



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI VERONA

DIPARTIMENTO DI
MEDICINA

**DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE MEDICHE CLINICHE E SPERIMENTALI**

CICLO XXII°

TESI DI DOTTORATO

VITAMINA D E ARTRITE REUMATOIDE
(S.S.D. Medicina 16/Reumatologia)

Coordinatore: Prof. Enzo Bonora

Tutor: Prof. Silvano Adami

Dottorando: Dott.ssa Elena Fracassi

INDICE

- Introduzione pag. 3
- Scopo dello studio pag. 6
- Materiale e metodi pag.7
- Analisi statistica pag. 8
- Risultati pag. 9
- Discussione pag. 11
- Conclusioni pag.16
- Tabelle pag. 17
- Bibliografia pag. 25

INTRODUZIONE

Vitamina D e Malattie Reumatiche

Da tempo sono noti e documentati sia il fondamentale ruolo che la Vitamina D (Vit. D) e i suoi metaboliti esercitano sull'omeostasi del calcio e sul trofismo del tessuto osseo sia la presenza di Osteoporosi (O) nell'Artrite Reumatoide (AR), indipendentemente dall'uso di cortisonici o di altri farmaci osteopenizzanti.

Dopo alcuni studi condotti su casistiche di dimensioni ridotte e con risultati contraddittori, negli anni '90 fu dimostrato in più studi che i livelli sierici di 25OHD e 1,25(OH)2D3 erano ridotti in pazienti affetti da AR rispetto ai soggetti sani di pari età (1, 2). Fu anche riscontrato un aumento degli indici di riassorbimento osseo con dati contraddittori riguardanti il PTH e gli indici di neoformazione (1, 3).

Le alterazioni del patrimonio vitaminico D nell'AR furono ritenute alla base dell'O sistemica più che a quella iuxta-articolare, essendo quest'ultima più verosimilmente riconducibile all'attivazione citochimica locale.

In quegli stessi anni vari studi dimostrarono lo stretto rapporto fra attività di malattia, gravità dell'O e aumento del turnover osseo (4-7).

Nel 1993, peraltro, uno studio che prevedeva quale end point secondario il rapporto inverso fra livelli di Vit. D ed attività dell'AR evidenziava un rapporto inverso fra i due parametri (2).

Questo dato fu più tardi confermato nel 1998 da Oelzner (4) in uno studio che aveva come obiettivo quello di investigare i rapporti fra l'attività di malattia ed i livelli sierici della Vit. D, del PTH e dei parametri di turnover osseo.

Nei 96 pazienti studiati i livelli sierici di 1,25(OH)2D3 e del PTH risultavano negativamente correlati (rispettivamente $p < 0.01$ e $p < 0.05$) con la PCR. La correlazione inversa si confermava in vari

sottogruppi: soggetti in trattamento cortisonico e non, donne in pre e post menopausa, uomini e donne. Lo studio confermò anche un aumento dei markers di riassorbimento osseo (Piridinolina e Desossipiridinolina) nei soggetti con PCR più elevata e con una tendenza alla riduzione della fosfatasi alcalina ossea, che viceversa risultava aumentata nei soggetti con livelli di 1,25(OH)2D3 e PTH più elevati.

I risultati dello studio consentivano di concludere che l'aumento di attività di malattia nell' AR si associava ad alterato metabolismo della Vit. D, ad aumentato riassorbimento osseo e a ridotta neoformazione ossea.

Nel 2006 Oelzner ha ampliato questi dati pubblicando uno studio su 146 pazienti in cui sono stati determinati BMD, calcio ionizzato, calcio totale, 25D3, 1,25D3, PTH, IL-6, Osteocalcina, VES, PCR, Piridinolina e Desossipiridinolina urinarie (3).

Nel 30% dei pazienti è stato riscontrato un aumento del calcio ionizzato. In questi soggetti, rispetto ai normocalcemici, risultavano significativamente aumentati VES e PCR e ridotti PTH, 1,25D3 e BMD lombare. L'autore conclude ipotizzando che l'attività di malattia, liberando più Calcio dall'osso, induce una inibizione del PTH e l'attivazione della Vit. D3 a 1,25Vit. D3.

E' interessante rilevare come in entrambi gli studi di Oelzner la 25(OH)Vit. D non fosse ridotta.

Nel 1997 Inaba (5) ha pubblicato i risultati di uno studio condotto su 27 pazienti, 21 dei quali con AR e 6 con Osteoartrosi (OA) nei quali sono stati dosati i metaboliti della Vit. D e alcune citochine nel liquido sinoviale e nel siero. La 25OHD, l'1,25(OH)2D e il 24,25(OH)2D sono risultati significativamente aumentati nei liquidi sinoviali dell'AR rispetto all'OA. Il rapporto 1,25/25D (indice dell'attività 1alfa-idrossilasica) è risultato aumentato nel liquido sinoviale rispetto al siero e positivamente correlato con i livelli di IL-1alfa, IL-1 beta e IL-2 del liquido sinoviale. Il rapporto 24,25/25OHD è risultato correlato con i livelli di 1,25(OH)2D solo nel liquido sinoviale e non nel

siero.

In uno studio di Cutolo (6) è stato studiato il rapporto tra il ritmo stagionale dell'AR (valutata con il DAS 28) e i livelli di 25OHD3 nel nord e nel sud Europa. Sono stati studiati 54 pazienti italiani e 64 estoni versus 35 controlli italiani e 30 estoni.

I livelli di 25OH sono risultati più bassi nel nord Europa rispetto al sud, e il DAS28 è risultato rispettivamente più alto, soprattutto nel momento in cui i livelli vitaminici risultavano più bassi, ossia in inverno. In particolare, una correlazione negativa fra DAS 28 e livelli di 25OHD è stata riscontrata nella popolazione italiana.

Sembrerebbe pertanto che condizioni non particolarmente critiche e croniche di alterazione del patrimonio vitaminico D (testimoniate dalla presenza del ritmo stagionale) possano meglio evidenziare il rapporto fra attività di malattia e Vit. D. Occorre comunque considerare che in nord Europa la prevalenza dell'AR è superiore rispetto al sud (7).

Studi molto interessanti su larghe popolazioni sono stati condotti per verificare il rapporto fra stato vitaminico D, quindi la disponibilità di 25OHVit. D, e la prevalenza di malattie autoimmuni.

Recentemente i Nurses Health Study I e II hanno dimostrato che le donne appartenenti al quintile più alto di introito di Vit. D, hanno il 40% di probabilità in meno di sviluppare la Sclerosi Multipla (SM) (8).

Nel 2004 Merlino (9) ha pubblicato uno studio condotto su oltre 29.000 donne di età compresa fra 55 e 69 anni non affette da AR al momento dell'inizio dello studio nel 1986. Un questionario autosomministrato con 127 items ha valutato la dieta condotta dalle donne, compresa l'eventuale supplementazione di Vit. D. Dopo 11 anni di follow up, sono stati registrati 152 casi di AR. Un introito maggiore di Vit. D (terzile più alto) era inversamente associato al rischio di AR e questo dato era valido sia per la Vit. D presente nella dieta sia per quella supplementata. I latticini sembravano essere fra i cibi più protettivi verso l'insorgenza di AR. Va notato comunque che queste conclusioni erano

supportate da significatività statistiche non raggiunte o modeste.

Nel 1995 bassi livelli di 25OHD, ma non di 1,25OHD, sono stati riscontrati anche nel LES (10) e, nel 1999, nella Sindrome di Sjogren (11); in entrambe le circostanze veniva documentata una relazione inversa con l'attività di malattia valutata mediante il recettore dell'IL-2.

Nella Spondilite Anchilosante l'1,25D e il PTH sono risultati ridotti e correlavano inversamente con l'attività di malattia, valutata a mezzo del BASDAI (12,13), e con i livelli di TNF-alfa (13).

SCOPO DELLO STUDIO

Il razionale sopra esposto ha indotto il gruppo SIR per lo studio dell'Osteoporosi e delle Malattie Metaboliche Ossee, di cui il nostro Centro è coordinatore, ad avviare un studio per valutare lo stato vitaminico D nei pazienti affetti da AR e per indagare le eventuali correlazioni dei livelli di vitamina D con indici fisiopatologici, parametri clinici di malattia e di coinvolgimento osseo in questi pazienti.

L'end point primario dello studio è quindi quello di valutare lo stato vitaminico D in pazienti affetti da AR. Gli end points secondari prevedono anche la correlazione fra stato vitaminico D e attività di malattia, valori densitometrici e indici di turnover osseo.

MATERIALE E METODI

Si tratta di uno studio cross-sectional osservazionale multicentrico che ha coinvolto 1191 pazienti (1014 donne, 177 uomini) da 22 centri reumatologici uniformemente distribuiti sul territorio italiano (6 al nord, 8 al centro e 8 al sud). Sono stati inclusi donne e uomini di età compresa tra i 30 e i 75 anni con una diagnosi, da non meno di 2 anni, di AR secondo i criteri ACR 1987 e che hanno firmato consenso informato.

Sono stati esclusi pazienti che avevano assunto vitamina D in bolo orale o parenterale negli ultimi 12 mesi, i pazienti affetti da insufficienza epatica e renale di grado severo e da diabete insulino-dipendente e quelli non disponibili a firmare il consenso informato alla partecipazione allo studio.

Sono stati inoltre esclusi pazienti incapaci di deambulare senza assistenza e quelli con protesi d'anca bilaterale.

Sono stati raccolti dati relativi alla patologia: durata di malattia, presenza di manifestazioni extra-articolari, numero di articolazioni tumefatte e dolenti. Sono stati utilizzati i criteri ACR per valutare lo stato di remissione di malattia. Si sono raccolti dati relativi allo stato funzionale della malattia mediante l'Health Assessment Questionnaire disability Index (HAQ) (14), la valutazione della classe funzionale secondo Steinbroker (15) e il Mobility Activities of daily Living (ADL) (16). Sono stati inoltre raccolti dati relativi all'età della menopausa e all'abitudine al fumo. Sono state registrate le terapie specifiche per l'artrite con DMARD's (methotrexate, ciclosporina, sali d'oro, sulfasalazina, antimalarici, azatioprina, leflunomide) e con anti-TNF. Di ciascun farmaco è stata registrata la durata del trattamento, se in atto o assunto in passato e gli anni di esposizione cumulativa alla terapia. È stata valutata attentamente anche l'assunzione di terapia steroidea. I pazienti sono stati suddivisi in base all'assunzione o meno di steroidi al momento dell'osservazione; per ciascun paziente che assumeva terapia steroidea sono stati riportati la durata della terapia e la dose cumulativa di steroide assunta. Sono state raccolte informazioni circa l'assunzione di farmaci in grado di influenzare il metabolismo

fosfo-calcico inclusi i bisfosfonati e i supplementi di calcio e vitamina D. I supplementi di vitamina D assunti negli anni precedenti allo studio sono stati valutati attentamente ed espressi come dose media giornaliera. Sono stati inoltre somministrati : un questionario per valutare l'introito di calcio giornaliero ed uno relativo all'esposizione solare nei mesi compresi tra Marzo a Settembre (espresso in minuti di esposizione giornaliera come : <10, da 10 a 20, 20-30 o > 30) . Sono stati misurati il peso e l'altezza (Harpender stadiometer) ed è stato calcolato l'indice di massa corporea (BMI: Kg/m²) per ciascun soggetto.

La valutazione bioumorale prevedeva l'esecuzione locale del Fattore Reumatoide, degli anticorpi anti-citrullina e degli esami biochimici di routine. Per ciascun paziente sono state inoltre raccolte nel periodo compreso tra giugno 2007 e maggio 2008 °. quattro aliquote di siero, conservate a -70° e successivamente inviate presso il nostro centro per il dosaggio del paratormone (PTH) e della 25(OH)vitamina D. Sono stati utilizzati Kits ELISA (IDS Co. Golden, UK) con un coefficiente di variazione inter-assay compreso tra il 5% e il 15%.

Per quanto riguarda la valutazione ossea sono stati utilizzati densitometri Hologic (17 centri) e Lunar (2 centri) per la valutazione della densità minerale ossea (BMD) al femore e alla colonna in un sottogruppo di 449 pazienti. I valori ottenuti dal Lunar sono stati standardizzati all'Hologic. Il coefficiente di variazione in vivo testato in ciascun centro prima di iniziare lo studio era compreso tra lo 0.6 e l'1.2% alla colonna e tra lo 0.95 e il 2.2% al femore.

Per la valutazione radiologica delle erosioni è stato utilizzato lo Sharp score modificato da Van der Heijde (18)

Questo studio è stato approvato dai Comitati Etici di ciascun centro partecipante.

ANALISI STATISTICA

La raccolta e l'analisi dei dati erano centralizzati ed eseguite come prestabilito dal nostro Centro.

Il PTH e la 25(OH)D sono stati trasformati in funzioni logaritmiche per normalizzare la loro distribuzione. Le differenze tra sottogruppi sono state valutate mediante t-test o analisi di varianza (ANOVA); è stata utilizzata l'analisi di covarianza (ANCOVA) per correggere i dati per i possibili fattori confondenti. Sono stati utilizzati il test del Chi-quadrato per i dati di categoria. L'associazione tra le variabili continue è stata esaminata mediante la correlazione dei coefficienti di Person e mediante regressione lineare multivariata. Tutte le variabili continue sono riportate come media \pm deviazione standard (SD). Tutte le analisi sono state condotte mediante il software SPSS.

RISULTATI

Gran parte della popolazione studiata è di sesso femminile (85%) con un'età media di 58 ± 11.8 anni. Le tabelle 1 e 2 riportano le principali caratteristiche della popolazione studiata. La malattia in generale è risultata essere più severa nelle donne rispetto agli uomini. In 23 pazienti l'analisi bioumorale non è stata possibile per cause tecniche. Seicentotrentaquattro pazienti (54%) non risultavano assumere supplementi di vitamina D; il 16% assumeva una dose ≤ 440 unità (UI) di colecalciferolo o vitamina D3 mentre il 27% dei pazienti ne assumevano quantità giornaliere ≥ 800 UI. Infine sedici pazienti erano in trattamento con metaboliti 1- alfa- idrossilati della vitamina D.

L'introito calcico medio era pari a 750 ± 330 mg al giorno.

Al momento dell'arruolamento l'88% dei pazienti assumevano DMARD's: il 50.8% methotrexate, il 15.9% leflunomide, il 10.9% antimalarici di sintesi e il 3.2% sulfasalazina o ciclosporina. Il 45.5% dei pazienti era in trattamento con anti-TNF, per la maggior parte in associazione con il methotrexate.

La distribuzione dei pazienti secondo le classi funzionali di Steinbrocker era la seguente: il 79% erano nelle Classi I e II, il 19% erano nella Classe III e l'1.8% erano in Classe IV.

La remissione clinica in accordo con i criteri ACR è stata osservata nel 23.2% dei pazienti.

La media dei livelli di 25(OH)D e la percentuale di pazienti con deficienza di vitamina D con due differenti valori cut-off (20 ng/ml e 30 ng/ml) sono illustrati nella tabella 3. Nei pazienti che non assumevano supplementi di vitamina D, si è osservata una correlazione negativa significativa ($p < 0.05$) tra i livelli sierici di 25(OH)D e l'età, i valori medi tra giugno e dicembre sono risultati significativamente più alti rispetto ai valori rilevati tra gennaio e maggio (23.5 vs 19.1 ng/ml, rispettivamente, dati non presentati).

Tra i pazienti che non assumevano vitamina D il logaritmo dei livelli di 25(OH)D (\ln 25(OH)D) correlava in maniera significativa con il logaritmo del PTH, con il BMI, con l'HAQ, con l'ADL e con il numero di articolazioni tumefatte.

La tabella 5 mostra i livelli di 25(OH)D nei pazienti non supplementati con vitamina D nelle variabili categoriche. I livelli di 25(OH)D erano significativamente più bassi nei pazienti con malattia non in remissione o scarsamente responsivi alla terapia, e nei pazienti appartenenti alle Classi funzionali più alte di Steinbroker. Il tempo passato all'aperto durante i mesi estivi (sun exposure score), ma non la terapia steroidea, si è dimostrato un buon predittore dei livelli di 25(OH)D.

I pazienti con gli indici di malattia peggiori erano quelli che stavano meno tempo al sole (Tabella 6) ed erano quelli con maggior rischio di ipovitaminosi D. L'associazione tra attività di malattia e livelli di 25(OH)D è stata così riesaminata aggiustando i valori per il tempo di esposizione solare e per il BMD (altro fattore fortemente determinante i valori di 25(OH)D). I risultati della re-analisi sono evidenziati in neretto nelle tabelle 4 e 5.

La presenza di erosioni articolari radiologicamente valutabili (score > 1 utilizzando lo van der Heijde modified Sharp Score) a mani e piedi è stata riscontrata nel 64.1% dei pazienti.

I principali indicatori clinici di attività di malattia e le caratteristiche potenzialmente associate al BMD sono mostrate nelle tabelle 7 e 8 per i pazienti senza e con erosioni.

I pazienti con erosioni avevano generalmente una malattia più severa e che durava da più anni rispetto ai pazienti senza erosioni, ed erano più spesso in trattamento con anti-TNF e con bisfosfonati. I valori densitometrici espressi in T-score sia al femore che alla colonna erano significativamente inferiori nei pazienti con erosioni ossee rispetto ai pazienti senza erosioni.

Nel gruppo di pazienti non supplementati con vitamina D i livelli di PTH sono risultati significativamente più alti nei pazienti con erosioni, mentre le concentrazioni di 25(OH)D sono risultate simili nei due gruppi di pazienti.

I valori medi del BMD, i livelli sierici di 25(OH)D e di PTH, aggiustati per i fattori potenzialmente associati all'attività di malattia e al metabolismo osseo, sono riassunti nella tabella 9. La differenza tra i pazienti con e senza erosioni si riduce, ma rimane statisticamente significativa per il BMD al femore e per il PTH. L'esclusione degli uomini e delle donne in pre-menopausa non ha modificato la significatività statistica.

DISCUSSIONE

Abbiamo osservato che la deficienza di vitamina D (livelli di 25-OH-D < 20 ng/ml) è frequente nei pazienti affetti da Artrite Reumatoide con valori pari al 43% dell'intera coorte. Questa percentuale saliva al 52% nei pazienti che non assumevano supplementazione vitaminica ma rimaneva comunque elevata nei pazienti supplementati con 400 o 800 U di vitamina D al giorno con una prevalenza dello stato carenziale rispettivamente del 33 e del 31%. La percentuale aumentava ulteriormente se si considerava come cut-off il valore di 30 ng/ml (tabella 3).

E' stato recentemente stabilito dai risultati di numerosi studi epidemiologici che le concentrazioni ottimali di 25(OH)D sia per il tessuto osseo che per i numerosi effetti extrascheletrici sono compresi

tra i 36 e i 40 ng/ml (17). Tali livelli sono stati raggiunti solo dal 9% dei nostri pazienti (dati non mostrati), questo significa che, almeno per i pazienti affetti da AR, per ottenere livelli di 25(OH)D sopra i 38 ng/ml nel 90% della popolazione, sarebbero necessarie dosi quotidiane di vitamina D ben maggiori rispetto alle 800 U/die.

I nostri risultati sono simili a quelli riportati da altri studi di proporzioni minori dove si osservava una prevalenza di deficit vitaminico D oscillante tra il 63% e il 30% nei pazienti affetti da AR (18,19).

Come ci si aspettava il logaritmo dei valori di 25(OH)D era negativamente correlato ($p < 0.04$) con il logaritmo dei livelli di PTH, ma ciò si osservava solo nei pazienti che non assumevano supplementi di vitamina D (tabella 4).

Nei pazienti non supplementati con vitamina D, i livelli di 25(OH)D erano associati a diverse variabili.

L'esposizione al sole e il BMI sono noti fattori di rischio per la deficienza di vitamina D (20), questa associazione è stata confermata anche dal presente studio. La relazione inversa osservata tra livelli di vitamina D e l'attività di malattia e la disabilità sono interessanti ma di non chiara interpretazione.

Cutolo et al. (21) hanno riportato, in pazienti con AR, una significativa correlazione inversa tra i livelli di 25(OH)D e il DAS 28. Patel et al (22) hanno trovato una relazione inversa tra livelli di 25(OH)D e numero di articolazioni dolenti, DAS28, e HAQ, ma solo nei pazienti con malattia all'esordio e non nei pazienti con malattia insorta da più di uno o due anni. Nonostante il nostro studio abbia incluso pazienti con diverse caratteristiche di malattia sia per quanto riguardava l'attività di malattia, sia per la durata di malattia, sia per i trattamenti assunti, le correlazioni da noi trovate tra livelli di vitamina D e attività di malattia erano altamente significative ; questo è giustificato dalle proporzioni dello studio, 6-10 volte maggiori rispetto ai precedenti studi.

La percentuale di pazienti con deficienza di vitamina D era del 30% più bassa nei pazienti con malattia in remissione o giudicati good-responders alla terapia in atto. Inoltre sia gli indici di funzionalità sia il mobility ADL score si correlavano negativamente con i livelli di 25(OH)D con una $p < 0.0001$.

Abbiamo trovato un'associazione inversa tra tempo di esposizione al sole, raggiungimento della remissione di malattia, risposta alla terapia, stadio funzionale di Steinbroker, HAQ e numero di articolazioni tumefatte (tab.6).

Ciò significa che i pazienti con artrite non controllata e/o con una severa compromissione funzionale, sono meno inclini ad uscire di casa e quindi ad esporsi alla luce del sole, di conseguenza hanno un maggior rischio di deficienza vitaminica D.

Tuttavia, quando è stata rianalizzata la correlazione tra attività di malattia (DAS) e deficienza di vitamina D correggendo i livelli di 25(OH)D per l'esposizione solare e per il BMI, l'associazione rimaneva statisticamente significativa per la remissione di malattia, la risposta alla terapia, per l'HAQ score e per il mobility ADL score (tab 4 e 5). Questo significa che i pazienti con elevata attività di malattia sono comunque a rischio di deficienza vitaminica D indipendentemente dall'esposizione solare e dal BMI, per ragioni ancora sconosciute.

Per quanto riguarda il rapporto tra erosioni articolari, BMD, PTH, livelli di 25(OH)D, abbiamo osservato che nei pazienti con artrite erosiva i livelli di BMD al femore (total hip) e alla colonna erano significativamente inferiori rispetto ai pazienti senza erosioni. E' stata inoltre osservata una associazione positiva tra la presenza di erosioni e alti livelli di PTH.

Si è osservato che la densità minerale ossea al femore rimaneva significativamente correlata alle erosioni anche quando il dato veniva corretto per le principali variabili in grado di influenzare la massa ossea come l'età, gli indici di flogosi (VES, PCR), lo stato funzionale (HAQ, ADL), il BMI, i livelli di 25(OH)D, la terapia con glucocorticoidi o con bisfosfonati.

Le relazioni esistenti tra erosioni ossee e metabolismo minerale sono state oggetto di numerosi studi. In una subanalisi dello studio COBRA (23) è stata osservata una correlazione tra i marker urinari di riassorbimento osseo deossipiridinolino e piridinolino e lo score erosivo. In numerosi studi è stata riportata una correlazione positiva statisticamente significativa tra BMD della mano ed erosioni;

anche se questo dato era in qualche maniera intuibile considerando la vicinanza tra le erosioni e la zona di rilevamento del BMD (24-26). Una correlazione tra densità minerale ossea al femore e alla colonna e score erosivo di Larsen è stata osservata in una coorte di 204 pazienti con artrite di recente insorgenza (27); in una sub-analisi dello studio BeSt (28) la progressione dello score erosivo era più rapida nei pazienti con i valori di BMD più bassi (29).

Recentemente Solomon et al (30) hanno riportato una correlazione significativa tra lo score erosivo e il BMD del femore (total-hip), ma non con il BMD della colonna lombare.

In modelli a multivariabili che includevano l'età, l'indice di massa corporea e la dose cumulativa di glucocorticoidi, né la densità minerale al femore, né quella alla colonna correlavano con le erosioni focali. Quest'ultima osservazione, ma anche i risultati di altri studi, suggeriscono che il danno funzionale associato alle erosioni e quindi alla severità della malattia sono responsabili dell'osteoporosi generalizzata.

I dati del nostro studio, invece, hanno mostrato una correlazione tra la densità minerale ossea al femore e la presenza di erosioni che rimaneva significativa anche dopo la correzione dei dati, non solo per lo stato funzionale della malattia, ma anche per la durata di malattia, il sesso, lo stato di menopausa, l'assunzione di glucocorticoidi o DMARD's noti per influire negativamente sul metabolismo osseo. I nostri risultati sono giustificati dalle grosse dimensioni del campione, 7 volte maggiore rispetto a quello analizzato da Salomon et al.

In accordo con i risultati di Salomon et al anche noi abbiamo trovato che la relazione tra BMD femorale ed erosioni è maggiore rispetto a quella osservata per il BMD lombare. Questo dato è inaspettato dal momento che è l'osso trabecolare ad essere metabolicamente più attivo e di conseguenza ci si aspetterebbe una maggior influenza delle citochine proinfiammatorie in questa sede. D'altra parte il calo di densità minerale ossea che comunemente si osserva con l'avanzare dell'età a livello lombare (31) potrebbe ridurre la forza di correlazione tra BMD lombare ed erosioni.

In questo studio è inoltre emersa una associazione tra erosioni e livelli di PTH sierici, non si è invece osserva una correlazione tra erosioni e livelli di 25(OH)D. I livelli di 25(OH)D, come atteso, si correlavano negativamente con il PTH (dati non mostrati), ma aggiustando i livelli di PTH per i livelli di 25(OH)D, la sua associazione con la presenza di erosioni diventava ancora più forte (dati non mostrati). Questi risultati sono di difficile interpretazione e possono essere giustificati da diverse ipotesi.

Nei pazienti affetti da AR potrebbe esserci una riduzione dell'attività dell'1-alfa-idrossilasi, enzima in grado di convertire la 25(OH)D in 1,25(OH)₂D. In alcuni studi si è osservata una forte associazione tra i livelli circolanti di 1,25(OH)₂D e l'attività di malattia (32). Tuttavia dobbiamo riconoscere che per una comprensione più completa delle nostre osservazioni, andrebbero considerati anche altri fattori come ad esempio i potenziali effetti dei farmaci comunemente utilizzati nella terapia dell'artrite reumatoide sull'1-alfa-idrossilasi, sul metabolismo del fosfato, sulla secrezione e sull'attività del PTH. La forza di questo studio risiede nelle sue dimensioni. Tuttavia vi sono alcune importanti limitazioni.

La grande variabilità in termini di trattamento e durata della malattia. Le misurazioni densitometriche sono state ottenute con differenti densitometri. Nello studio sono stati inclusi anche i pazienti in terapia con bisfosfonati, questo potrebbe aver influito sulle rilevazioni densitometriche. D'altra parte questi pazienti non avrebbero dovuto essere esclusi dal momento che il trattamento con bisfosfonati è la conseguenza di un pregresso riscontro di ridotta densità minerale ossea.

Essendo questo uno studio osservazionale, le radiografie delle mani non sono state eseguite simultaneamente alla densitometria ossea, il tempo trascorso tra la radiografia e la densitometria ossea oscillava tra 0 e 16 mesi; questo intervallo era tuttavia inferiore (<4 mesi) nei pazienti con AR di recente insorgenza (< 3 anni).

CONCLUSIONI

In questo studio abbiamo trovato che, nei pazienti affetti da artrite reumatoide:

1. Vi è una forte correlazione inversa tra attività di malattia, disabilità e livelli sierici di 25(OH)D.
2. L'indice di massa corporea (BMI) e l'esposizione al sole sono i migliori predittori dei livelli sierici di 25 (OH) vitamina D.
3. L'associazione tra attività di malattia, score funzionale e livelli di 25(OH) vitamina D rimane statisticamente significativa anche dopo aver aggiustato i livelli di 25(OH) vitamina D per il BMI e per l'esposizione al sole.

Le cause di queste associazioni andranno indagate in studi longitudinali allo scopo di valutare la risposta clinica alla somministrazione di supplementi di vitamina D e allo scopo di individuare le dosi necessarie a portare i livelli di 25(OH)D sopra il livello ottimale di 38 ng/ml.

4. Vi è una correlazione tra erosioni e densità minerale indipendente dallo stato funzionale della malattia e dai più noti fattori in grado di influenzare la massa ossea nei soggetti adulti.
5. Anche i livelli di PTH si associano, in maniera indipendente, alla presenza di erosioni con un meccanismo non associato alla deficienza di vitamina D.

Verosimilmente l'osteoporosi generalizzata e le erosioni ossee condividono gli stessi meccanismi fisiopatologici e il trattamento con farmaci antiassorbitivi dovrebbe essere tenuto in considerazione per la terapia dell'artrite al suo esordio. Studi longitudinali, mirati a valutare gli effetti di farmaci in grado di prevenire la perdita di massa ossea e di sopprimere i livelli di PTH potrebbero confermare la rilevanza clinica di queste associazioni.

TABELLE

Tabella 1: Principali caratteristiche (variabili continue) della popolazione in studio divise per genere. La P si riferisce alle differenze tra i sessi: sono riportati anche i valori inferiori a 0.20, indicati come non significativi (n.s.). Il Numero si riferisce ai pazienti per i quali è stato raccolto ciascun dato.

	WOMEN			MEN			p
	Number	Mean	95% C.I.	Number	Mean	95% C.I.	
Age	1014	58.7	58.0 / 59.4	177	60.0	58.4 – 61.6	n.s.
BMI (kg(m ²))	1014	25.0	24.7 / 25.3	177	25.9	25.4 – 26.5	0.01
Disease duration (mo.)	786	138	131 / 145	131	138	119 – 157	n.s.
Swollen Joints (N)	1014	3.12	2.81 / 3.43	177	1.98	1.53 – 2.43	0.003
HAQ score	1003	1.18	1.13 / 1.24	176	0.87	0.75 – 0.99	0.000
Mobility ADL	1007	8.41	3.02 / 8.22	176	7.24	6.85 – 7.63	0.000
25(OH)D ng/ml	992	24.0	23.2 / 25.0	176	24.7	22.9 – 26.6	n.s.
PTH pg/ml	991	25,0	24.1 / 25.9	176	24.9	23.2 / 26.6	n.s.

Tabella 2: Principali caratteristiche (variabili di categoria) divise per genere della popolazione in studio. la P si riferisce alle differenze tra i due sessi.

	WOMEN	MEN	P (Chi square)
Pre-menopause	24.5%	--	--
Smoking	20.8%	20.3%	n.s.
Extra-art. manifestations	15.3%	13.6%	n.s.
Functional State > 1	66.8%	58.2%	n.s.
DMARDs therapy	88.0%	89.3%	n.s.
Anti-TNF therapy	46.5%	39.5%	n.s.
Remission	22.9%	24.9%	n.s.
Good treatment response	43.7%	46.9%	n.s.
Osteoporosis therapy	29.6%	13.6%	<0.01
Corticosteroid therapy	86.5%	83.1%	n.s.
Rheumatoid Factor +	63.3%	66,3%	n.s.
Anti CCP +	66,3%	66,7%	n.s.
Sun exposure > 30 min	33.5%	51.4%	0.01

Tabella 3. Media e frequenza dei valori di 25(OH)D inferiori a 20 o 30 ng/ml in rapporto ai range di supplementazione con vitamina D. Tutte le differenze (sia percentuali ,sia medie) per i 3 range di supplementazione vitaminica sono risultati statisticamente significativi.

D3 supplementation IU/day	N.	25(OH)D ng/ml mean (S.D.)	25(OH)D <20 ng/ml (%)	25(OH)D <30ng/ml (%)
None	654	21.0 (10.2)	51.8%	84.4%
≤440	196	26.1 (12.4)	33,2%	74.5%
≥ 800	318	29.2 (18.5)	31.4%	63.5%

Tabella 4. Correlazioni tra il logaritmo naturale della 25(OH)D (Ln 25(OH)D) e alcune variabili continue nei pazienti che non assumevano supplementi di vitamina D.

Sono riportati i valori della P al di sotto di 0.2. Sono evidenziati i coefficienti di variazione per i valori di 25(OH)D aggiustati per il BMI e l'esposizione solare.

	Correlation coefficients (95% C.I.)	Regression Coefficients (r)	P
Ln PTH pg/ml	-0.076 (-0.121 . -0.031)	0.114	0.031
BMI (kg(m ²))	-0.015 (-0.022 . -0.007)	0.135	0.000
Swollen Joints (N.)	-0.009 (-0.017 . -0.002) -0.006 (-0.013 . -0.002)	0.087 0.050	0.121 0.149
HAQ score	-0.101 (-0.140 . -0.062) -0.069 (-0.113 . -0.025)	0.175 0.106	0.000 0.002
Mobility ADL	-0.027 (-0.038 . -0.016) -0.020 (-0.032 . -0.008)	0.165 0.116	0.000 0.001

Tabella 5. Media dei livelli di 25(OH)D e percentuale di pazienti con valori <20 ng/ml in rapporto alle variabili categoriali nei pazienti non supplementati con vitamina D. I valori della P sono stati ottenuti mediante ANOVA e test del Chi quadrato e sono riportati solo quando inferiori a 0.2. I valori medi di 25(OH)D aggiustati per il BMI e l'esposizione solare (ANCOVA) con le relative P sono evidenziati in neretto.

Categorical variable		Mean	Standard Deviation	P	% with 25(OH)D < 20 ng/ml	P
Disease Remission	No	21.7 21.8	11.3 11.1	0.008 0.057	51.6%	0.000
	Yes	24.2 23.6	12.1 12.1		35.4%	
Steinbrocker state	1	24.3 24.0	13.0 12.8	0.000 0.001	40.7%	0.001
	>1	21.1 21.2	10.4 10.1		52.0%	
DMARDs	No	19.6 19.6	8.4 8.1	0.012 0.010	59.0%	0.009
	Yes	22.7 22.6	11.6 11.3		46.2%	
Anti-TNF therapy	No	21.8 21.7	11.5 11.1	0.168 0.134	51.0%	0.026
	Yes	22.9 22.9	11.6 11.2		44.0%	
Treatment Response	Good	23.6 23.4	13.1 12.1	0.010 0.020	41.4%	0.000
	Fair	21.5 21.5	10.0 9.9		51.2%	
	No	20.4 20.5	10.4 10.1		58.8%	
Glucocorticoid therapy	No	23.0 23.0	10.5 10.1	n.s. n.s	42.2%	0.100
	Yes	22.1 22.1	11.6 11.3		48.8%	
Sun exposure	<10 min	20.7	10.3	0.008	50.5%	0.049
	10-20min	21.1	9.1		52.3%	
	20-40min	22.3	12.1		51.4%	
	>40 min.	23.9	13.0		42.5%	

Tabella 6. Associazione tra esposizione solare e indicatori di attività di malattia (percentuale di pazienti o media \pm SD).

Sun exposure time (minutes)	<10	10-20	20-30	>30	P =Chi-square or ANOVA
Remission = No	85.8%	70.3%	76.3%	73.7%	0.007
Response to treatment = Partial or No	61.1%	54.6%	50.6%	52.9%	0.05
Steinbrocker state > 1	69.6%	66.5%	59.0%	57.4%	0.001
Swollen Joints (N.)	4.3 \pm 6.3	3.2 \pm 4.9	2.4 \pm 4.0	2.1 \pm 3.3	0.000
HAQ score	1.4 \pm 0.9	1.2 \pm 0.9	1.0 \pm 0.8	0.9 \pm 0.7	0.000

Table 7: Confronto tra pazienti con e senza erosioni (media \pm SD) corretto per le variabili continue

	Erosions		P
	yes	No	
Number	763	428	
Age (years)	59,2 \pm 11,0	58,4 \pm 11,4	Ns
Height (cm)	161,4 \pm 7,4	163,0 \pm 7,8	<0,001
Weight (kg)	65,2 \pm 12,7	67,5 \pm 13,1	0,004
BMI (kg/m ²)	25,0 \pm 4,5	25,4 \pm 4,4	Ns
Duration of RA (months)	155 \pm 107	107 \pm 92	<0,001
No of swollen joints	3,3 \pm 5,1	2,4 \pm 4,0	0,003
Cumulative oral GC dose	13,5 \pm 15,2	8,5 \pm 11,7	<0,001
HAQ	1,24 \pm 0,86	0,96 \pm 0,78	<0,001
ADL	8,53 \pm 3,80	7,71 \pm 2,77	<0,001
Serum 25OHD* (ng/ml)	21,7 \pm 12,0	20,7 \pm 9,2	Ns
Serum PTH* (pg/ml)	25,9 \pm 14,0	23,1 \pm 11,6	0,010
Lumbar spine BMD (T score)	-1,75 \pm 1,24	-1,50 \pm 1,41	0,05
Total hip BMD T (score)	-1,64 \pm 1,08	-1,10 \pm 1,24	<0,001

* sottogruppo di pazienti non supplementati con vitamina D

Table 8: Associazione tra variabili discrete (percentuali) dei pazienti ed erosioni ossee

Bone Erosions	Yes	No	P
Rheumatoid Factor positive	68.5	55.2	<0,001
Anti-CCP positive	71.2	58.1	<0,001
Smoking	21.0	20.3	Ns
Postmenopausal status	77.2	72.4	0,09
Extra-articular manifestation	16.5	12.4	0,05
DMARD treatment	71.2	73.4	Ns
GC treatment	86.2	85.5	Ns
Biologic therapy	50.7	36.2	<0,001
Vitamin D supplementation	47.6	40.2	0,014
Bisphosphonate therapy	29.3	23.4	0,026

Table 9 : Media (± SE and 95% confidence interval) per BMD, 25(OH)D e livelli di PTH dopo aggiustamento multiplo (età, sesso, stato di menopausa, durata di malattia, numero di articolazioni tumefatte, HAQ, ADL, stadio funzionale, terapia steroidea, BMI, terapia con bisfosfonati) nei pazienti con AR con e senza erosioni ossee. Il BMD è stato anche aggiustato per i livelli di 25(OH)D.

	Erosions		P
	yes	No	
25OHD* (ng/ml)	21,8±11,1	20,2±9,0	ns
PTH* (pg/ml)	25,7±13,1	23,2±11,0	0,025
Lumbar spine BMD (T score)	-1,67±1,21	-1,60±1,43	ns
Total hip BMD (T score)	-1,55±1,04	-1,18±1,05	0.005

*sottogruppo di pazienti no trattati con vitamina D

BIBLIOGRAFIA

- 1) Rico H, Revilla M, Alvarez de Buergo M, Villa LF. Serum osteocalcin and calcitropic hormones in a homogeneous group of patients with rheumatoid arthritis: its implication in the osteopenia of the disease. *Clin Exp Rheumatol*. 1993 Jan-Feb;11(1):53-6.
- 2) Kroger H, Penttila IM, Alhava EM. Low serum vitamin D metabolites in women with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*. 1993;22(4):172-7.
- 3) Oelzner P, Lehmann G, Eidner T, Franke S, Muller A, Wolf G, et al. Hypercalcemia in rheumatoid arthritis: relationship with disease activity and bone metabolism. *Rheumatol Int*. 2006 Aug;26(10):908-15. Epub 2006.
- 4) Oelzner P, Muller A, Deschner F, Huller M, Abendroth K, Hein G, et al. Relationship between disease activity and serum levels of vitamin D metabolites and PTH in rheumatoid arthritis. *Calcif Tissue Int*. 1998 Mar;63(3):193-8.
- 5) Inaba M, Yukioka K, Furumitsu Y, Murano M, Goto H, Nishizawa Y et al. Positive correlation between levels of IL-1 or IL-2 and 1,25(OH)2D/25-OH-D ratio in synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. *Life Sci*. 1997;61(10):977-85.
- 6) Cutolo M, Sulli A, Otsa K, Laas K, Yprus M, Lehtme R, et al. Circannual rhythms of rheumatoid arthritis disease activity and vitamin D serum levels: south versus north europe. *Ann Rheum Dis* 2006;65(Suppl II):93.
- 7) Kauppinen-Mäkelin R, Tahtela R, Loyttyniemi E, Karkkainen J, ValimakiMJ. A high prevalence of hypovitaminosis D in Finnish medical in- and outpatients. *J Intern Med* 2001; 249 :559-63.
- 8) Munger KLM, Zhang SM, O'Reilly E, et al. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis . *Neurology* 2004;62:60-5.
- 9) Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Saag KG. Vitamin D intake is

- inversely associated with rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 2004 Jan;Vol 50,No.1:72-77.
- 10) Muller K, Kriegbaum NJ, Baslund B, Sorensen OH, Thymann M, Bentzen K. Vitamin D3 metabolism in patients with rheumatoid diseases: low serum levels of 25-hydroxyvitamin D3 in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol.* 1995 Jul;14(4):397-400.
 - 11) Bang B, Asmussen K, Sorensen OH, Oxholm P. Reduced 25-dihydroxyvitamin D levels in primary Sjogren's syndrome. Correlations to disease manifestations. *Scand J Rheumatol.* 1999;28(3):180-3.
 - 12) Lange U, Jung O, Teichmann J, Neeck G. Relationship between disease activity and serum levels of vitamin D metabolites and parathyroid hormone in ankylosing spondylitis. *Osteoporos Int.* 2001 Dec;12(12):1031-5.
 - 13) Lange U, Teichmann J, Strunk J, Muller-Ladner U, Schmidt KL. Association of 1.25 vitamin D3 deficiency, disease activity and low bone mass in ankylosing spondylitis. *Osteoporos Int.* 2005 Dec;16(12):1999-2004.
 - 14) Fries JF, Spitz P, Kraines RG, Holman HR. Measurement of patient outcome in arthritis. *Arthritis Rheum* 1980; 23(2):137-145.
 - 15) Steinbrocker O, Traeger CH, Batterman RC: Therapeutic criteria for rheumatoid arthritis. *JAMA* 1949, **140**:659-666
 - 16) Lawton, M.P., and Brody, E.M. "Assessment of older people: Self-maintaining and instrumental activities of daily living." *Gerontologist* 9:179-186, 1969.
 - 17) Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* 2006;84:18 –28.
 - 18) Oelzner P, Muller A, Deschner F, Huller M, Abendroth K, Hein G et al. Relationship between

disease activity and serum levels of vitamin D metabolites and PTH in rheumatoid arthritis.

Calcif Tissue Int 1998; 62(3):193-198.

- 19) Kroger H, Penttila IM, Alhava EM. Low serum vitamin D metabolites in women with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 1993; 22(4):172-177.
- 20) Snijder MB, van Dam RM, Visser M, Deeg DJ, Dekker JM, Bouter LM et al. Adiposity in relation to vitamin D status and parathyroid hormone levels: a population-based study in older men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:4119-23.
- 21) Cutolo M, Otsa K, Laas K, Yprus M, Lehtme R, Secchi ME et al. Circannual vitamin d serum levels and disease activity in rheumatoid arthritis: Northern versus Southern Europe. *Clin Exp Rheumatol* 2006; 24(6):702-704.
- 22) Patel S, Farragher T, Berry J, Bunn D, Silman A, Symmons D. Association between serum vitamin D metabolite levels and disease activity in patients with early inflammatory polyarthritis. *Arthritis Rheum* 2007; 56(7):2143-2149.
- 23) Garnero P, Landewe R, Boers M, Verhoeven A, van der Linden S, Christgau S, et al. Association of baseline levels of markers of bone and cartilage degradation with long-term progression of joint damage in patients with early rheumatoid arthritis: the COBRA study. *Arthritis Rheum* 2002;46:2847–56.
- 24) Haugeberg G, Lodder MC, Lems WF, Uhlig T, Orstavik RE, Dijkmans BA, et al. Hand cortical bone mass and its associations with radiographic joint damage and fractures in 50-70 year old female patients with rheumatoid arthritis: cross sectional Oslo- Truro-Amsterdam (OSTRA) collaborative study. *Ann Rheum Dis* 2004;63:1331–4.
- 25) Jensen T, Hansen M, Jensen KE, Podenphant J, Hansen TM, Hyldstrup L. Comparison of dual X-ray absorptiometry (DXA), digital X-ray radiogrammetry (DXR), and conventional radiographs in the evaluation of osteoporosis and bone erosions in patients with rheumatoid

- arthritis. *Scand J Rheumatol* 2005;34: 27–33.
- 26) Stewart A, Mackenzie LM, Black AJ, Reid DM. Predicting erosive disease in rheumatoid arthritis. A longitudinal study of changes in bone density using digital X-ray radiogrammetry: a pilot study. *Rheumatology (Oxford)* 2004;43:1561–4.
- 27) Larsen A, Dale K, Eek M. Radiographic evaluation of rheumatoid arthritis and related conditions by standard reference films. *Acta Radiol* 1977;18:481–91.
- 28) Goekoop-Ruiterman YP, de Vries-Bouwstra JK, Allaart CF, van Zeben D, Kerstens PJ, Hazes JM, et al. Clinical and radiographic outcomes of four different treatment strategies in patients with early rheumatoid arthritis (the BeSt study). *Arthritis Rheum* 2005;52:3381–90.
- 29) Guler-Yuksel M, Allaart CF, Goekoop-Ruiterman YP, de Vries-Bouwstra JK, van Groenendael JH, Mallee C, et al. Changes in hand and generalised bone mineral density in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009;68:330–6.
- 30) Solomon DH, Finkelstein JS, Shadick N, LeBoff MS, Winalski CS, Stedman M, Glass R, Brookhart MA, Weinblatt ME, Gravallese EM. The relationship between focal erosions and generalized osteoporosis in postmenopausal women with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2009; 60:1624-31.
- 31) Watts NB. Fundamentals and pitfalls of bone densitometry using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA). *Osteoporos Int* 2004;15: 847–854
- 32) Oelzner P, Muller A, Deschner F, Huller M, Abendroth K, Hein G, et al. Relationship between disease activity and serum levels of vitamin D metabolites and PTH in rheumatoid arthritis. *Calcif Tissue Int.* 1998;62:193-8.