazienti ricaduti/totale n/N (%)	Tasso di incidenza × 100 persone-anno (IC 95%)	P Test: Log-Rank
Intera coorte	45/135 (33,3 %)	24,2 (18,1 - 32,4)	-
Sesso:			0,075
Maschi	5/29 (17,2%)	12,2 (5,1 - 29,4)	
Femmine	40/106 (37,7%)	27,6 (20,2 - 37,6)	
Età al baseline:			0,85
≤ 8,3 anni	17/40 (42,5 %)	27,4 (17,0 - 44,0)	
< 8,3 anni	28/95 (29,5 %)	22,6 (15,6 - 32,8)	
Categoria AIG:			0,0014
oligoarticolare persistente	11/57 (19,3%)	13,5 (7,5 - 24,4)	
oligoarticolare estesa	21/41 (51,2%)	42,7 (27,9 - 65,5)	
poliarticolare/sistemica	13/37 (35,1%)	23,4 (13,6 - 40,4)	
Tipo di remissione:			0,0001
“off-therapy”	6/57 (10,5%)	7,4 (3,3 - 16,4)	
“on-therapy”	39/78 (50,0%)	37,3 (27,3 - 51,1)	
Terapia basale:			< 0,0001
nessuna	6/57 (10,5%)	7,4 (3,3 - 16,4)	
Metotrexate (MTX)	17/39 (43,6 %)	29,4 (18,3 - 47,3)	
Biologico +/- MTX	22/39 (56,4 %)	47,1 (31,0 - 71,5)	
Durata remissione:			0,025
≤ 1,9 anni	35/85 (41,2 %)	14,0 (7,6 - 26,1)	
> 1,9 anni	10/50 (20,0 %)	30,5 (21,9 - 42,5)	

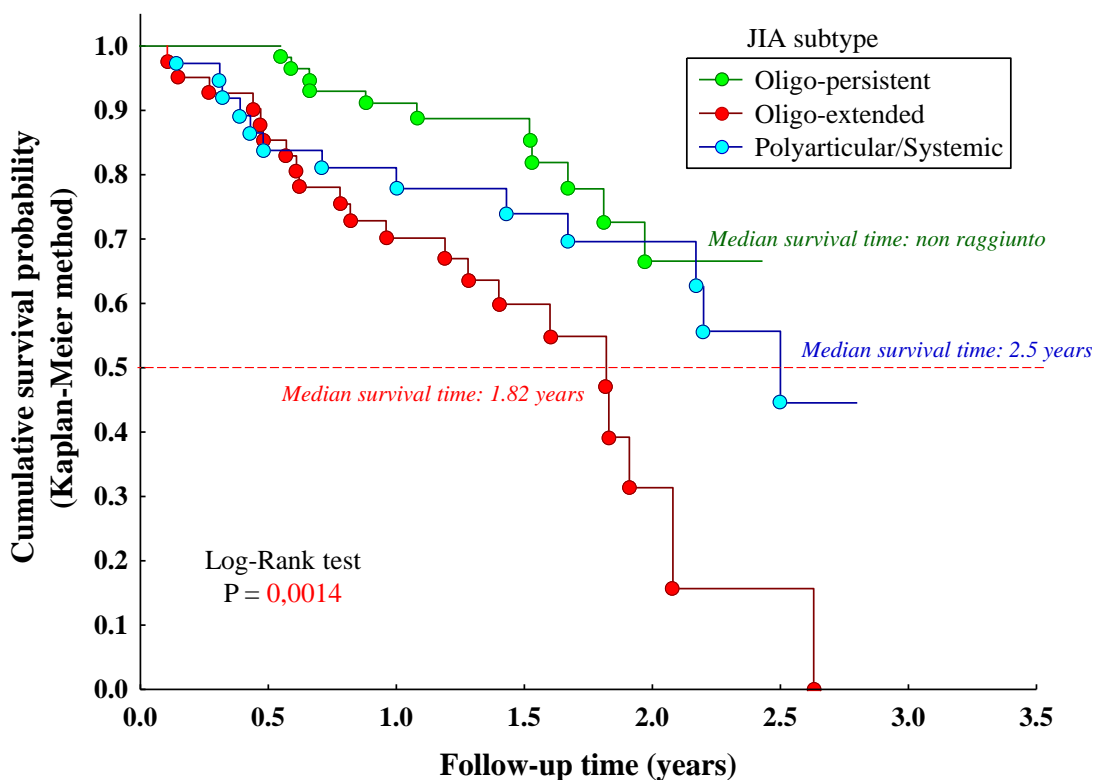
AIG: artrite idiopatica giovanile; **MTX:** methotrexate.

Come si osserva nel **Grafico 4**, i pazienti appartenenti alla forma di AIG oligoarticolare persistente hanno un numero minore di ricadute e la loro curva non raggiunge il “median survival time”, in quanto le riattivazioni dell’artrite avvengono anche più avanti nel tempo. In questo gruppo ricadono 11/57 pazienti (19,3 %).

I pazienti che appartengono alla categoria di AIG oligoarticolare estesa presentano il numero maggiore di ricadute e anche precocemente nel tempo con un “median survival time” di 1,82 anni. In questo gruppo ricadono 21/41 pazienti (51,2 %).

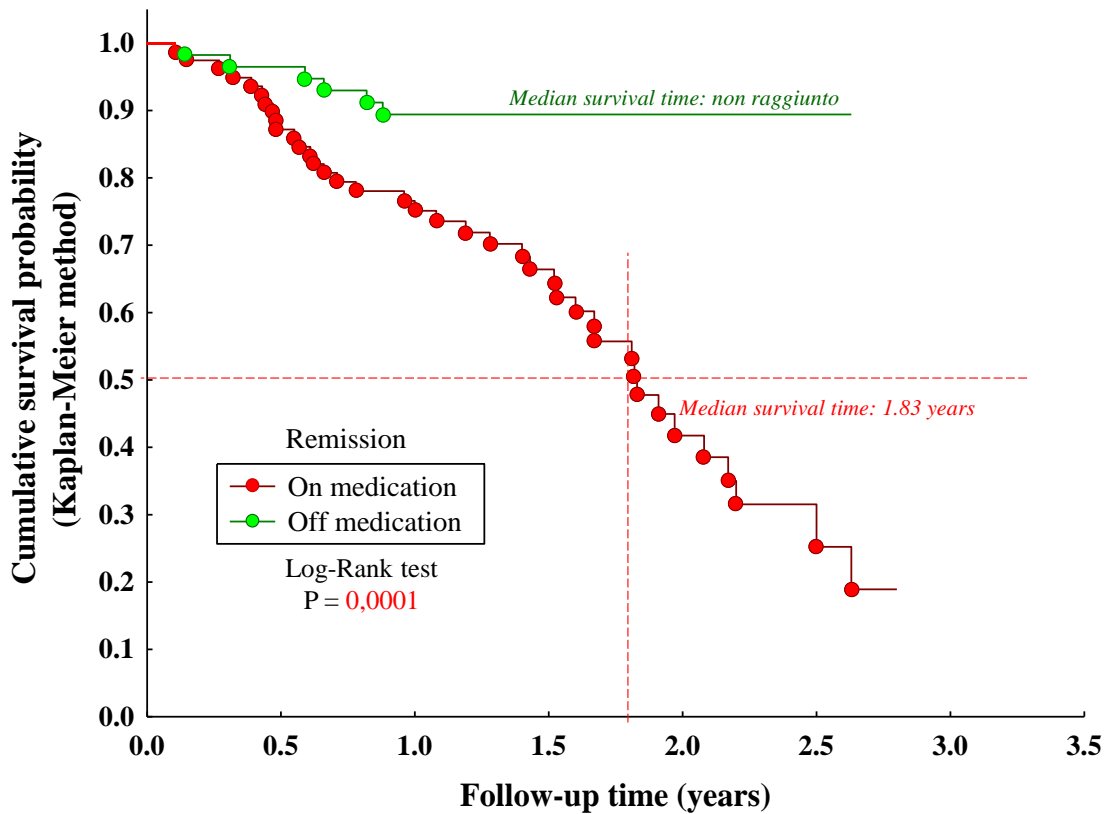
Le forme a severità intermedia sono quelle poliarticolari e sistemiche che hanno un “median survival time” di 2,5 anni. In questo gruppo ricadono 13/37 pazienti (35,1 %).

Grafico 4. Curva di sopravvivenza dei pazienti appartenenti alle diverse categorie di AIG.



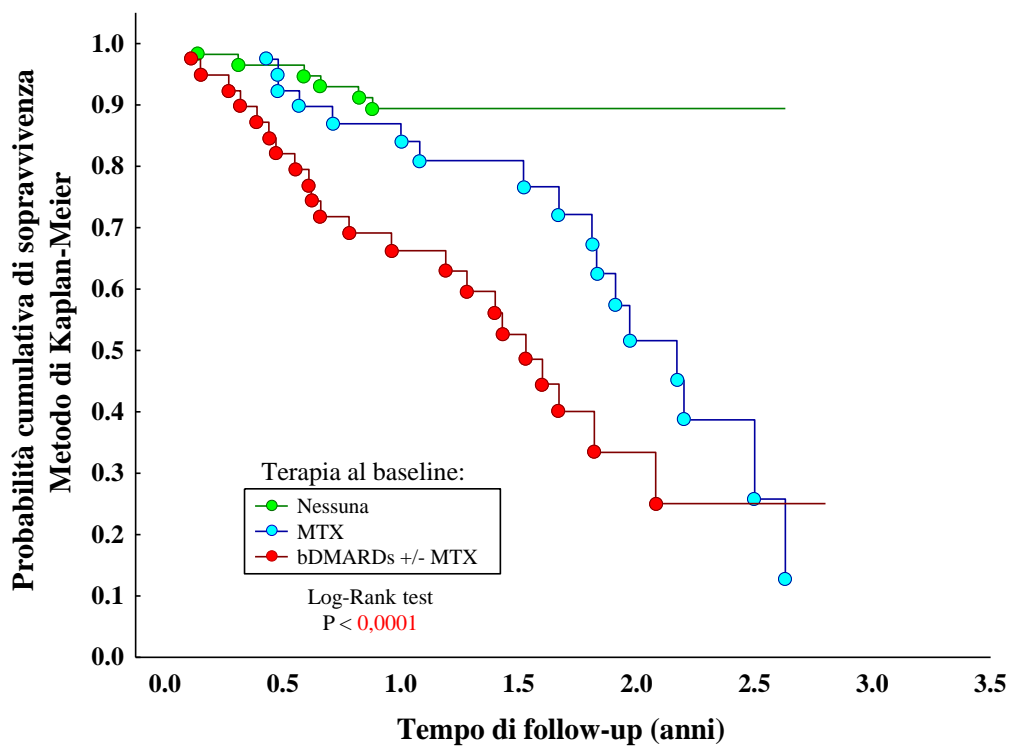
I pazienti in remissione clinica in corso di trattamento farmacologico (CRM) hanno una curva di sopravvivenza in termini di ricaduta di malattia peggiore rispetto ai pazienti in remissione clinica senza terapia (CR), infatti i primi hanno una “median survival time” pari a 1,83, mentre i pazienti “off medication” non raggiungono mai il livello del “median survival time” (*Grafico 5*).

Grafico 5. Curva di sopravvivenza dei pazienti in remissione clinica in corso di trattamento farmacologico (“clinical remission on medication”) vs pazienti in remissione clinica senza terapia (“clinical remission off medication”).



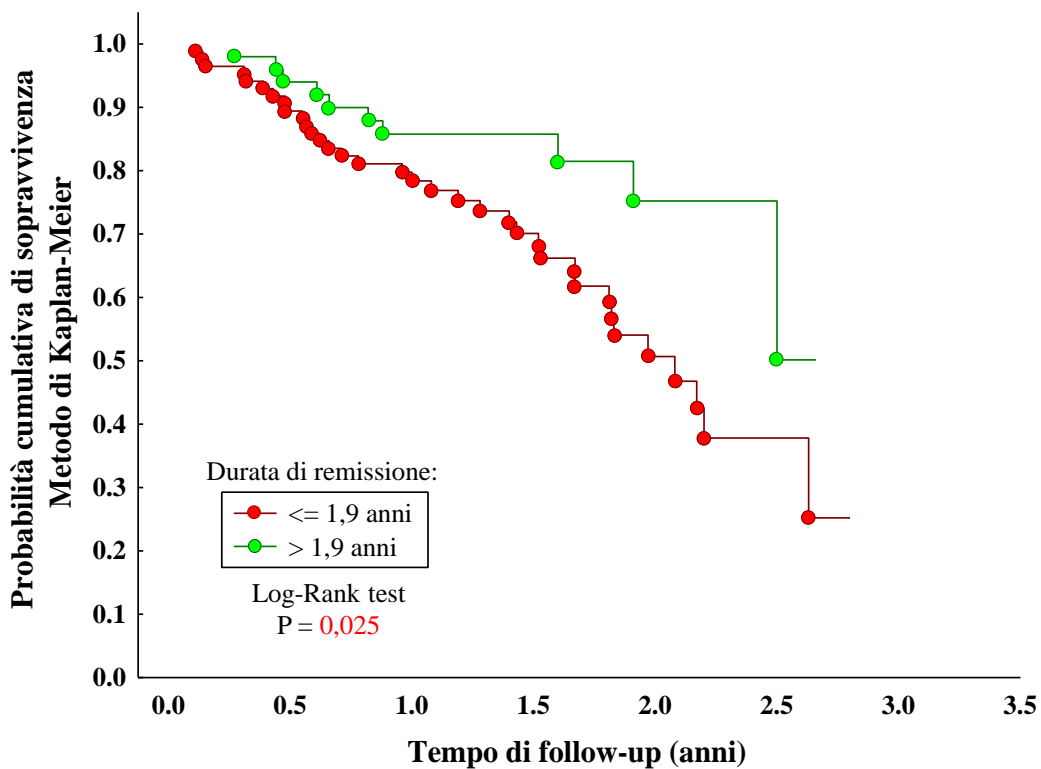
Come si osserva nel **Grafico 6**, i pazienti trattati al baseline con un bDMARD associato o meno a MTX mostrano una curva di sopravvivenza in termini di ricaduta di malattia significativamente peggiore rispetto agli altri pazienti ($P=0,0001$). Questi erano probabilmente i pazienti più gravi o più resistenti ai trattamenti farmacologici.

Grafico 6. Curva di sopravvivenza dei pazienti suddivisi in base alla terapia basale (nessuna terapia; terapia con solo MTX; terapia con bDMARD associato o meno a MTX).



Come si può notare dal **Grafico 7**, i pazienti che si trovavano al momento dell'inclusione nello studio in remissione clinica da lungo tempo ($> 1,9$ anni) hanno un numero minore e più ritardato di ricadute; le 2 curve di sopravvivenza in termini di ricaduta di malattia hanno infatti un andamento significativamente diverso ($P=0,025$).

Grafico 7. Curva di sopravvivenza dei pazienti che al momento dell'inclusione erano in remissione da lungo tempo ($> 1,9$ anni) vs pazienti in remissione da un intervallo di tempo minore ($\leq 1,9$ anni).



4.6 Relazione tra sinovite –tenosinovite subclinica e la ricaduta di malattia

Mediante analisi bivariata è stato indagato inoltre il ruolo predittivo, in termini di ricaduta di malattia, dei reperti riscontrati mediante ecografia muscoloscheletrica al momento dell'inclusione nello studio dei pazienti in remissione clinica: in particolare la *sinovite e tenosinovite subclinica, con presenza o meno di segni di vascolarizzazione al PD*. Come riportato nella **Tabella 8**, è emerso che la presenza di sinovite subclinica non correla in modo significativo con la riattivazione di malattia, né che si prenda in considerazione la definizione di sinovite con B-mode score ≥ 1 ($P=0,36$), né la definizione di sinovite con B-mode score ≥ 2 ($P=0,05$). Neppure la presenza di segni di vascolarizzazione della sinovia ipertrofica, evidenziati mediante metodica PD, ha un ruolo nel predire la riattivazione della flogosi articolare ($P=0,048$). La tenosinovite subclinica, riscontrata mediante valutazione in scala di grigi, non rappresenta un predittore di riaccensione della malattia ($P=0,35$), mentre risulta invece esistere una relazione significativa tra la ricaduta di malattia e la presenza di tenosinovite subclinica con associati segni di vascolarizzazione al PD ($P=0,0033$).

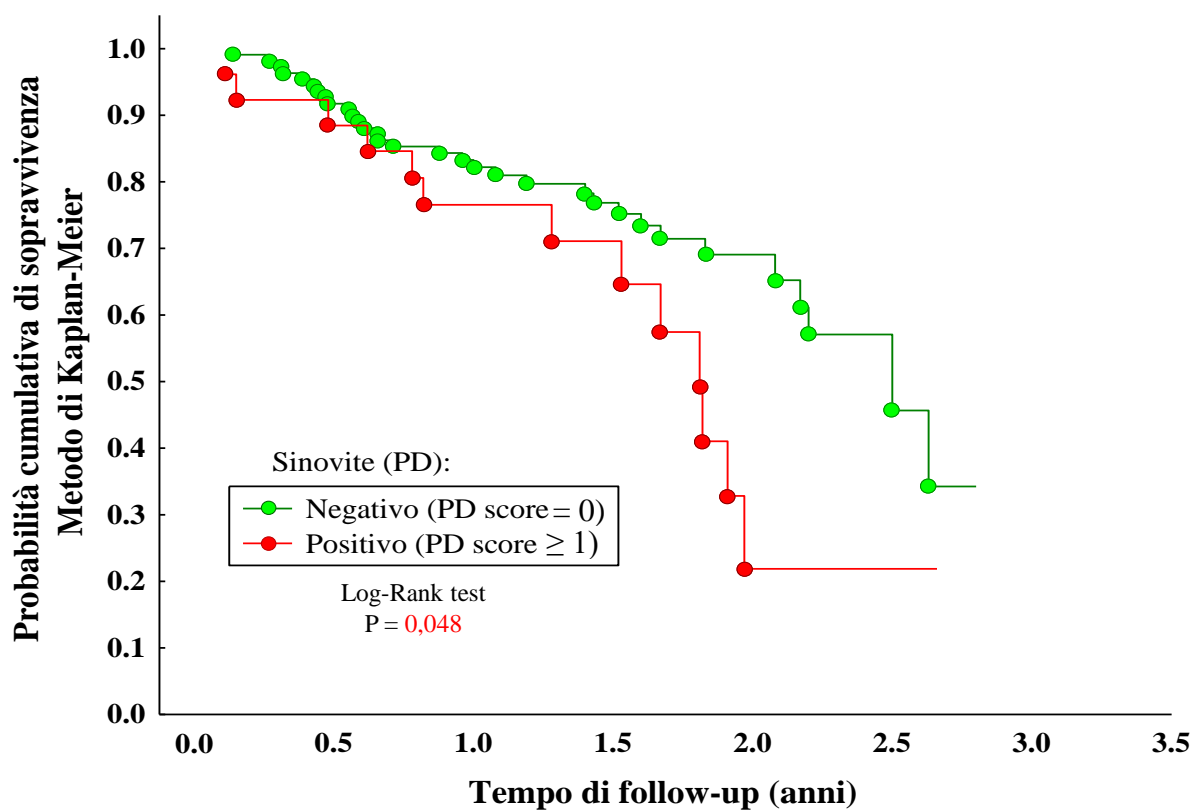
Tabella 8. Relazione tra riscontro ecografico subclinico di sinovite - tenosinovite e ricaduta di malattia [N=135].

	Pazienti ricaduti/totale n/N (%)	Tasso di incidenza × 100 persone-anno (IC 95%)	P Test: Log-Rank
Sinovite subclinica:			0,36
Sì (B-mode score ≥ 1)	31/82 (37,8 %)	27,1 (19,1 - 38,6)	
No (B-mode score = 0)	14/53 (26,4 %)	19,6 (11,6 - 33)	
Sinovite subclinica:			0,05
Sì (B-mode score ≥ 2)	16/32 (50,0 %)	36,6 (22,4 - 59,8)	
No (B-mode score < 2)	29/103 (28,2 %)	20,4 (14,2 - 29,3)	
Segni di vascolarizzazione:			0,048
Sì (PD score ≥ 1)	13/26 (50,0 %)	38,4 (22,3 - 66,1)	
No (PD score = 0)	32/109 (29,4%)	21,1 (14,9 - 29,8)	
Tenosinovite subclinica:			0,35
Sì (B-mode score ≥ 1)	7/20 (35,0 %)	29 (13,8 - 60,8)	
No (B-mode score = 0)	38/115 (33,0 %)	23,5 (17,1 - 32,3)	
Segni di vascolarizzazione:			0,003
Sì (PD score ≥ 1)	3/4 (75,0 %)	90,6 (29,2 - 81)	
No (PD score = 0)	42/131 (32,1 %)	23 (17,0 - 31,1)	

PD: power doppler

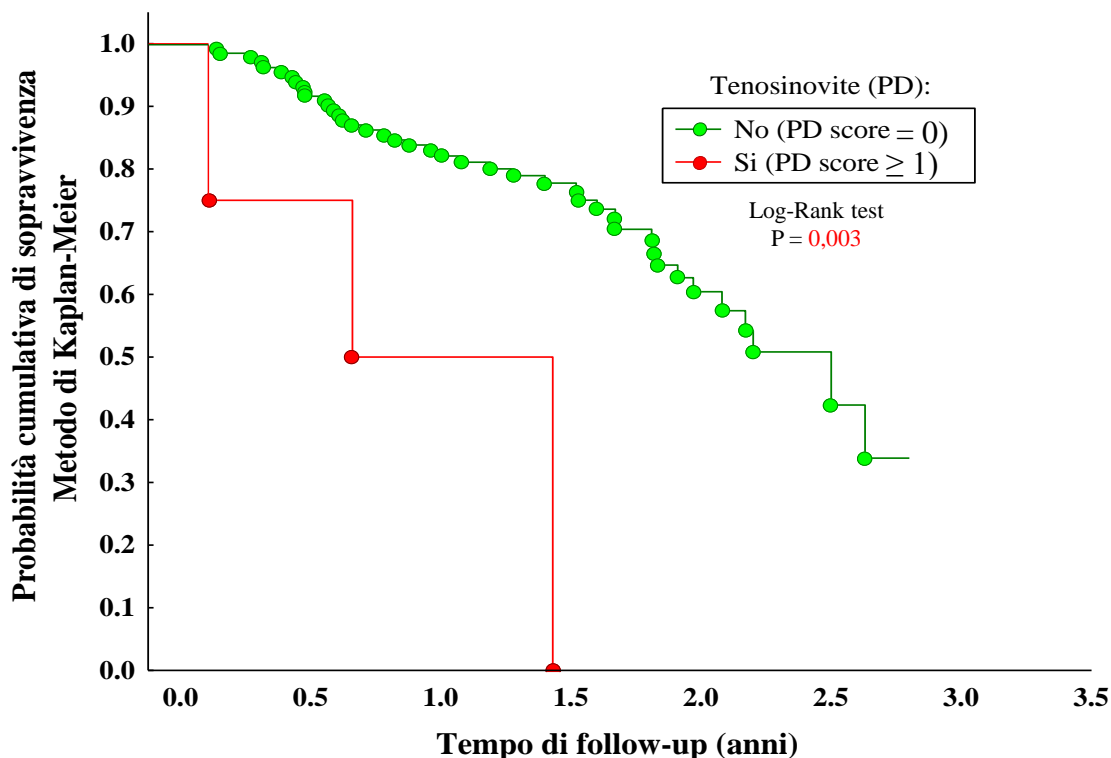
Sono state inoltre costruite delle curve di sopravvivenza per analizzare il ruolo della sinovite e tenosinovite subclinica in funzione della riaccensione dell'artrite, tenendo in considerazione anche l'intervallo di tempo libero da malattia. Come si osserva nel **Grafico 8**, non sussiste alcuna differenza significativa nella frequenza e nei tempi di ricaduta dei pazienti con/senza sinovite subclinica con segni di vascolarizzazione al PD ($P=0,048$).

Grafico 8. Curva di sopravvivenza in termini di ricaduta di malattia in base alla presenza o assenza di sinovite subclinica con segni di vascolarizzazione al PD.



I pazienti con tenosinovite subclinica e segni di vascolarizzazione al PD, con il limite dell'esiguità del campione, ricadono più precocemente rispetto agli altri pazienti e in modo significativo ($P=0,003$) (**Grafico 9**).

Grafico 9. Curva di sopravvivenza per la ricaduta di malattia nei pazienti con/senza tenosinovite subclinica con segni di vascolarizzazione al PD.



4.7 Relazione tra biomarkers sierici dell'infiammazione e la ricaduta di malattia

Dall'analisi bivariata è emerso che i livelli ematici dei biomarkers di infiammazione ottenuti nel sottogruppo di pazienti testati, con il limite dell'esiguità del campione, non hanno alcun ruolo predittivo in termini di ricaduta di malattia, come riportato nella **Tabella 9**.

Tabella 9. Relazione tra livelli ematici dei biomarkers di infiammazione e ricaduta di malattia.

	Ricaduta: si Mediana (1° – 3°) [n =25]	Ricaduta: no Mediana (1° – 3°) [n =37]	Test U di Mann- Whitney P
sILRI (pg/ml)	155,5 (0 - 286,9)	157,2 (0 - 292,9)	0,90
G-CSF (pg/ml)	27,9 (0 - 36,8)	28,3 (0 - 36,5)	0,69
GM-CSF (pg/ml)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0,42
IL-6 (pg/ml)	0 (0 - 3)	0 (0 - 5,2)	0,71
IL-10 (pg/ml)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0,29
IL-12/IL-23p40 (pg/ml)	9,2 (0 - 26,6)	5 (0 - 32,5)	0,92
MIG (CXCL9) (pg/ml)	5,6 (0 - 63,3)	26,8 (0 - 53,2)	0,24
MIP-1 α (pg/ml)	0 (0 - 0)	0 (0 - 2)	0,35
sTNFRI (pg/ml)	47,3 (0 - 103,2)	72,3 (0 - 121,9)	0,38
sTNFRII (ng/ml)	3,2 (1,6 - 5,0)	3,0 (1,9 - 4,8)	0,71
IP-10 (CXCL10) (ng/ml)	0,1 (0,07 - 0,2)	0,2 (0,08 - 0,3)	0,39
RANTES (ng/ml)	8,9 (7,6 - 2,5)	8,5 (6,2 - 33,1)	0,82
VEGF (pg/ml)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0,64
S100A8A9 (ng/ml)	920,7 (262,8 - 2931,7) [n=19]	408,5 (285,1 - 848,2) [n=20]	0,30
S100A12 (ng/ml)	22 (17 - 63,2) [n=19]	7,5 (0 - 35,4) [n=20]	0,20

ILR-1: interleukin-1 receptor; **G-CSF:** granulocyte colony-stimulating factor; **GM-CSF:** granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; **IL-6:** interleukin-6; **IL-10:** interleukin-10; **IL-12:** interleukin-12; **CXCL9:** CXC chemokine ligand 9; **CXCL10:** CXC chemokine ligand 10; **MIP-1 α :** macrophage inflammatory protein 1 α ; **TNFRI:** tumor necrosis factor receptor type I; **TNFRII:** tumor necrosis factor receptor type II; **RANTES:** regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted; **VEGF:** vascular endothelial growth factor.

4.8 Analisi multivariata

Infine, per valutare la relazione tra alcune variabili cliniche e la ricaduta, tenendo anche in considerazione il tempo alla ricaduta, è stata utilizzata un'analisi multivariata ed è quindi stato studiato un modello di Cox con la variabile ricaduta (sì/no) come variabile di outcome e considerando il tempo (anni) dalla prima ecografia alla ricaduta (nei pazienti che erano ricaduti) e il tempo (anni) dalla prima ecografia fino all'ultimo follow-up (nei pazienti che non erano ricaduti).

Sono state valutate le seguenti variabili predittive: sesso, età al baseline ($\geq 8,3$ anni vs $< 8,3$ anni), durata della remissione ($\geq 1,9$ anni vs $< 1,9$ anni), sinovite subclinica (sì vs no) valutata mediante scala di grigi e con metodica PD, tenosinovite subclinica (sì vs no) valutata mediante scala di grigi e con metodica PD, categoria diagnostica (oligo-articolare persistente vs oligoarticolare estesa vs poliarticolare/sistemica), tipo di terapia al baseline (nessuna vs MTX vs biologico con/senza MTX).

Le variabili predittive scelte per il modello erano quelle di interesse clinico e quelle risultate significative all'analisi bivariata.

Alcune di queste variabili di tipo quantitativo sono state rese dicotomiche, prima del loro inserimento nel modello di Cox, sulla base dell'analisi della loro curva ROC.

L'analisi multivariata mediante modello di regressione di Cox (**Tabella 10**) ha confermato il ruolo del sottotipo diagnostico [forma oligo-estesa: Hazard Ratio (HR): 2,3; P=0,031], la presenza di tenosinovite con segni di vascolarizzazione al PD (HR: 4,8; P=0,04) e, come maggiore fattore predittivo, la presenza di remissione clinica in corso di trattamento farmacologico (HR: 3,7; P=0,002).

Tabella 10. Analisi multivariata. Modello di Cox. Outcome: ricaduta di malattia [45/135 (33,3 %) pazienti].

	Hazard Ratio	IC 95%	P “Test Likelihood Ratio”
Tipo di remissione:			
“on medication” (riferimento: “off-medication”)	3,7	1,5 - 9,4	0,002
Categoria AIG:			
Oligoarticolare-estesa	2,3	1,0 - 5,1	0,031
Poliarticolare/sistemica (riferimento: oligoarticolare persistente)	0,9	0,4 - 2,2	
Tenosinovite (PD score \geq 1) (riferimento: PD score =0)	4,8	1,4 - 17,2	0,039

IC 95%: Intervallo di Confidenza al 95%.

5 DISCUSSIONE

Negli ultimi 40 anni abbiamo assistito ad un enorme progresso tecnologico nell'ambito delle tecniche di imaging, che ha rivoluzionato completamente l'approccio diagnostico e le modalità di gestione del paziente in differenti discipline mediche. Da alcuni anni è emerso un crescente interesse nei confronti dei potenziali benefici che possano scaturire dall'impiego di queste nuove tecniche di diagnostica per immagini nella valutazione anche dei pazienti con artrite. Questo crescente interesse è andato di pari passo con la scoperta di nuovi e potenti farmaci per il trattamento dell'AR dell'adulto e che oggi sono in gran parte disponibili anche per il trattamento di bambini affetti da AIG. Si tratta di farmaci che inibiscono selettivamente le principali citochine pro-infiammatorie (Tumor Necrosis Factor alpha o TNF- α , IL1, IL6) e che sono in grado, non solo di migliorare i sintomi, ma anche di rallentare o addirittura arrestare la progressione della malattia a livello articolare. Il principale obiettivo del trattamento dell'AIG è quello di ottenere la remissione della malattia [7-10]. Negli ultimi anni si è andato via via consolidando il concetto che un precoce e costante controllo del processo infiammatorio a livello articolare (treat to target approach) sia fondamentale per prevenire la comparsa del danno articolare o il suo peggioramento nel tempo. Un trattamento aggressivo e il precoce impiego di farmaci in grado di inibire selettivamente le principali citochine coinvolte nel processo infiammatorio (agenti biologici) hanno permesso di garantire un miglior controllo della malattia e di raggiungere la remissione in un numero sempre maggiore di bambini [36-41]. Questo approccio ha determinato una crescente richiesta di metodiche che permettano in modo accurato e affidabile di valutare lo stato di attività di malattia. Questa esigenza scaturisce dall'evidenza che, sia in pazienti affetti da AR che in pazienti affetti da AIG, le attuali tecniche di valutazione clinica sembrano sottostimare l'entità del coinvolgimento infiammatorio articolare [42-44], determinando così un ritardo diagnostico e nell'avvio della più corretta strategia terapeutica. Emerge quindi la necessità di metodiche di

imaging che siano in grado di visualizzare il processo infiammatorio a livello della membrana sinoviale e di monitorarne l'evoluzione in rapporto all'intervento terapeutico e, al tempo stesso, che siano più sensibili a evidenziare i segni precoci di danno erosivo.

Studi condotti su pazienti affetti da AR, giudicati clinicamente in remissione, hanno dimostrato che una significativa percentuale dei pazienti (33.8%-100%) presentavano alla valutazione radiologica, eseguita mediante RM o ecografia articolare, una persistenza del processo infiammatorio a livello della membrana sinoviale (sinovite subclinica) [20]. Uno studio istologico su campioni di membrana sinoviale ottenuti dalle articolazioni di pazienti con AR e sinovite subclinica ha chiaramente dimostrato la presenza di una iperplasia della membrana sinoviale, con un infiltrato infiammatorio e aspetti di neoangiogenesi, dimostrando così, in maniera inequivocabile, la persistenza di un processo infiammatorio attivo in questi pazienti [45]. Un incremento dell'espressione di fattori coinvolti nel processo di angiogenesi (bFGF) è stata inoltre riscontrata a livello della membrana sinoviale ottenuta da paziente con AR in remissione clinica e con sinovite subclinica, giustificando così la persistenza di segni di vascolarizzazione al PD in questi pazienti [46].

Uno studio longitudinale condotto su pazienti con AR in remissione clinica ha definitivamente dimostrato che la sinovite subclinica (in particolare la persistenza del segnale PD) si associa ad un significativo incremento del rischio di riaccensione della malattia e ad una progressione del danno osseo strutturale nel tempo, con conseguenti rilevanti implicazioni sulla strategia terapeutica [21]. Nell'adulto con AR in remissione clinica l'ecografia muscoloscheletrica rappresenta di fatto uno strumento cruciale per identificare i pazienti in cui iniziare una graduale riduzione fino alla sospensione della terapia immunosoppressiva senza incorrere in un rischio di ricaduta della malattia. Nel paziente adulto, quindi, RM ed ecografia si sono dimostrate essere imprescindibili strumenti di supporto all'esame obiettivo articolare ed è stato ormai confermato il ruolo che la sinovite subclinica ha nell'impostare la

più adeguata strategia terapeutica. La persistenza di infiammazione latente a carico della articolazione, rappresenta infatti un imperativo a non sospendere il trattamento ma anzi, a incrementarne il dosaggio e a valutare la possibilità di aggiungere allo schema terapeutico una nuova molecola.

Il valore prognostico della sinovite subclinica nei pazienti con AIG in remissione clinica appare ancora da definire. Ad oggi sono stati pubblicati solo 4 studi sul potenziale ruolo dell'ecografia articolare nella valutazione dei pazienti con AIG e malattia inattiva; i risultati che emergono da tali studi sono tra loro discordanti, sia per quanto riguarda la prevalenza della sinovite subclinica, sia per quanto concerne il suo valore predittivo in termini di ricaduta di malattia.

Nel presente studio circa il 60% dei pazienti con AIG clinicamente inattiva presentava una persistenza del processo infiammatorio a livello articolare (sinovite subclinica) all'indagine ecografica; nel 20 % circa dei pazienti erano presenti inoltre segni di vascolarizzazione al PD. I risultati che abbiamo ottenuto risultano in linea con quanto già dimostrato da precedenti studi sull'AIG, dove la prevalenza della sinovite subclinica all'ecografia variava dal 69% [27] al 77% [25]. Si segnala inoltre che studi di RM condotti su pazienti con AIG inattiva hanno mostrato una prevalenza di sinovite subclinica sovrapponibile a quella riscontrata nel presente studio [21, 47]. In un recente studio condotto su 88 pazienti con AIG e malattia inattiva, De Lucia *et al.* [28] riporta una prevalenza di sinovite subclinica riscontrata mediante ecografia muscoloscheletrica decisamente inferiore; solo il 22,6% dei pazienti, infatti, presentava anomalie ecografiche a carico della membrana sinoviale compatibili con una diagnosi di sinovite. L'assenza di significative differenze nelle variabili cliniche e demografiche tra le coorti di pazienti studiate, fa sì che una spiegazione plausibile alla discrepanza tra i risultati della prevalenza di sinovite subclinica nei pazienti con AIG dei diversi studi sia da ricercare nell'utilizzo di criteri ecografici più o meno stringenti per definire la sinovite subclinica. Tale

ipotesi è ulteriormente supportata dai risultati ottenuti dal presente studio: applicando infatti una definizione di sinovite subclinica più stringente la prevalenza dell'infiammazione articolare evidenziata mediante metodica B-mode è risultata del 23,7%, quindi del tutto sovrapponibile a quella riscontrata nello studio di De Lucia *et al.* [28].

Al fine di incrementare l'affidabilità dei risultati del nostro studio, in più della metà dei soggetti arruolati la valutazione mediante ecografia muscolo-scheletrica è stata effettuata indipendentemente da due differenti medici con 5 e 10 anni di esperienza in ecografia muscoloscheletrica in malattie reumatologiche dell'età pediatrica. Si segnala che il nostro studio è l'unico a riportare dati sulla riproducibilità della metodica nell'identificare la sinovite subclinica. L'eccellente concordanza tra i due lettori supporta l'affidabilità della metodica nel riscontrare la persistenza di un processo infiammatorio a livello articolare. Un altro dato a supporto della validità dei nostri risultati deriva dal riscontro della persistenza di sinovite al follow-up. Rispetto agli studi ad oggi condotti, nel presente studio l'ecografia muscoloscheletrica è stata eseguita anche in occasione della visita di controllo a distanza di 6 mesi dall'inclusione nello studio. L'ecografia di follow-up, estesa nuovamente a 56 articolazioni, ci ha permesso di valutare la persistenza della sinovite subclinica nelle stesse sedi articolari in cui era stata riscontrata al baseline in circa il 60% dei pazienti.

Nel presente studio il 33,3 % dei pazienti ha presentato una riaccensione della malattia durante il follow-up. A differenza tuttavia di quanto osservato nell'adulto e recentemente nell'AIG da De Lucia *et al.*, i risultati del nostro studio non sembrerebbero confermare il ruolo predittivo della sinovite subclinica per la ricaduta di malattia, anche utilizzando dei criteri ecografici più stringenti per la definizione di presenza/assenza di sinovite subclinica.

Nello studio recentemente pubblicato da De Lucia *et al.* [28] su 88 pazienti con AIG e malattia inattiva la sinovite subclinica aumenta il rischio di flare della malattia di circa quattro volte rispetto ai pazienti senza anomalie ecografiche. Tali risultati sono sovrapponibili a quelli

pubblicati da Miotto e Silva *et al.* [27] su una corte di 35 pazienti con AIG e in netto contrasto con quelli precedentemente pubblicati da Magni Manzoni *et al.* [25], che in uno studio condotto su 39 pazienti con AIG e malattia inattiva non riscontrava alcun valore predittivo della sinovite subclinica sulla riaccensione della malattia.

Alla luce di tale risultato si ritiene pertanto che, a differenza dell'adulto, il riscontro o meno di sinovite subclinica nel paziente pediatrico affetto da AIG in remissione non costituisca un elemento dirimente nella scelta di incrementare o sospendere la terapia in atto.

Dall'analisi multivariata secondo modello di Cox gli unici fattori in grado di predire una riaccensione della malattia nel nostro studio sono risultati la presenza di tenosinovite subclinica con segni di vascolarizzazione al PD all'ecografia basale; il fatto di appartenere alla categoria di AIG oligoarticolare estesa e di aver raggiunto uno stato di remissione clinica in corso di trattamento farmacologico.

Ad oggi il valore prognostico della tenosinovite subclinica nei pazienti con AIG non è ancora stato definito. I nostri risultati sembrano tuttavia supportare quelli di uno studio recentemente pubblicato [48] su una corte di pazienti con AR in cui la concomitante presenza di sinovite e tenosinovite subclinica sarebbe in grado di predire una riaccensione della malattia nei primi 12 mesi dalla remissione clinica.

Considerato il ruolo predittivo della tenosinovite subclinica in termini di ricaduta di malattia che è emerso dal nostro studio, si ritiene che una valutazione ecografica nel paziente affetto da AIG in remissione possa giocare un ruolo determinante nel guidare le scelte terapeutiche di questi pazienti. Questo dato giustifica pertanto che i pazienti affetti da AIG con malattia inattiva vengano sottoposti ad una valutazione ecografica mirata a quelle strutture muscoloscheletriche con componente tendinea, quali il polso e la caviglia, e non estesa a tutti i distretti articolari. I pazienti in remissione in cui viene riscontrata una tenosinovite

subclinica dovranno essere attentamente monitorati sia da un punto di vista clinico che ecografico.

Il valore prognostico delle variabili “categoria di AIG oligoarticolare estesa” e “stato di remissione clinica in corso di trattamento farmacologico” non è inaspettato, in quanto è intuitivo che quei pazienti, che presentano un decorso di malattia più severo e che necessitano quindi di un trattamento farmacologico più intensivo per raggiungere uno stato di remissione, presentino un maggior rischio di ricaduta di malattia. A supporto di tale ipotesi è opportuno sottolineare che la quasi totalità dei pazienti inclusi nello studio che erano in uno stato di remissione clinica in assenza di trattamento farmacologico appartenevano infatti alla categoria di AIG oligoarticolare persistente che è noto avere un decorso più favorevole.

Del tutto inaspettato, ma in linea con i risultati pubblicati da De Lucia *et al.* [23], è la mancanza di una relazione tra la riduzione della posologia o la sospensione del trattamento immunosoppressivo e il rischio di ricaduta. Tale risultato dovrà però essere confermato da un trial randomizzato che permetta di chiarire se effettivamente le modifiche alla terapia nei pazienti in remissione clinica abbiano un ruolo nel predire la riaccensione della flogosi articolare.

Dal presente studio non è emersa una relazione significativa tra i livelli ematici di biomarkers dell’infiammazione e la ricaduta di malattia. Tale dato, specialmente per quanto riguarda le proteine dell’infiammazione quali MRP8 (S100A8), MRP14 (S100A9) e S100A12, che rappresentano dei biomarkers di attività subclinica di malattia [49], è piuttosto inatteso in quanto tali molecole sono riconosciute in letteratura come predittori del rischio di ricaduta della flogosi articolare [30-31]. Tale risultato può essere in parte spiegato dall’esiguità del campione di pazienti che sono stati sottoposti al dosaggio dei biomarkers dell’infiammazione, elemento che costituisce uno dei limiti del presente studio.

Un ulteriore limite del presente studio è dato dal fatto che non abbiamo per ora considerato il valore predittivo della sinovite subclinica sulla progressione del danno articolare.

In conclusione, questo studio ha dimostrato come l'infiammazione subclinica evidenziata mediante ecografia muscoloscheletrica sia tutt'altro che infrequente nei pazienti affetti da AIG in remissione clinica. Tuttavia, dall'analisi dei dati è emerso che la sinovite subclinica non si associ in modo significativo con la ricaduta di malattia, mentre la tenosinovite subclinica con segni di vascolarizzazione al PD ne costituisce un importante fattore predittivo. Ad oggi il valore prognostico della tenosinovite subclinica nell'AIG non era stato mai stato approfondito e quindi possiamo dire che questo risultato rappresenta un'importante innovazione che potrebbe avere risvolti determinanti sulla terapia e sul monitoraggio clinico ed ecografico dei pazienti con malattia inattiva.

6 BIBLIOGRAFIA

1. Ravelli A, Martini A. Juvenile idiopathic arthritis. *Lancet* 2007;369:767-78.
2. Petty RE, Southwood TR, Manners P, Baum J, Glass DN, Goldenberg J, *et al.* International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001. *J Rheumatol* 2004;31:390-2.
3. Thomson W, Donn R. Juvenile idiopathic arthritis genetics - what's new? What's next? *Arthritis Res* 2002;4:302-6.
4. Doria AS, Babyn PS, Feldman B. A critical appraisal of radiographic scoring systems for assessment of juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Radiol* 2006;36:759-72.
5. Babyn P, Doria AS. Radiologic investigation of rheumatic diseases. *Rheum Dis Clin North Am* 2007;33:403-40.
6. Gilkeson G, Polisson R, Sinclair H, Vogler J, Rice J, Caldwell D, *et al.* Early detection of carpal erosions in patients with rheumatoid arthritis: a pilot study of magnetic resonance imaging. *J Rheumatol* 1988;15:1361-6.
7. Wallace CA. Current management of juvenile idiopathic arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2006;20:279-300.
8. Wallace CA, Ruperto N, Giannini E; Childhood Arthritis and Rheumatology Research Alliance; Pediatric Rheumatology International Trials Organization; Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group. Preliminary criteria for clinical remission for select categories of juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2004;31:2290-4.
9. Wallace CA, Huang B, Bandeira M, Ravelli A, Giannini EH. Patterns of clinical remission in select categories of juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2005;52:3554-62.
10. Ravelli A, Martini A. Remission in juvenile idiopathic arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2006;24:S105-10.

11. Wallace CA, Ravelli A, Huang B, Giannini EH. Preliminary validation of clinical remission criteria using the OMERACT filter for select categories of juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2006;33:789-95.
12. McQueen FM. Magnetic resonance imaging in early inflammatory arthritis: what is its role? *Rheumatology (Oxford)* 2000;39:700-6.
13. McQueen FM, Stewart N, Crabbe J, Robinson E, Yeoman S, Tan PL, et al. Magnetic resonance imaging of the wrist in early rheumatoid arthritis reveals a high prevalence of erosions at four months after symptom onset. *Ann Rheum Dis* 1998;57:350-6.
14. Jimenez-Boj E, Nöbauer-Huhmann I, Hanslik-Schnabel B, Dorotka R, Wanivenhaus AH, Kainberger F, *et al.* Bone erosions and bone marrow edema as defined by magnetic resonance imaging reflect true bone marrow inflammation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2007;56:1118-24.
15. Collado P, Jousse-Joulin S, Alcalde M, Naredo E, D'Agostino MA. Is ultrasound a validated imaging tool for the diagnosis and management of synovitis in juvenile idiopathic arthritis? A systematic literature review. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2012;64:1011–9.
16. Wakefield RJ, Balint PV, Szkudlarek M, Filippucci E, Backhaus M, D'Agostino MA, *et al.*, for the OMERACT 7 Special Interest Group. Musculoskeletal ultrasound including definitions for ultrasonographic pathology. *J Rheumatol* 2005;32:2485–7.
17. Roth J, Jousse-Joulin S, Magni-Manzoni S, Rodriguez A, Tzaribachev N, Iagnocco A, et al, and the Outcome 1222 Roth *et al.* Measures in Rheumatology Ultrasound Group. Definitions for the sonographic features of joints in healthy children. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2015;67:136–42.
18. Collado P, Vojinovic J, Nieto JC, Windschall D, Magni-Manzoni S, Bruyn GA, *et al.*; Omeract Ultrasound Pediatric Group. Toward Standardized Musculoskeletal

- Ultrasound in Pediatric Rheumatology: Normal Age-Related Ultrasound Findings. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2016 Mar;68(3):348-56.
19. Roth J, Ravagnani V, Backhaus M, Balint P, Bruns A, Bruyn GA, *et al.*; OMERACT Ultrasound Group. Preliminary Definitions for the Sonographic Features of Synovitis in Children. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2017 Aug;69(8):1217-1223.
20. Brown AK, Quinn MA, Karim Z, Conaghan PG, Peterfy CG, Hensor E, *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.
21. Brown AK, Conaghan PG, Karim Z, Quinn MA, Ikeda K, Peterfy CG, *et al.* An explanation for the apparent dissociation between clinical remission and continued structural deterioration in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2008;58:2958-67.
22. Magni-Manzoni S, Epis O, Ravelli A, Klersy C, Veisconti C, Lanni S, *et al.* Comparison of clinical versus ultrasound-determined synovitis in juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2009;61:1497-504.
23. Haslam KE, McCann LJ, Wyatt S, Wakefield RJ. The detection of subclinical synovitis by ultrasound in oligoarticular juvenile idiopathic arthritis: a pilot study. *Rheumatology (Oxford)* 2010;49:123-7.
24. Rebollo-Polo M, Koujok K, Weisser C, Jurecsek R, Bruns A, Roth J. Ultrasound findings on patients with juvenile idiopathic arthritis in clinical remission. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2011;63:1013-9.
25. Magni-Manzoni S, Scirè CA, Ravelli A, Klersy C, Rossi S, Muratore V, *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.

26. Zhao Y, Rascoff NE, Iyer RS, Thapa M, Reichley L, Oron AP, *et al.* Flares of Disease in Children with Clinically Inactive Juvenile Idiopathic Arthritis Were Not Correlated with Ultrasound Findings. *J Rheumatol* 2018;45:851-857.
27. Miotto E, Silva VB, Mitraud SAV, Furtado RNV, Natour J, Len CA, Terreri MTSELRA. Patients with juvenile idiopathic arthritis in clinical remission with positive power Doppler signal in joint ultrasonography have an increased rate of clinical flare: a prospective study. *Pediatr Rheumatol Online J* 2017;15:80.
28. De Lucia O, Ravagnani V, Pregolato F, Hila A, Pontikaki I, Gattinara M, *et al.* Baseline ultrasound examination as possible predictor of relapse in patients affected by juvenile idiopathic arthritis (JIA). *Ann Rheum Dis* 2018;77:1426-31.
29. Gerss J, Roth J, Holzinger D, Ruperto N, Wittkowski H, Frosch M, *et al.*; Paediatric Rheumatology International Trials Organization (PRINTO). Phagocyte-specific S100 proteins and high-sensitivity C reactive protein as biomarkers for a risk-adapted treatment to maintain remission in juvenile idiopathic arthritis: a comparative study. *Ann Rheum Dis*. 2012 Dec;71(12):1991-7.
30. Foell D, Wulffraat N, Wedderburn LR, *et al.* Methotrexate withdrawal at 6 vs 12 months in Juvenile Idiopathic Arthritis in remission: a randomized clinical trial. *JAMA* 2010;303:1266-73.
31. Schulze zur Wiesch A, Foell D, Frosch M, Vogl T, Sorg C, Roth J. Myeloid related proteins MRP8/MRP14 may predict disease flares in juvenile idiopathic arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2004 May-Jun; 22(3):368-73.
32. Giannini EH, Brewer EJ Jr. Standard methodology for Segment I, II, and III Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group studies. II. Analysis and presentation of data. *J Rheumatol* 1982;9:114-22.

33. Ruperto N, Ravelli A, Pistorio A, Malattia C, Viola S, Cavuto S, *et al.* The Italian version of the Childhood Health Assessment Questionnaire (CHAQ) and the Child Health Questionnaire (CHQ). *Clin Exp Rheumatol* 2001;19:S91-5.
34. Cook EB, Stahl JL, Lowe L, *et al.* Simultaneous measurement of six cytokines in a single sample of human tears using microparticle-based flow cytometry: allergics vs non-allergics. *J Immunol Methods*. 2001;254:109–118.7.
35. Collins DP, Luebering BJ, Shaut DM. T-lymphocyte functionality assessed by analysis of cytokine receptor expression, intracellular cytokine expression, and femtomolar detection of cytokine secretion by quantitative flow cytometry. *Cytometry*.1998;33:249–255.
36. Magnani A, Pistorio A, Magni-Manzoni S, Falcone A, Lombardini G, Bandeira M, *et al.* Achievement of a state of inactive disease at least once in the first 5 years predicts better outcome of patients with polyarticular juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2009;36:628-34.
37. Bartoli M, Taro M, Magni-Manzoni S, Pistorio A, Traverso F, Viola S, *et al.* The magnitude of early response to methotrexate therapy predicts long-term outcome of patients with juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis* 2008;67:370-4.
38. Prince FH, Twilt M, ten Cate R, van Rossum MA, Armbrust W, Hoppenreijns EP, *et al.* Long-term follow-up on effectiveness and safety of etanercept in juvenile idiopathic arthritis: the Dutch national register. *Ann Rheum Dis* 2009;68:635-41.
39. Guzman J, Oen K, Tucker LB, Huber AM, Shiff N, Boire G, *et al.* The outcomes of juvenile idiopathic arthritis in children managed with contemporary treatments: results from the ReACCh-Out cohort. *Ann Rheum Dis* 2015;74:1854-60.
40. Hayward K, Wallace CA. Recent developments in anti-rheumatic drugs in pediatrics: treatment of juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Res Ther* 2009;11:216.

41. Ruperto N, Martini A. Emerging drugs to treat juvenile idiopathic arthritis. *Expert Opin Emerg Drugs* 2011;16:493-505.
42. Cellerini M, Salti S, Trapani S, D'Elia G, Falcini F, Villari N. Correlation between clinical and ultrasound assessment of the knee in children with mono-articular or pauci-articular juvenile rheumatoid arthritis. *Pediatr Radiol* 1999;29:117-23.
43. Kane D, Balint PV, Sturrock RD. Ultrasonography is superior to clinical examination in the detection and localization of knee joint effusion in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003;30:966-71.
44. Wakefield RJ, Green MJ, Marzo-Ortega H, Conaghan PG, Gibbon WW, McGonagle D, *et al.* Should oligoarthritis be reclassified? Ultrasound reveals a high prevalence of subclinical disease. *Ann Rheum Dis* 2004;63:382-5.
45. Anandarajah A, Thiele R, Giampoli E, Monu J, Seo GS, Feng C *et al.* Patients with rheumatoid arthritis in clinical remission manifest persistent joint inflammation on histology and imaging studies. *J Rheumatol* 2014;41:2153-60.
46. Ramírez J, Celis R, Usategui A, Ruiz-Esquide V, Faré R, Cuervo A, *et al.* Immunopathologic characterization of ultrasound-defined synovitis in rheumatoid arthritis patients in clinical remission. *Arthritis Res Ther* 2016;18:74.
47. Nusman CM, Hemke R, Lavini C, Schonenberg-Meinema D, van Rossum MA, Dolman KM, *et al.* Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging can play a role in predicting flare in juvenile idiopathic arthritis. *Eur J Radiol* 2017;88:77-81.
48. Filippou G, Sakellariou G, Scirè CA, Carrara G, Rumi F, Bellis E, *et al.* The predictive role of ultrasound-detected tenosynovitis and joint synovitis for flare in patients with rheumatoid arthritis in stable remission. Results of an Italian multicentre study of the Italian Society for Rheumatology Group for Ultrasound: the STARTER study. *Ann Rheum Dis* 2018;77:1283-9.

49. Frosch M, Strey A, Vogl T, Wulffraat NM, Kuis W, Sunderkötter C, *et al.* Myeloid-related proteins 8 and 14 are specifically secreted during interaction of phagocytes and activated endothelium and are useful markers for monitoring disease activity in pauciarticular-onset juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000;43:628-37.