

RUBRICA

Studio dello stato vitaminico D in pazienti affetti da artrite reumatoide

Razionale e disegno della rilevazione cross-sectional programmata dal gruppo SIR per lo studio dell'osteoporosi e delle malattie metaboliche dello scheletro

Study of vitamin D status of rheumatoid arthritis patients

Rationale and design of a cross-sectional study by the osteoporosis and metabolic bone diseases study group of the Italian Society of Rheumatology (SIR)

B. Frediani, M. Rossini, S. Adami, G. Bianchi, O. Di Munno, L. Sinigaglia, M. Antonelli, G. Minisola, a nome del gruppo SIR per lo Studio dell'Osteoporosi e delle Malattie Metaboliche dello Scheletro

SUMMARY

The fundamental role of Vitamin D has been long known in regulating calcium homeostasis and bone metabolism. An increased contribution of Vitamin D was recently described in association with a lower incidence of Rheumatoid Arthritis (RA). This must not be surprising, as the immunomodulating effects of Vitamin D are clear, which have been attributed protective effects in autoimmune disorders such as some chronic inflammatory bowel diseases, multiple sclerosis and type I diabetes. An interaction was suggested between Vitamin D metabolism and inflammation indexes through mediation of TNF- α which is also especially involved in osteoclastic resorption and therefore in bone loss processes. Some preliminary data would indicate an association between seasonal changes of Vitamin D serum levels, latitude and disease activity (DAS28) in RA patients.

Consequently, the Osteoporosis and Metabolic Bone Diseases Study Group of SIR believes that there are grounded reasons for assessing the Vitamin D status of RA patients in order to investigate whether this is to be related to physiopathological and clinical aspects of disease other than those of bone involvement. Primary end point of the study will be to assess the levels of 25 OH Vitamin D in RA patients. Secondary endpoints will include correlation with disease activity, densitometry values and bone turnover. The cross-sectional study will enrol patients of both sex genders, age ranging between 30 and 75 years according to the 1988 ACR criteria, onset of symptoms at least 2 years prior to study enrollment. Patients will be excluded suffering from osteometabolic diseases, liver and kidney insufficiency and those administered Vitamin D boli in the previous 12 months. Disease activity will be evaluated with the HAQ. Haematochemical tests and femoral and lumbar bone densitometry will be performed, unless recently undergone by patients. Blood levels of 25 OH C Vitamin D and PHT and of the two bone remodeling markers (bone alkaline phosphatase and serum CTX) will be measured, as well. Patient enrolment will start on February 2007 and will last 4 months. By the end of 2007 the study will be concluded and results will be published.

Reumatismo, 2006; 58(4):314-318

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 (OP) 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).

Indirizzo per la corrispondenza:

Prof. Bruno Frediani
Istituto di Reumatologia, Università di Siena
Ospedale Le Scotte
Viale Bracci - 53100 Siena
E-mail: fredianibruno@tiscali.it

Le alterazioni del patrimonio vitaminico D nell'AR furono ritenute alla base dell'OP 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'OP e aumento del turnover osseo (4-7).

Nel 1993, peraltro, uno studio che prevedeva quale end point secondario il rapporto 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 1,25 Vit. D3.

È 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-1 α , IL-1 β 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.

Sembrirebbe 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 Merlini (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 auto-somministrato 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 α (13).

VITAMINA D, IMMUNITÀ E FLOGOSI

Come possono essere spiegati i dati sin qui esposti da un punto di vista fisiopatologico?

È la carenza di Vit. D o della sua attivazione ad aumentare la flogosi per effetto immunomodulatore oppure è la flogosi a determinare ipercalcemia e quindi bassi livelli di Vit. D attivata?

È evidente che entrambe le possibilità possano coesistere anche se la maggior parte dei dati tende a fare prevalere la prima ipotesi, essendo più consolidati i rilievi che enfatizzano gli effetti immunomodulatori della Vit. D e dei suoi metaboliti.

È noto che l'utilizzo di 1,25 Vit. D inibisce la proliferazione di linfociti, la liberazione di numerose citochine e la produzione di immunoglobuline.

Ciò avviene in particolare a carico dei linfociti attivati ed di alcune sottopopolazioni implicate nella patogenesi dell'AR e della sclerosi multipla (14). Analoghi della Vit. D attivata, come l'1- α Vit. D, sono stati impiegati con successo per prevenire o curare l'artrite del ratto indotta da collagene (15-17). Nel 1999 Tetlow ha dimostrato nell'uomo che l'1,25 blocca nei fibroblasti prelevati da sinovie artritiche l'attivazione da parte dell'IL-1 della produzione di metalloproteasi e prostaglandine E2; il blocco non si verifica, invece, nei condrociti (18).

Di particolare interesse è lo studio effettuato nel 2000 da Hein su 20 soggetti affetti da AR ai quali è stato somministrato per due mesi 1 microgrammo di 1 α (OH)Vit. D e nei quali sono stati registrati significative diminuzioni della PCR e della VES, riduzione del numero delle articolazioni dolenti e tumefatte e attenuazione della rigidità mattutina; peraltro, non si riducevano i livelli di TNF α e dell'IL-6 e aumentavano quelli dell'IL-4 (19).

La scoperta del recettore della Vit. D (VDR) nelle cellule del sistema immunitario e l'accertata produzione di Vit. D attivata da parte delle cellule dendritiche attivate (20) ha reso verosimile la possibilità che la Vit. D possa avere fisiologicamente del-

le proprietà immunoregolatorie. Il VDR, uno dei recettori ormonali nucleari, è stato anche identificato nei monociti, nelle cellule presentanti l'antigene e nei linfociti T attivati.

Il ruolo fisiologico della Vit. D nel sistema immunitario è suggerito dalla presenza del VDR negli organi linfoidi primari quali il midollo osseo e il timo, sedi di sviluppo e differenziazione del sistema immune.

È stato inoltre osservato che i topi KO per il VDR posseggono cellule T infiammatorie ed iperattive che, negli animali suscettibili a malattie infiammatorie intestinali, provocano forme fulminanti (21).

Come è noto, le cellule T sono centrali nella fisiopatologia di malattie autoimmuni come l'AR, le malattie infiammatorie intestinali e la SM. Coinvolte sono soprattutto le cellule T helper I, che producono interferone gamma e TNF α , mentre le cellule T helper II producono IL-4, fattore inibente la differenziazione delle cellule di tipo I.

La Vit. D attivata inibisce nell'animale l'accumulo dei linfociti nei linfonodi, riduce il numero di cellule che producono TNF α e interferone gamma e aumenta i livelli di IL-4 e TGF-1.

Secondo Cantorna e Merlino, l'azione in vitro della Vit. D è quella di sopprimere le cellule T helper I e di attivare le T helper II (22-24).

In conclusione, sulla base dei dati oggi disponibili, è possibile affermare che il sistema endocrino Vit. D/VDR gioca un ruolo che nella regolazione dell'omeostasi calcica e del metabolismo osseo, in congiunzione con le azioni degli altri ormoni calciotropi. Tuttavia, tale complesso sistema, estende la sua influenza e il suo controllo sulla proliferazione cellulare e sulla modulazione del sistema immune il cui coinvolgimento in corso di AR è ben noto (25).

IL PROGETTO DI STUDIO

Il razionale sopra esposto e le rilevazioni epidemiologiche più recenti (6, 9) hanno indotto il gruppo SIR per lo studio dell'Osteoporosi e delle Malattie Metaboliche a ritenere che vi siano sufficienti motivazioni per valutare lo stato vitaminico D nei pazienti affetti da AR e per indagare le eventuali correlazioni con parametri indicativi di coinvolgimento osseo e con alcuni indici fisiopatologici e clinici di malattia.

Lo studio cross-sectional prevede di arruolare pazienti di entrambi i sessi di età compresa fra 30 e 75 anni affetti da AR diagnosticata secondo i cri-

teri ACR del 1987 da non meno di due anni e in classe funzionale di Steinbrocker 1-3.

Saranno esclusi soggetti affetti da patologie osteometaboliche, da insufficienza epatica e renale, coloro che nei 12 mesi precedenti abbiano fatto uso di Vit. D in bolo per via orale o parenterale e quanti non avranno dato il consenso informato alla partecipazione allo studio. Saranno consentite somministrazioni quotidiane di vit. D.

L'end point primario dello studio è 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 turnover osseo. L'attività di malattia sarà valutata calcolando l'HAQ.

Saranno somministrati anche un questionario per valutare la esposizione alla luce solare ed un questionario per valutare l'intake di calcio vit. D.

I pazienti dovranno esibire esami ematochimici generali e densitometria ossea lombare e femorale recenti, che altrimenti dovranno essere eseguiti.

È previsto il dosaggio ematico centralizzato della 25 OH Vit. D, del PTH e di due marker del rimodellamento osseo: la fosfatasi alcalina ossea e il CTX sierico. L'inizio dell'arruolamento dei pazienti è previsto nel Febbraio 2007 e si protrarrà per 4 mesi. Saranno coinvolti circa 20 Centri con una previsione di circa 2000 pazienti valutati.

La conclusione dello studio è prevista per la fine del 2007.

RIASSUNTO

Da tempo è noto l'importante ruolo della vitamina D nella regolazione dell'omeostasi del calcio e del metabolismo osseo. Recentemente è stato riportato che un aumentato apporto di vitamina D si associa ad una più bassa incidenza di Artrite Reumatoide (AR). Ciò non deve sorprendere perché da tempo sono noti per la vitamina D effetti immunomodulatori, ai quali sono stati attribuiti ruoli protettivi nei confronti di altre malattie autoimmuni quali alcune patologie infiammatorie croniche intestinali, la sclerosi multipla ed il diabete di tipo I. A ciò si devono aggiungere alcune segnalazioni relative ad un'interazione tra il metabolismo della vitamina D e gli indici di flogosi, mediata in particolare dal TNF α , il quale, tra l'altro, è particolarmente coinvolto anche nel riassorbimento osteoclastico e quindi nei processi di perdita ossea. Alcune segnalazioni preliminari indicherebbero un'associazione tra le variazioni stagionali dei livelli sierici di vitamina D, la latitudine ed il grado di attività di malattia (DAS28) in pazienti affetti da AR.

Per questo motivo il gruppo SIR per lo Studio delle Malattie dell'osso ritiene che vi siano sufficienti motivazioni per valutare lo stato vitaminico D nei pazienti affetti da AR e per indagare se questo si correla con alcuni indici fisiopatologici e clinici di malattia, non limitati a quelli che esprimono il coinvolgimento osseo. L'end point primario dello studio sarà quello di valutare i livelli di 25 OH Vit. D nei pazienti affetti da AR. Gli end points secondari prevedono anche la correlazione con l'attività di malattia, i valori densitometrici, il turnover osseo. Lo studio cross sectional, prevede di arruolare pazienti di entrambi i sessi di età compresa fra i 30 e i 75 anni con A.R., secondo i criteri ACR del 1988, con esordio dei sintomi da almeno 2 anni. Saranno esclusi soggetti affetti da patologie osteometaboliche, da insufficienza epatica e renale e che hanno fatto negli ultimi dodici mesi boli di vit. D. L'attività di malattia sarà valutata con l'HAQ. I pazienti dovranno aver eseguito recentemente esami ematochimici generali e una densitometria ossea lombare e femorale, che altrimenti dovranno essere eseguiti. È previsto il dosaggio ematico della 25 OH Vit. D, del PTH e di due marker del rimodellamento osseo: la fosfatasi alcalina ossea e il CTX sierico. L'arruolamento dei pazienti inizierà nel febbraio 2007 e si protrarrà per 4 mesi. A fine 2007 si prevede la conclusione dello studio e successivamente la pubblicazione dei risultati.

Parole chiave - Vitamina D, artrite reumatoide, flogosi, immunità.

Key words - Vitamin D, rheumatoid arthritis, inflammation, immunity.

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; 11: 53-6.
2. Kroger H, Penttila IM, Alhava EM. Low serum vitamin D metabolites in women with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 1993; 22: 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; 26: 908-15.
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; 63: 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: 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, Valimäki MJ. 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; 50: 72-7.
 10. Muller K, Kriegbaum NJ, Baslund B, Sorensen OH, Thyman 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; 14: 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: 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; 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; 16: 1999-2004.
 14. Muller k, Bendtzen K. Inhibition of human T lymphocyte proliferation and cytokine production by 1,25-dihydroxyvitamin D3. Differential effects on CD45RA+ and CD45RO+ cells. *Autoimmunity* 1992; 14: 37-43.
 15. Kitamura A. Study of the effects of a new vitamin D3 derivative on type II collagen-induced arthritis in an experimental rat model of rheumatoid arthritis. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi* 1994; 68.
 16. Tsuji M, Fujii K, Nakano T, Nishii Y. 1 alpha-hydroxyvitamin D3 inhibits type II collagen-induced arthritis in rats. *FEBS Lett* 1994; 337: 248-50.
 17. Larsson P, Mattsson L, Klareskog L, Johnsson C. A vitamin D analogue (MC 1288) has immunomodulatory properties and suppresses collagen-induced arthritis (CIA) without causing hypercalcaemia. *Clin Exp Immunol* 1998; 114: 277-83.
 18. Tetlow LC, Woolley DE. The effects of 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D(3) on matrix metalloproteinase and prostaglandin E(2) production by cells of the rheumatoid lesion. *Arthritis Res* 1991; 1: 63-70.
 19. Hein G, Oelzner P. Vitamin D metabolites in rheumatoid arthritis: findings- hypotheses-consequences. *Z Rheumatol* 2000; 59 Suppl 1: 28-32.
 20. Fritsche J, Mondal K, Ehrnsperger A, Andreesen R, Kreutz M. Regulation of 25-hydroxyvitamin D3-1 alpha-hydroxylase and production of 1 alpha 25-dihydroxyvitamin D3 by human dendritic cells. *Blood* 2003; 102: 3314-6.
 21. Froicu M, Weaver V, Wynn TA, McDowell MA, Welsh JE, Cantorna MT. A crucial role for the vitamin D receptor in experimental inflammatory bowel diseases. *Mol Endocrinol* 2003; 17: 2386-92.
 22. Cantorna MT, Hayes CE, DeLuca HF. 1,25-dihydroxyvitamin D3 is a positive regulator for the two anti-encephalitogenic cytokines TGF-beta 1 and IL-4. *J Immunol* 1998; 160: 5314-9.
 23. Cantorna MT, Humpal-Winter J, DeLuca HF. In vivo upregulation of interleukin-4 is one mechanism underlying the immunoregulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *Arch Biochem Biophys* 2000; 377: 135-8.
 24. Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Saag KG. Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 72-7.
 25. Hayes CE, Nashold FE, Spach KM. The immunological function of the vitamin D endocrine system. *Cell Mol Biol* 2003; 49: 277-300.