

**NIVELES SÉRICOS DE VITAMINA D EN DIFERENTES FORMAS DE
PRESENTACION DE LA ARTRITIS REUMATOIDE**

MARIO ANDRES QUINTANA DUQUE, MD

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO MEDICINA INTERNA
ESPECIALIDAD MEDICINA INTERNA
BOGOTA
2011**

**NIVELES SÉRICOS DE VITAMINA D EN DIFERENTES FORMAS DE
PRESENTACION DE LA ARTRITIS REUMATOIDE**

MARIO ANDRES QUINTANA DUQUE, MD

CODIGO: 598099

**Trabajo de grado presentado para optar al título
de Especialista en Medicina Interna**

DIRIGIDO POR:

ANTONIO IGLESIAS GAMARRA, MD

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO MEDICINA INTERNA

ESPECIALIDAD MEDICINA INTERNA

BOGOTA

2011

CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCION	5
2. OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo General	12
2.2 Objetivos Específicos	12
3. MATERIALES Y METODOS	13
3.1 Pacientes	13
3.1.1 Criterios de Inclusión	13
3.1.2 Criterios de Exclusión	13
3.2 Variables Clínicas y Paraclínicas	14
3.3 Técnicas de Laboratorio	14
3.3 Análisis Estadístico	15
4. RESULTADOS	18
5. DISCUSIÓN	21
6. CONCLUSIONES	25
7. TABLAS	26
8. REFERENCIAS	31

NIVELES SÉRICOS DE VITAMINA D EN DIFERENTES FORMAS DE PRESENTACION DE LA ARTRITIS REUMATOIDE RESUMEN EJECUTIVO

Introducción: Existe una alta prevalencia de hipovitaminosis D en artritis reumatoide (AR). La mayoría de estudios se han realizado en población caucásica. Se desconoce si en población latinoamericana con AR existe hipovitaminosis D. También se desconoce si la hipovitaminosis es similar en todos los pacientes o si difiere de acuerdo al grupo étnico.

Objetivos: Evaluar si los pacientes colombianos con AR tienen deficiencia de 25-hidroxivitamina D [25(OH)D] y determinar si existen diferencias en los niveles de 25(OH)D respecto al grupo de no-casos pareado por edad.

Métodos: Estudio de corte transversal con 3 grupos de casos y 3 grupos de no-casos pareados por edad. Los grupos de casos fueron: 1) Artritis idiopática juvenil (AIJ) (n=80), 2) Artritis reumatoide temprana (ART) (n=56), 3) Artritis reumatoide de inicio tardío (ARIT) (n=102). El grupo de no-casos pareado por edad incluyó 249 personas. El análisis estadístico se realizó con el test de Fisher's.

Resultados: Se encontró alta prevalencia de hipovitaminosis D en todos los grupos. La prevalencia de insuficiencia/deficiencia de 25(OH)D fue mayor en ARIT, 92.15%. 77.5% y 67.78% presentaron insuficiencia/deficiencia en AIJ y ART respectivamente. El único grupo que tuvo diferencias respecto a su grupo control fue el de ART. La diferencia en los niveles de 25(OH)D entre ART vs. ART No-casos fue 5.61 ng/mL (p=0.03)

Conclusion: En población colombiana con AR hay alta prevalencia de hipovitaminosis D. La deficiencia de 25(OH)D podría tener mayor asociación con la enfermedad en ART que en ARIT o AIJ. Se necesitan estudios adicionales que corroboren esta afirmación.

1. INTRODUCCION

La Artritis Reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune inflamatoria crónica caracterizada por presentar daño articular progresivo de pequeñas y grandes articulaciones. Afecta al 1% de la población general¹ y a largo plazo produce deterioro en la funcionalidad y calidad de vida en los pacientes. Se considera que después de 12 años de evolución de la enfermedad el 80% de los pacientes se encuentran parcialmente limitados y el 16% tiene una limitación total². Se ha demostrado que en los primeros 2 a 3 años de evolución de la AR son determinantes en predecir el pronóstico a largo plazo de la enfermedad y que el tratamiento precoz con medicamentos modificadores de la enfermedad (DMARDs) y/o terapia biológica mejora el desenlace clínico y radiológico en estos pacientes³⁻⁴. En la práctica clínica del médico internista es muy frecuente la consulta de pacientes con artritis reumatoide (AR); en muchas ocasiones el servicio de medicina interna es quien debe hacer la primera aproximación diagnóstica y terapéutica a este tipo de pacientes y en un porcentaje de casos no despreciable es el servicio que en definitiva ofrece la atención en salud a los pacientes con AR. La AR es una enfermedad que se presenta con mayor frecuencia en mujeres entre la tercera y cuarta década de la vida. Por el grupo etáreo en el cual se encuentra su pico de incidencia es muy probable que en caso de no realizarse un adecuado control de la enfermedad se produzcan daños irreversibles en el sistema osteoarticular que traigan consigo marcado deterioro en la calidad de vida y limitación laboral durante un prolongado periodo de tiempo. En términos de políticas sanitarias los costos económicos de la AR son substancialmente elevados, debido a su gran prevalencia, morbilidad, discapacidad y al uso intensivo de los servicios de salud por parte de los pacientes tanto de forma ambulatoria, como de los servicios de urgencias y hospitalización.

Diferentes grupos se han propuesto identificar factores de mal pronóstico y biomarcadores de actividad al inicio de la enfermedad. Aunque los hallazgos han

sido inconsistentes, parece que las variables clínicas no tienen el poder suficiente para discriminar adecuadamente la aparición de erosiones a largo plazo; los títulos elevados de anti CCP⁵⁻⁶⁻⁷⁻⁸⁻⁹ y Factor Reumatoide⁹⁻¹⁰⁻¹¹ han demostrado tener un mayor valor predictivo sobre el grado de progresión radiológica, sin embargo tampoco existe un acuerdo absoluto entre los trabajos publicados. Probablemente la falta de definiciones estandarizadas y criterios de remisión y/o respuesta inadecuada ayudan a explicar la variabilidad en los resultados obtenidos¹². Por otro lado, un creciente interés en utilizar marcadores genéticos como factores pronóstico y de respuesta al tratamiento en AR se ha producido en los últimos años. Polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) del TNF¹³ y alelos del HLADRB01⁷⁻¹⁴ se asocian a una mayor progresión radiológica y a una respuesta diferencial al tratamiento, lo cual conduce a pensar que eventualmente los marcadores genéticos se constituirán en una poderosa herramienta de predicción a futuro.

La etiología de la AR es multifactorial y no existe una causa específica establecida. La expresión de la enfermedad podría obedecer a una combinación de aspectos inmunológicos, endocrinos, medioambientales y genéticos¹⁵. Cada vez existe mayor evidencia que combinaciones específicas de estos factores que varían en cada paciente, determinan no sólo la susceptibilidad de padecerla sino también su severidad. En los últimos años se han producido importantes avances en el entendimiento de las complejas interacciones a nivel molecular que son necesarias para el desarrollo de la autoinmunidad. Esta investigación a nivel de ciencias básicas ha permitido el descubrimiento de nuevos medicamentos que actúan directamente sobre citoquinas y vías de señalización que participan en la generación y perpetuación del proceso inflamatorio. En consecuencia, y producto de esta investigación, se ha creado la terapia biológica contra blancos moleculares específicos en AR como son el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), los linfocitos CD20 o la molécula de coestimulación CTLA-4¹⁶. A pesar que estos medicamentos definitivamente han sido una excelente opción terapéutica en aquellos pacientes que no responden a la terapia combinada con DMARDs, aun

existe un porcentaje de pacientes que no responden a la terapia biológica dirigida contra estos blancos o etapas críticas de los eventos inmunes, lo cual deja entrever la necesidad de continuar estudios sobre otras vías moleculares y mecanismos fisiopatológicos que expliquen la actividad y severidad de la enfermedad.

Se ha postulado que la deficiencia de Vitamina D es uno de los factores ambientales que puede desencadenar autoinmunidad¹⁷⁻¹⁸. Existe un creciente interés fundamentado tanto en modelos experimentales como en trabajos realizados en humanos por investigar las propiedades pleiotrópicas de la vitamina D. En AR la pérdida de densidad mineral ósea (osteopenia) y la aparición de erosiones, son eventos fisiopatológicos importantes. Este comportamiento biológico sugeriría que las hormonas encargadas de regular el metabolismo óseo podrían estar involucradas en la patogénesis e historia natural de la enfermedad. De esta forma, la vitamina D haría parte de un complejo desequilibrio entre citoquinas y hormonas proinflamatorias y antiinflamatorias, que por acción autocrina y paracrina, son las responsables de la actividad y cronicidad de la AR¹⁹. La vitamina D a través de acciones genómicas y no genómicas es esencial en la regulación del metabolismo mineral óseo por lo que su deficiencia, independiente de la causa, se traduce en el desarrollo de alteraciones como hipocalcemia, hipofosfatemia, osteoporosis, raquitismo u osteomalacia²⁰. Adicionalmente, se ha documentado un efecto de la vitamina D sobre la fuerza y contracción muscular, independiente de la densidad mineral ósea (DMO), lo cual contribuye a mantener la integridad del esqueleto, disminuyendo la incidencia de caídas y fracturas relacionadas²¹.

La vitamina D se encuentra en pocos alimentos como el hígado de pescado, siendo su principal fuente la piel, producto de una reacción cutánea fotosintética. En esta reacción la luz ultravioleta (UV) convierte 7-dihidrocolesterol en previtamina D3, la cual es rápidamente isomerizada a colecalciferol (vitamina D3). Esta vitamina unida a su proteína ligadora se almacena en el hígado donde se

convierte lentamente en 25-hidroxivitamina D (25[OH] D3) también conocido como calcidiol, siendo posteriormente hidroxilada en el riñón a 1,25 dihidroxivitamina D3 (1,25[OH] D3) la cual es su molécula más activa y se conoce como calcitriol. El calcitriol participa activamente influenciando la absorción de calcio a nivel intestinal mediante su unión a un receptor nuclear en la mucosa e induciendo la síntesis de la proteína transportadora de calcio, molécula necesaria para el paso del calcio a través de la barrera intestinal. La síntesis de calcitriol a nivel renal es estimulada por la hormona paratiroidea (PTH), así como por una baja concentración sérica de fósforo y calcio²².

En ausencia de calcitriol, la absorción de calcio disminuye considerablemente, ya que esta se realizaría exclusivamente de forma pasiva, lo cual se traduce en la absorción de sólo el 12,5% del calcio ingerido. No obstante, el calcitriol no parece ser el único responsable de la absorción de calcio, ya que también se ha descrito una importante correlación entre el nivel de absorción de calcio y la 25[OH] D3²³⁻²⁴. De esta forma la eficiencia en la absorción total de calcio parece depender de los efectos combinados del calcitriol y la 25[OH] D3.

No existe consenso general sobre el valor normal de 25(OH) D3, usualmente se estima a partir del límite por debajo del cual la PTH empieza a elevarse producto de un mecanismo fisiológico compensador. En algunos trabajos clásicos como el de MC Kenna y Freaney²⁵ se consideró por encima de 40 ng/ml el nivel normal, 20-40 ng/mL hipovitaminosis, 10-20 ng/mL insuficiencia y menos de 10 ng/mL deficiencia, sin embargo recientemente se ha considerado que el valor límite deba ser 32 ng/mL, luego de observar que las alteraciones multisistémicas se presentan con valores por debajo de este nivel²⁶⁻²⁷.

La vitamina D interactúa de manera importante con el sistema inmune. Su forma activa 1,25[OH] D3 es producida por macrófagos activados en respuesta a interferon γ (IFN γ) y a la cascada de señalización de los receptores tipo Toll²⁸ Suprime la inmunidad innata al reducir la función de las células presentadoras de

antígeno y disminuir la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad tipo 2 en su superficie celular²⁹. También interfiere con la inmunidad adaptativa al inhibir la proliferación de linfocitos Th1³⁰. Esto lo hace de manera indirecta al disminuir las concentraciones de Interleuquina-12³¹, la principal citoquina implicada en la diferenciación de linfocitos Th0 a Th1. Los ratones expuestos a vitamina D tienen bajos niveles de citoquinas proinflamatorias como factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y IFN γ ³², así como altos niveles de interleuquina 4 (IL-4). Su capacidad para estimular la producción de IL-4 es importante ya que en modelos animales incapaces de producir IL-4 se pierde el efecto inmunomodulador de la vitamina D³³.

Por otro lado, estimula la función antiinflamatoria de linfocitos Th2 y disminuye la producción de anticuerpos por parte de los linfocitos B³⁴. Partiendo de este concepto, en patologías cuyo substrato fisiopatológico es una actividad Th2 aumentada se ha evaluado el efecto que tiene la vitamina D. Específicamente, en modelos de asma aunque no se aumentó la actividad de la enfermedad como teóricamente debería ocurrir, los ratones VDR knockout no desarrollaron hiperreactividad bronquial, lo cual sugiere un efecto selectivo de la vitamina D en el sistema inmune³⁵.

Otras funciones que se le han atribuido a esta hormona son estimular la síntesis de prostaglandina E2, una citoquina supresiva, e inhibir la formación del factor estimulante de colonias granulocito-macrófago³⁶.

La forma activa de la vitamina D, 1,25[OH] D3, actúa uniéndose a el receptor de vitamina D (VDR), receptor que hace parte de la superfamilia de receptores nucleares para hormonas esteroideas, hormona tiroidea y ácido retinoico³⁷. Este receptor, además de encontrarse en osteoblastos se ubica en la mayoría de células del sistema inmune, principalmente a nivel de células presentadoras de antígeno: macrófagos-células dendríticas y en linfocitos T CD4 y CD8. De igual

manera se ha encontrado en muchos otros órganos como seno, próstata, músculo y tracto digestivo³⁸.

Como vemos la vitamina D tiene un amplio espectro de interacciones con el sistema inmune. Este concepto es el que ha llevado a pensar que probablemente polimorfismos del VDR o variaciones en los niveles séricos de la vitamina D, pueden estar asociados al desarrollo de enfermedades autoinmunes³⁹. La enfermedad inflamatoria intestinal, esclerosis múltiple (EM) y Diabetes mellitus tipo 1 son mucho más frecuentes en países nórdicos en donde la exposición solar y por ende los niveles de vitamina D son bajos. En el caso de estas 2 últimas se ha encontrado que el riesgo de padecerlas aumenta con los niveles persistentemente disminuidos de 25[OH] D3. De hecho en grandes estudios observacionales se ha encontrado que la suplementación de vitamina D reduce en un 40% el riesgo de desarrollar esclerosis múltiple⁴⁰. Así mismo se ha demostrado que el suplemento de vitamina D en países nórdicos reduce de manera importante la incidencia de Diabetes Mellitus tipo 1³⁹.

Quizá la enfermedad autoinmune en la que se ha estudiado mas el rol de la vitamina D es la EM. A partir del modelo experimental de encefalitis autoinmune (EAI) se ha logrado estudiar a profundidad el tema. En este modelo existe un ataque por parte de linfocitos Th1 a oligodendrocitos que sintetizan la proteína básica de mielina. Cantorma et al. demostraron que la 1,25[OH] D3 previene la aparición y progresión de EAI de manera reversible⁴¹. Por otro lado, en EM existe fuerte evidencia del beneficio profiláctico que ofrece la vitamina D sobre el desarrollo de la enfermedad. Aparte del estudio mencionado con anterioridad, se ha demostrado que niveles séricos superiores a 20.8 ng/mL de 25[OH] D3 son un factor protector en población blanca para el desarrollo de EM⁴². Esta protección es directamente proporcional al nivel de 25[OH] D3 y no se produce, por lo menos en este estudio, en población negra e hispánica. Respecto al uso de análogos de la vitamina D como terapia en EM se han llevado 4 estudios pequeños no controlados que sugieren que podría disminuir la intensidad de los síntomas

durante las recaídas⁴³. Estos resultados muestran que definitivamente la vitamina D confiere un estado inmunomodulador y que son necesarios mayor cantidad de estudios que validen su uso clínico en estas patologías.

Específicamente en AR el papel de la vitamina D tanto en la génesis como en la severidad de la enfermedad se sustenta en varias evidencias. Sin embargo, no se ha realizado ningún estudio evaluando el posible rol en AR que pueda tener esta hormona en población latinoamericana ni existen estudios que evalúen directamente y comparen el rol que juega la vitamina D en artritis idiopática juvenil (AIJ), artritis reumatoide de inicio tardío (ARIT) y artritis reumatoide temprana (ART). Al tratarse de una vitamina cuyos niveles dependen de la exposición solar, deben obtenerse datos en nuestra población, ya que probablemente datos de otras latitudes y grupos étnicos no serán extrapolables a nuestros pacientes. Además, la AR es una enfermedad que ocurre en todos los grupos etáreos con diferentes formas de presentación. Aún no está claro, que factores determinan que la enfermedad aparezca a una edad específica o la razón por la cual se comprometen ciertas articulaciones y otras no.

Teniendo en cuenta el carácter multifactorial de la enfermedad, es pertinente establecer la influencia de los factores ambientales en su historia natural. Por ende, evaluar uno de los factores emergentes como definitivo en la génesis de autoinmunidad constituye un punto crítico para entender mejor la fisiopatología de la AR y desarrollar a futuro intervenciones que mejoren el pronóstico y calidad de vida de estos pacientes.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Evaluar los niveles séricos de 25-hidroxivitamina D (25[OH] D3) en un grupo de pacientes con AR y establecer si existen diferencias en relación a su edad de presentación.

2.2 Objetivos Específicos

Describir la prevalencia de hipovitaminosis D en población colombiana con artritis reumatoide.

Evaluar el comportamiento clínico e inmunológico de la AR en relación con los niveles séricos de 25[OH] D3.

Determinar las características del HLADRB1 en pacientes colombianos con AR y su relación con los niveles séricos de 25[OH] D3.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Pacientes

Se realizó un estudio de corte transversal en un grupo de pacientes con AR que acudieron de manera regular a la consulta externa de reumatología en la Clínica Carlos Lleras Restrepo, Salud Reinun, Clínica CAYRE (Clínica de Artritis y Rehabilitación) y consulta privada de reumatología pediátrica. Se incluyó 3 grupos de casos con controles para cada grupo etáreo, con el objetivo de descartar que las diferencias observadas fueran producto de la edad *per se* y no del momento de presentación de la AR. Los 3 grupos de casos fueron: 1) AIJ: Pacientes con AR < 16 años 2) ART: Pacientes con AR entre 16 y 65 años 3) ARIT: Pacientes con AR > 65 años. Los controles incluyeron personas sanas y pacientes provenientes de la consulta externa de medicina interna, geriatría y servicios de hospitalización de las instituciones mencionadas anteriormente.

3.1.1 Criterios de Inclusión

Pacientes entre 0 a 100 años con AR definida como aquellos pacientes que cumplan con los criterios del American College of Rheumatology para AR definidos en 1987, que firmaron el consentimiento informado.

3.1.2 Criterios de Exclusión

Tener otra enfermedad del tejido conectivo al inicio o durante el curso de la enfermedad, imposibilidad de llevar a cabo un seguimiento adecuado, tener antecedentes de hepatopatía crónica, enfermedad renal estadio IV o V y/o enfermedad paratiroidea documentada, recibir alguna de las formas de suplementación oral de vitamina D, recibir tratamiento con DMARD's mas terapia biológica o altas dosis de esteroides definido como mas de 0.5 mgs/kg de prednisolona o su equivalente al inicio de la enfermedad, en los pacientes

mayores de 65 años tener síndrome de inmovilidad, no firmar el consentimiento informado o no cumplir los criterios de inclusión.

3.2 Variables Clínicas y Paraclínicas

Cada uno de los pacientes de los grupos de ART y ARIT fue evaluado por medio de instrumentos de registro (formularios) que se diligenciaron y se anexaron a la carpeta de cada paciente. Las escalas e índices clinimétricos utilizados en este estudio para medir la actividad de la enfermedad han sido validadas y son de amplio conocimiento para los diferentes grupos de investigadores y clínicos. Se utilizó por tanto el DAS28 y DAS28PCR. A los pacientes con AIJ no se les realizó estas escalas al no encontrarse validadas para su uso en este grupo étnico.

En los instrumentos de registro al ingreso del estudio en los grupos de ART Y ARIT se recogieron los siguientes datos: a) Datos de identificación (Nombre, documento de identidad, historia clínica edad y sexo), b) Características clínicas de la enfermedad (Antecedentes personales y familiares, duración de la enfermedad desde el inicio de los síntomas, forma de presentación y clinimetría), c) Niveles séricos de 25[OH] D3, d) Paraclínicos generales (CH, VSG, PCR, AST, ALT, Glicemia, Uroanálisis, BUN, Creatinina, Factor Reumatoide y Anticuerpos Anti Péptido Cíclico Citrulinado) e) Muestras para la realización de la tipificación del HLA-DRB1 f) Tratamiento instaurado. Para los pacientes con AIJ se recogieron: a) Datos de identificación (Nombre, documento de identidad, historia clínica edad y sexo), b) Niveles séricos de 25[OH] D3, c) Factor Reumatoide y Anticuerpos Anti Péptido Cíclico Citrulinado

3.3 Técnicas de Laboratorio

Se creó un banco de sueros y DNA teniendo en cuenta las normas de recolección y almacenaje de las muestras para todos los individuos incluidos y los sueros se procesaron en grupo al finalizar la recolección. Las muestras para serología, que

no fuesen procesadas inmediatamente, fueron congeladas a -20° centígrados y los DNA a -80°.

Los niveles de 25(OH)D3 fueron determinados mediante electroquimioluminiscencia con un kit comercial (Roche^R). Se consideró insuficiencia de 25(OH) D3 niveles menores de 30 ng/mL y deficiencia un valor por debajo de 20 ng/mL⁴⁴.

El DNA fue extraído de una muestra de 10 mL recolectada en un tubo con el anticoagulante EDTA usando la técnica standard. La tipificación del alelo HLA-DRB1 fue realizada mediante PCR/hibridación reversa por dot-blot de sondas con producto de la PCR (Inno-LiPA assay, Innogenetics, Ghent, Belgium). La susceptibilidad genética a padecer AR está asociada con ciertos alelos del HLADRB1 que codifican el epítoto compartido, una secuencia de aminoácidos localizada en el primer dominio de la tercera región hipervariable de la cadena Beta de la molécula DR que se extiende desde la posición 70 a la 74. El epitoto compartido es codificada principalmente por los alelos del HLA-DRB1 *0101, *0102, *0104, *0401, *0404, *0405, *0408, *0409, *0410, *0413, *0416, *0419, *1402, *1406 *1001. Los pacientes que presentaran estos HLA-DRB1 fueron categorizados como portadores del epítoto compartido y si estas secuencias se encontraban en los 2 alelos se consideraba portador de doble epítoto compartido. El método de Westergren fue utilizado para evaluar VSG; La PCR y el FR fueron determinados por nefelometría. Se definió factor reumatoide positivo con un punto de corte de 40 UI/mL, sugerido por el laboratorio. Anti-CCP (Tercera generación) fueron medidos por ELISA y considerados positivos por encima de 60 UI/mL.

3.4 Analisis Estadístico

El análisis estadístico se realizó con el paquete Epidat 3.1. Las variables continuas se describieron con medias y desviaciones estándar. Se utilizó la prueba t de student para comparar las medias entre los grupos. Para las variables categóricas

se describieron las frecuencias y se realizó la comparación de proporciones independientes según el caso. Se considero significancia estadística una p menor a 0.05.

El cálculo del tamaño muestral se realizó mediante estimación para diferencia de medias grupos independientes, con el programa Epidat 3,1. Se llevo a cabo un cálculo de tamaño muestral para cada grupo de casos, teniendo en cuenta que se esperaba diferencias de media diversas de acuerdo a la edad de presentación. La desviación estándar utilizada fue de ± 10 ng/mL, para todos los grupos tomando como referencia dos de los trabajos publicados a la fecha que han descrito los niveles séricos de 25[OH] D3 en pacientes con AR. En Oelzner P, 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. se encontró una media de niveles séricos de 25-hidroxivitamina D en pacientes con AR establecida de 15.8 ± 9.9 ng/ml y en Orbach H, et al. Novel biomarkers in autoimmune diseases: prolactin, ferritin, vitamin D, and TPA levels in autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1109:385-400 se encontró una media de niveles séricos de 25-hidroxivitamina D en pacientes con AR establecida de 9.3 ± 4.4 ng/mL.

La diferencia de medias esperada para el grupo de ART respecto al control pareado por edad fue de 5 ng/mL; En el estudio de Orbach H, et al. la diferencia de medias fue de 12.3 ng/mL entre pacientes con AR y controles europeos sanos. Fue el único dato publicado al momento de calcular el tamaño muestral. Se considero que esa diferencia podría ser muy alta para nuestra población por lo cual se estableció el valor de 5 ng/mL. Para el grupo de ARIT fue de 4 ng/mL asumiendo que una alta prevalencia de hipovitaminosis D en los ancianos generaría que la diferencia respecto al control pareado por edad fuera menor que en los pacientes jóvenes. Esto fue basado en nuestra presunción ya que no existen estudios que comparen los niveles de 25[OH] D3 de pacientes con ARIT vs ancianos sanos. Para el grupo de AIJ se estableció también un valor de 5 ng/mL. El nivel de confianza fué 95% y la potencia del estudio 80%. La razón

entre muestras para el grupo de ART y su control fue de 2, la razón entre muestras para el grupo de ARIT y su control fue de 1 y la razón entre muestras para el grupo de AIJ y su control fue de 1. De esta forma el cálculo del tamaño muestral para el grupo de ART fue 48 casos y 96 controles. Para el grupo de ARIT fue de 99 casos y 99 controles y para el grupo de AIJ fue de 63 casos y 63 controles.

4. RESULTADOS

El presente estudio fue llevado a cabo en un total de 487 personas, 238 con AR y 248 sin AR, distribuidos en 3 grupos de casos y 3 grupos de no casos. Los casos incluidos fueron 80, 56 y 102 para los grupos de AIJ, ART y ARIT respectivamente. El número de no casos reclutados fue 25, 111 y 113 para los 3 grupos mencionados anteriormente. La media de edad entre los casos y los no casos de los 3 grupos tuvo diferencia estadísticamente significativa en ART y ARIT, no así en AIJ. La edad promedio de los casos fue menor a 2.5 años (Tabla 1A, 1B y 1C). Hubo predominancia del género femenino en los 3 grupos de casos comparado a los no casos.

Las características clínicas de la enfermedad fueron evaluadas en el grupo de ART y AIJ (Tabla 2). En el grupo de ART la mayoría de los casos se presentó con compromiso poliarticular gradual (42.85%), seguido por oligoarticular gradual (25.0%) y poliarticular abrupto (19.64%). Entre los pacientes con ARIT el debut poliarticular gradual también fue el más frecuente (51.02%). En ART las articulaciones inflamadas con mayor frecuencia al inicio de la enfermedad fueron las distales (60.41%), encontrándose diferencias estadísticamente significativas con el grupo de ARIT, en quienes el compromiso inicial distal (38.77%) y mixto (37.75%) tuvieron una frecuencia similar.

Los casos de ART se presentaron con mayores índices de actividad articular que los de ARIT. Hubo diferencias en relación al número de articulaciones inflamadas (21.78 vs. 15.57 $p < 0.0001$), articulaciones dolorosas (23.03 vs. 15.61 $p < 0.0001$), presencia de rigidez matinal (80.43 vs. 52.12 $p = 0.002$), DAS28 (6.79 vs. 5.94 $p = 0.001$) y DAS28 PCR (6.38 vs. 5.75 $p = 0.001$). Los casos de ARIT tuvieron una VSG (30.89 vs. 26.53 mm/h $p = 0.11$) y una PCR (2.01 vs. 1.36 mg/dL $p = 0.08$) mayores que los casos de ART.

Los grupos de ART y ARIT fueron con mayor frecuencia seropositivos que los casos de AIJ (Tabla 3). Al comparar los grupos de ARIT y ART, la positividad de ambos anticuerpos es mayor en ART, aunque sin significancia estadística. El estudio genético de los alelos del HLADRB1 reportó una frecuencia del epítipo compartido de 57.14% en el grupo de ART, 46.0% en ARIT y 16.66% en los no casos (Tabla 4). Las diferencias tuvieron significancia estadística para ambos grupos respecto al control. El doble epítipo compartido fue encontrado en 8.16%, 9.0% y 2.77% de los grupos de ART, ARIT y controles respectivamente. Las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

En general, se encontró una alta prevalencia de hipovitaminosis D en todos los grupos. Al analizar todos los casos de AR en conjunto se encontró niveles de 25[OH] D3 más bajos que en los no casos (22.26 vs. 26.9 p=0.0005) (Tabla 5). El análisis individual de cada grupo de casos mostró: Para ARIT 92.15% tuvo insuficiencia de 25[OH] D3 y 58.82% se encontró en rango de deficiencia. En el grupo de ART, 67.78% presentó insuficiencia y 30.35% deficiencia. Entre los pacientes con AIJ se observó 77.5% de insuficiencia y 51.25% de deficiencia de 25[OH] D3. Cuando se analizaron por separado los grupos, se encontró diferencias en la media únicamente entre los casos y no casos de ART (27.16 vs. 32.71 p= 0.03). No hubo diferencias ni en ARIT (19.43 vs. 20.81 p= 0.27) ni en AIJ (22.72 vs. 28.91 ng/mL p= 0.08) (Tabla 6A, 6B, 6C).

En un análisis intragrupo entre los casos de ART Y ARIT se encontró en los pacientes con ART y niveles <20 ng/mL una tendencia a tener con mayor frecuencia rigidez matinal (100% vs. 72.72% p=0.09) y positividad de anti CCP [76.4% vs. 56.4% p=0.2) que aquellos que tenían niveles >20 ng/mL. (Tabla 7).

Entre el grupo de casos con doble epítipo compartido, tanto de ART como ARIT, se observó un mayor grado de hipovitaminosis D, respecto a los pacientes con epítipo compartido en un solo alelo y epítipo compartido negativo (Tabla 8). En los casos de ARIT la diferencia tuvo significancia estadística. Los casos de ART

con doble epítoto compartido presentaron una media de 25[OH] D3 de 19.97 ng/mL, mientras que los casos de ART con epítoto compartido sencillo presentaron una media de 25[OH] D3 de 26.47 ng/mL y los que no tenían el epítoto compartido 28.90 ng/mL. Los casos de ARIT con doble epítoto compartido presentaron una media de 25[OH] D3 de 12.86 ng/mL, mientras que los casos de ART con epítoto compartido sencillo presentaron una media de 25[OH] D3 de 21.36 ng/mL y los que no tenían el epítoto compartido 18.86 ng/mL.

5. DISCUSIÓN

En AR el papel de la vitamina D tanto en la génesis como en la severidad de la enfermedad se sustenta en varias evidencias. Así como ocurre en otras enfermedades autoinmunes, la prevalencia de la enfermedad en países que se encuentran en zonas alejadas del trópico como Estados Unidos, Finlandia, Noruega o Estonia se calcula entre el 0.8 y el 1%¹, mientras que en países más cercanos a la línea ecuatorial como Colombia⁴⁵ o Italia⁴⁶ dicha prevalencia corresponde al 0.5% y 0.3% respectivamente. En países africanos⁴⁷ e incluso en zonas de Colombia donde existe una marcada exposición al sol durante el año como el Choco se han documentado prevalencias tan bajas como del 0.01%⁴⁸. Aunque es claro que existe un importante componente étnico-racial en estas observaciones, no deja de ser llamativa la menor ocurrencia de la enfermedad en zonas con mayor exposición a los rayos ultravioleta. En el Iowa Women's Health Study⁴⁹ con base en una estimación de la ingesta de vitamina D en la dieta, se encontró una relación inversamente proporcional entre el consumo de la vitamina y la incidencia de AR.

Niveles séricos bajos de 25[OH] D3 se ha encontrado en la mayoría de pacientes con la enfermedad⁵⁰. Se ha demostrado en población caucásica un importante grado de hipovitaminosis D; un estudio en dicha población encontró que el 60% de los pacientes con AR tienen niveles séricos de 25[OH] D3 <40 ng/mL y que 16% tienen niveles de 25[OH] D3 <10 ng/mL⁵¹. Cuando se ha comparado directamente los niveles séricos de 25[OH] D3 en AR con grupos de pacientes sanos se ha encontrado una marcada diferencia en la dosificación de la vitamina⁵². Cutolo et al⁵³. fue el primero en intentar demostrar la asociación de hipovitaminosis D con actividad de AR. Al comparar mujeres con AR establecida en diferentes latitudes de Europa encontró una correlación inversa entre los niveles de 25[OH] D3 y la actividad de la enfermedad evaluada mediante el DAS 28. Previamente Kroger H. et al⁵⁴ y Oelzner P. et al⁵⁵ mostraron resultados en pacientes con AR establecida evaluando la misma hipótesis. Aunque en ambos estudios se concluye que existe

tal asociación, definen como actividad de la enfermedad los niveles elevados de VSG y PCR de manera aislada, lo cual impide hacer conclusiones definitivas ya que evidentemente los parámetros para evaluar dicha actividad son las medidas clinimétricas y no medidas aisladas de reactantes de fase aguda.

Recientemente fueron publicados 4 estudios que evaluaron la correlación entre los niveles de 25[OH] D3 y la actividad de la enfermedad. Rossini et al⁵⁶. encontró una relación inversamente proporcional entre los niveles de 25 (OH) D3 y el DAS28. Los pacientes con AR y DAS28 >5.1 tuvieron unos niveles promedio de 25 (OH) D3 19.4 ng/mL comparado a 23.1 ng/mL de los pacientes con DAS28<3.1. Además, informó que los pacientes con enfermedad activa y con pobre respuesta al tratamiento presentan niveles significativamente bajos de 25[OH] D3. Este estudio fue realizado en pacientes con AR establecida con una duración promedio de 11.5 años y excluyó pacientes mayores de 75 años. Por su parte Kerr et al⁵⁷. en un grupo de pacientes con AR establecida de 12.4 años de duración promedio, encontró que solo los niveles por debajo de 20 ng/mL se asocian a un mayor recuento de articulaciones dolorosas, mas no de alguna evaluación clinimétrica, y que la presencia de hipovitaminosis D es más frecuente en aquellos pacientes con anti CCP positivos. Turhanoglu et al⁵⁸. de manera global no encontró diferencias entre los niveles de 25[OH] D3 entre pacientes con AR con una duración promedio de 7.8 años y controles sanos, pero en el subgrupo con DAS28 >5.1 reportó unos niveles más bajos que en los pacientes en remisión o con actividad moderada. En este estudio no se hace referencia a la exclusión de pacientes que recibieran suplementación de vitamina D. Finalmente Craig et al⁵⁹. en un grupo de pacientes afroamericanos con AR de 13 meses en promedio de duración no encontró asociación con la actividad de la enfermedad. Un total de 15% de los casos se encontraba bajo suplementación de vitamina D.

Con el objetivo de conocer las implicaciones de la vitamina D en fases tempranas de la enfermedad, recientemente Patel S. et al⁶⁰ evaluó los niveles séricos de 25[OH] D3 en un grupo de 206 pacientes con poliartritis indiferenciada y los

observó durante un periodo de un año para correlacionar los niveles basales de la vitamina con índices clinimétricos al inicio y al final del seguimiento. Dentro de esta cohorte 45.2% cumplieron los criterios del American College of Rheumatology de AR al año. Se encontró una asociación significativa entre bajos niveles de 25[OH] D3 y altos recuentos de DAS28, índice articular y HAQ al momento del ingreso. Al año de seguimiento se encontró asociación tan solo con el HAQ. Durante el estudio, únicamente se tomó una muestra para la evaluación de la 25[OH] D3, motivo por el cual no se pudo correlacionar la actividad al año con los niveles séricos en ese momento del tiempo.

En este estudio se confirma que en población colombiana con AR, así como ocurre en otras latitudes, existe una alta prevalencia de hipovitaminosis D, mas marcada en el grupo de ARIT. Es llamativo, que a pesar que este grupo de casos tiene los niveles más bajos de 25(OH)D, no presenta diferencias significativas respecto al grupo no caso pareado por edad. Los casos de ART tienen una presentación con mayores índices de actividad articular y un compromiso de articulaciones distales más frecuente que los pacientes con ARIT. Era esperable que los casos de ARIT presentaran los niveles más bajos de 25(OH)D, sin embargo la ausencia de diferencias con los ancianos controles hace pensar que más que los valores absolutos, el grado de hipovitaminosis D relativa a la edad es lo que va a determinar la asociación con algunos aspectos de la enfermedad, entre ellos una mayor actividad inflamatoria. En este estudio, se ha encontrado que la deficiencia de 25(OH)D probablemente se asocia mas, con la presentación clínica y perfil inmunológico de la enfermedad en los pacientes con ART que en los pacientes con ARIT. En el análisis intragrupo de los pacientes con ARIT no hubo diferencias significativas en el recuento articular, la evaluación clinimétrica y el perfil inmunológico entre aquellos pacientes con hipovitaminosis en diferentes rangos comparado a aquellos pacientes con niveles normales. A pesar que no se encontró significancia estadística probablemente por el tamaño muestral, en el grupo de ART con niveles <20 ng/mL, se encontró una tendencia a presentar con

mayor frecuencia rigidez matinal y positividad en los anti CCP, similar a lo descrito por Kerr et al.

Este estudio analizó los niveles de 25(OH)D en pacientes con AR en promedio de menos de 2 años de evolución que no han recibido suplencia de vitamina D. El estudio de Patel et al, si bien evaluó pacientes que tenían compromiso temprano, fue hecho en pacientes con poliartritis indiferenciada y no en pacientes con ART definida. A nuestro juicio es relevante que el tiempo de evolución de la enfermedad sea corto y similar entre los casos, ya que la historia natural de la AR muestra que los primeros años son determinantes en el desenlace final de la enfermedad por la mayor actividad inflamatoria que se produce durante este periodo. Además, es poco probable que pacientes con AR establecida de más de 10 años de evolución no hayan recibido ningún tipo de suplencia de vitamina D a lo largo de su enfermedad, lo cual obviamente modifica los resultados y las posibles asociaciones encontradas.

Otro hallazgo interesante del estudio es que los casos con epítotope compartido doble presentan niveles séricos de 25 (OH) D3 menores que los casos con epítotope compartido sencillo o negativo. Esta tendencia tuvo significancia estadística en el grupo de ARIT. En el grupo de ART todos los pacientes con epítotope compartido doble tuvieron títulos positivos de anti CCP. Un mayor tamaño muestral permitiría establecer mejor esta asociación.

El estudio tiene limitaciones. El grupo de AIJ no se pudo comparar desde el punto de vista clínico y genético por ausencia de datos. El grupo control de AIJ fue pequeño, producto de la poca oportunidad que tuvimos de reclutar niños sanos al estudio. En el grupo de ART hubo problemas en la conservación de algunas muestras que hizo imposible su análisis. En algunos casos no se tuvo en su totalidad los datos clínicos de todos los pacientes incluidos para hacer un análisis más robusto.

6. CONCLUSIONES

En población colombiana con AR existe una alta prevalencia de hipovitaminosis D. La deficiencia de 25(OH)D podría tener mayor asociación en la presentación clínica y perfil inmunológico de la enfermedad en los pacientes con ART que en los pacientes con ARIT o AIJ. Se necesitan estudios adicionales en otras poblaciones que corroboren esta afirmación.

7. TABLAS

Tabla 1A: Características demográficas de los casos de artritis idiopática juvenil y los controles

Característica	Casos AIJ (n:80)	No casos AIJ (n:25)	p
Sexo Femenino (%)	76.25	52.0	0.03
Edad (Años)	10.21 Ds:4.31	11.88 Ds:3.14	0.08
Tiempo de evolución de AR (Años)	1.0*		

*Media

Tabla 1B: Características demográficas de los casos de artritis reumatoide temprana y los controles

Característica	Casos ART (n:56)	No casos ART (n:110)	p
Sexo Femenino (%)	78.57	57.5	0.01
Edad (Años)	44.91 Ds:12.20	37.06 Ds:11.56	<0.001
Tiempo de evolución de AR (Años)	0.5*		

*Media

Tabla 1C: Características demográficas de los casos de artritis reumatoide de inicio tardío y los controles

Característica	Casos ARIT (n:102)	No casos ARIT (n:113)	p
Sexo Femenino (%)	65.68	49.5	0.02
Edad (Años)	70.29 Ds:4.54	75.45 Ds:6.93	<0.001
Tiempo de evolución de AR (Años)	2.27*		

*Media

Tabla 2: Características clínicas de los casos de artritis reumatoide temprana y artritis reumatoide de inicio tardío

Característica	Casos ART	Casos ARIT	p
Forma de Comienzo			
Poliarticular Gradual (%)	42.85	51.02	0.57
Poliarticular Abrupto (%)	19.64	19.38	0.85
Oligoarticular Gradual (%)	25.0	25.51	0.87
Oligoarticular Abrupto (%)	1.78	4.08	0.79
Compromiso Articular Inicial			
Proximal (%)	33.33	23.46	0.33
Distal (%)	60.41	38.77	0.02
Mixto (%)	6.25	37.75	0.001

Articulaciones Inflamadas	21.78 Ds:7.52	15.57 Ds:7.96	<0.0001
Articulaciones Dolorosas	23.03 Ds:7.52	15.61 Ds:6.58	<0.0001
Rigidez Matinal (%)	80.43	52.12	0.002
DAS28	6.79 Ds:0.77	5.94 Ds:1.31	0.001
DAS28PCR	6.38 Ds:0.76	5.75 Ds:1.19	0.001
VSG	26.53 Ds:12.7	30.89 Ds:19.15	0.11
PCR	1.36 Ds:1.5	2.01 Ds:2.35	0.08

Tabla 3: Valores de factor reumatoide y anti-CCP en los 3 grupos de casos

Característica	Casos ART	Casos ARIT	Casos AIJ	p
Factor Reumatoide (% positivos)	60.71	50	24	*0.26 **0.004 ***0.03
Anti CCP (% positivos)	62.5	58.16	32	* 0.72 **0.02 ***0.03

*p entre ART y ARIT **p entre ART y AIJ ***p entre ARIT y AIJ

Tabla 4: Epítotope compartido en los casos de artritis reumatoide temprana y artritis reumatoide de inicio tardío

Característica	Casos ART	Casos ARIT	No casos	p
Presencia de Epítotope Compartido (%)	57.14	46.0	16.66	*0.18 ** <0.0001 ***<0.0001
Presencia de Doble Epítotope Compartido (%)	8.16	9.0	2.77	*0.88 **0.27 ***0.10

*p entre ART y ARIT **p entre ART y No casos ***p entre ARIT y No casos

Tabla 5: Niveles de 25 hidroxivitamina D de los casos de artritis reumatoide comparado a los no casos

Característica	Casos AR (n:238)	No casos (n:248)	p
Niveles de 25-hidroxivitamina D	22.26 Ds:11.04	26.93 Ds: 17.83	0.0006

Tabla 6A: Niveles de 25 hidroxivitamina D de los casos de artritis idiopática juvenil y los no casos

Característica	Casos AIJ (n:80)	No casos AIJ (n:25)	p
Niveles de 25-hidroxivitamina D	22.72 Ds:11.22	28.91 Ds:16.01	0.08
Insuficiencia de 25-hidroxivitamina D (<30 ng/mL) (%)	77.5	64	0.27
Deficiencia de 25-hidroxivitamina D (<20 ng/mL) (%)	51.25	36	0.26

Me: Mediana

Tabla 6B: Niveles de 25 hidroxivitamina D de los casos de artritis reumatoide temprana y los no casos

Característica	Casos ART (n:56)	No casos ART (n:110)	p
Niveles de 25-hidroxivitamina D	27.16 Ds:12.86	32.77 Ds:20.84	0.03
Insuficiencia de 25-hidroxivitamina D (<30 ng/mL) (%)	67.78	55.45	0.16
Deficiencia de 25-hidroxivitamina D (<20 ng/mL) (%)	30.35	29.09	0.99

Tabla 6C: Niveles de 25 hidroxivitamina D de los casos de artritis reumatoide de inicio tardío y los no casos

Característica	Casos ARIT (n:102)	No casos ARIT (n:113)	p
Niveles de 25-hidroxivitamina D	19.23 Ds: 8.65	20.81 Ds:12.32	0.27
Insuficiencia de 25-hidroxivitamina D (<30 ng/mL) (%)	92.15	86.72	0.28
Deficiencia de 25-hidroxivitamina D (<20 ng/mL) (%)	58.82	55.75	0.75

Tabla 7: Características clínicas y serológicas de los pacientes con ART de acuerdo a los niveles de 25 hidroxivitamina D.

Característica	Niveles < 20 ng/mL	Niveles > 20 ng/mL	p
Articulaciones Inflamadas	23 Ds:6.62	21.3 Ds:7.85	0.47
Articulaciones Dolorosas	23.46 Ds:6.91	22.89 Ds:6.55	0.79
Rigidez Matinal (%)	100	72.72	0.09

Anti CCP (% positivos)	76.4	56.4	0.26
Factor Reumatoide (% positivos)	58.82	61.53	0.91
VSG	26.05 Ds:13.31	26.74 Ds:12.6	0.53
PCR	1.05 Ds:1.01	1.50 Ds:1.67	0.22
DAS28	6.86 Ds:0.86	6.76 Ds:0.75	0.69
DAS28 PCR	6.43 Ds:0.76	6.36 Ds:0.77	0.78

Tabla 8: Niveles de 25 hidroxivitamina D en los casos de artritis reumatoide temprana y artritis reumatoide de inicio tardío de acuerdo a la presencia de epítape compartido

Característica	Niveles de 25 (OH) D3 EC Doble	Niveles de 25 (OH) D3 sin EC Doble	p
Casos ART	19.97 Ds:12.04	27.50 Ds:12.82	0.26
Casos ARIT	12.86 Ds:6.31	19.89 Ds:8.37	0.02

8. REFERENCIAS

- ¹ Gabriel SE. The epidemiology of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2001;27:269-81.
- ² Scott DL, Symmons DP, Coulton BL, Popert AJ. Long-term outcome of treating rheumatoid arthritis: results after 20 years. *Lancet* 1987;1:1108-11.
- ³ Quinn MA, Conaghan PG, Emery P. The therapeutic approach of early intervention for rheumatoid arthritis: what is the evidence? *Rheumatology (Oxford)* 2001;40:1211-20.
- ⁴ O'Dell JR. Treating rheumatoid arthritis early: a window of opportunity. *Arthritis Rheum* 2002;46:283-5.
- ⁵ Kroot E-J, de Jong BA, van Leeuwen MA, Swinkels H, van den Hoogen FH, van't Hof M, et al. The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recentonset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000;;43:1831–1835
- ⁶ Kastbom A, Strandberg G, Lindroos A, Skogh T. Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *Ann Rheum Dis* 2004; 63:1085–1089
- ⁷ Sanmartí R, Gómez-Centeno A, Ercilla G, Larrosa M, Viñas O, Vazquez I, et al. Prognostic factors of radiographic progression in early rheumatoid arthritis: a two year prospective study after a structured therapeutic strategy using DMARDs and very low doses of glucocorticoids. *Clin Rheumatol.* 2007;26:1111-8.
- ⁸ Rönnelid J, Wick MC, Lampa J, Lindblad S, Nordmark B, Klareskog L et al. Longitudinal analysis of citrullinated protein/peptide antibodies (anti-CP) during 5 year follow up in early rheumatoid arthritis: anti-CP status predicts worse disease activity and greater radiological progression. *Ann Rheum Dis* 2005;64:1744-9.
- ⁹ Machold KP, Stamm TA, Nell VP, Pflugbeil S, Aletaha D, Steiner G, et al. Very recent onset rheumatoid arthritis: clinical and serological patient characteristics associated with radiographic progression over the first years of disease. *Rheumatology (Oxford).* 2007;46:342-9.
- ¹⁰ Brennan P, Harrison B, Barrett E, Chakravarty K, Scott D, Silman A, et al. A simple algorithm to predict the development of radiological erosions in patients with early rheumatoid arthritis: prospective cohort study. *BMJ* 1996;24:471–476
- ¹¹ Jansen MA, van der Horst-Bruinsma IE, van Schaardenburg D, Bezemer PD, Dijkmans BA Predictors of radiographic joint damage in patients with early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2001;60:924–927

-
- ¹² Cohen S, Cohen M, Cush J, Roy M, Fleischmann P, Mease P, et al. Unresolved Issues in Identifying and Overcoming Inadequate Response in Rheumatoid Arthritis: Weighing the Evidence. *J Rheum* 2008;35,S81:4-31
- ¹³ Khanna D, Wu H, Park G, Gersuk V, Gold RH, Nepom GT, et al. Association of tumor necrosis factor alpha polymorphism but not shared epitope, with increased radiographic progression in a seropositive rheumatoid arthritis inception cohort. *Arthritis Rheum* 2006;54:1105-16.
- ¹⁴ Criswell LA, Lum RF, Turner KN, Woehl B, Zhu Y, Wang J, et al. The influence of genetic variation in the HLA-DRB1 and LTA-TNF regions on the response to treatment of early rheumatoid arthritis with methotrexate or etanercept. *Arthritis Rheum* 2004;50:2750-6.
- ¹⁵ Glocker MO, Guthke R, Kekow J, Thiesen HJ. Rheumatoid arthritis, a complex multifactorial disease: on the way toward individualized medicine. *Med Res Rev.* 2006;26:63-87.
- ¹⁶ Olsen NJ, Stein CM. New drugs for rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2004 20;350:2167-79.
- ¹⁷ Nagpal S, Na S, Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocr Rev.* 2005;26:662-87.
- ¹⁸ Adorini L, Penna G. Control of autoimmune diseases by the vitamin D endocrine system. *Nat Clin Pract Rheumatol.* 2008;4:404-12.
- ¹⁹ Choy EH, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2001 22;344:907-16.
- ²⁰ Update Vitamin D/calcium. *Osteop Int* 1998; Suppl. 8: S1-50.
- ²¹ Iglesias A, Cala C, Restrepo JF. Alfacalcidol y calcitriol. *Rev colomb reumatol* 2005;12:334-349
- ²² Quintana-Duque M, Toro CE, Iglesias-Gamarra A. Deficiencia de vitamina D en Latinoamerica. En Iglesias-Gamarra A, Restrepo JF, Toro CE. Historia de la vitamina D. Barranquilla: Universidad Simón Bolívar, 2008:305-324
- ²³ Barger-Lux MJ, Heaney RP, Lanspa SJ, et al. An investigation of sources of variation in calcium absorption efficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:406–11.
- ²⁴ Devine A, Wilson SG, Dick IM, et al. Effects of vitamin D metabolites on intestinal calcium absorption and bone turnover in elderly women. *Am J Clin Nutr* 2002;75:283–8.

-
- ²⁵ McKenna MJ, Freaney R. Secondary hyperparathyroidism in the elderly: means to defining hypovitaminosis D. *Osteop Int* 1998; Suppl 8: S3-6.
- ²⁶ Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int* 1997;7:439–43.
- ²⁷ Thomas MK, Lloyd-Jones DM, Thadhani RI, et al. Hypovitaminosis D in medical inpatients. *N Engl J Med* 1998;338:777–83.
- ²⁸ Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR, et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science*. 2006;311:1770-3.
- ²⁹ Bikle DD. What is new in vitamin D: 2006-2007. *Curr Opin Rheumatol*. 2007;19:383-8.
- ³⁰ Mattner F, Smiroldo S, Galbiati F, Muller M, Di LP, Poliani PL, et al. Inhibition of Th1 development and treatment of chronic-relapsing experimental allergic encephalomyelitis by a non-hypercalcemic analogue of 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *Eur J Immunol* 2000;30:498–508.
- ³¹ D'Ambrosio D, Cippitelli M, Cocciolo MG, Mazzeo D, Di LP, Lang R, et al. Inhibition of IL-12 production by 1,25-dihydroxyvitamin D3. Involvement of NFkappaB downregulation in transcriptional repression of the p40 gene. *J Clin Invest* 1998;101:252–62.
- ³² Cantorna MT, Woodward WD, 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.
- ³³ 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.
- ³⁴ Linker-Israeli M, Elstner E, Klinenberg JR, Wallace DJ, Koeffler HP. Vitamin D(3) and its synthetic analogs inhibit the spontaneous in vitro immunoglobulin production by SLE-derived PBMC. *Clin Immunol* 2001;99:82–93
- ³⁵ Cantorna MT, Mahon BD. D-hormone and the immune system. *J Rheumatol Suppl*. 2005;76:11-20.
- ³⁶ Towers TL, Staeva TP, Freedman LP. A two-hit mechanism for vitamin D3-mediated transcriptional repression of the granulocyte-macrophage

colonystimulating factor gene: vitamin D receptor competes for DNA binding with NFAT1 and stabilizes c-Jun. *Mol Cell Biol* 1999;19:4191–9.

³⁷ Rachez C, Freedman L. Mechanisms of gene regulation by vitamin D3 receptor: a network of coactivator interactions. *Gene* 2000;246:9–21.

³⁸ Jones G, Strugnell SA, DeLuca HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev* 1998;78:1193–231.

³⁹ Arnson Y, Amital H, Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. *Ann Rheum Dis* 2007;66:1137-42.

⁴⁰ Munger KL, Zhang SM, O'Reilly E, Hernan MA, Olek MJ, Willett WC, et al. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology* 2004;62:60–5.

⁴¹ Cantorna MT, Hayes CE, DeLuca HF. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 reversibly blocks the progression of relapsing encephalomyelitis, a model of multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 23;93:7861-4.

⁴² Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA* 2006;296:2832–8.

⁴³ Brown SJ. The role of vitamin D in multiple sclerosis. *Ann Pharmacother.* 2006;40:1158-61.

⁴⁴ Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc.* 2006;81:353-73.

⁴⁵ Pineda-Tamayo R. Epidemiología clínica. En Anaya JM, Pineda-Tamayo R, Gomez LM, Galarza Maldonado C, Rojas-Villarraga A, Martin J, eds. *Artritis Reumatoide, Bases moleculares, clínicas y terapéuticas.* Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas, 2006:199-208

⁴⁶ Cimmino MA, Parisi M, Moggiana G, Mela GS, Accardo S. Prevalence of rheumatoid arthritis in Italy: the Chiavari study. *Ann Rheum Dis* 1998; 57: 315-318.

⁴⁷ Silman AJ, Ollier W, Holligan S, et al. Absence of rheumatoid arthritis in a rural Nigerian populations. *J Rheumatol* 1993; 20: 618-622.

⁴⁸ Anaya JM, Correa PA, Mantilla RD, Jimenez F, Kuffner T, McNicholl JM. Rheumatoid arthritis in African Colombians from Quibdo. *Semin Arthritis Rheum.* 2001;31:191-8.

-
- ⁴⁹ Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Saag KG. Vitamin D is associated with lower risk of rheumatoid arthritis in older women: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum* 2004;50:72–7.
- ⁵⁰ Aguado P, del Campo MT, Garces MV, Gonzalez-Casaus ML, Bernad M, Gijon-Banos J, et al. Low vitamin D levels in outpatient postmenopausal women from a rheumatology clinic in Madrid, Spain: their relationship with bone mineral density. *Osteoporos Int* 2000;11:739–44.
- ⁵¹ Van Soesbergen RM, Lips P, van den Ende A, van der Korst JK. Bone metabolism in rheumatoid arthritis compared with postmenopausal osteoporosis. *Ann Rheum Dis* 1986;45:149–55.
- ⁵² Orbach H, Zandman-Goddard G, Amital H, Barak V, Szekanecz Z, Szucs G et al. Novel biomarkers in autoimmune diseases: prolactin, ferritin, vitamin D, and TPA levels in autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci*. 2007 Aug;1109:385-400.
- ⁵³ Cutolo M, Otsa K, Yprus M, Serio B. Vitamin D and rheumatoid arthritis: comment on the letter by Nielen et al. *Arthritis Rheum*. 2007;56:1719-20.
- ⁵⁴ Kröger H, Penttilä IM, Alhava EM. Low serum vitamin D metabolites in women with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*. 1993;22:172-7.
- ⁵⁵ Oelzner P, Müller A, Deschner F, Hüller 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.
- ⁵⁶ Rossini M, Maddali Bonghi S, La Montagna G, Minisola G, Malavolta N, et al. Vitamin D deficiency in rheumatoid arthritis: prevalence, determinants and associations with disease activity and disability. *Arthritis Res Ther*. 2010;12:R216
- ⁵⁷ Kerr GS, Sabahi I, Richards JS, Caplan L, Cannon GW, Reimold A, et al. Prevalence of Vitamin D Insufficiency/Deficiency in Rheumatoid Arthritis and Associations with Disease Severity and Activity. *J Rheumatol*. 2010 Oct 15. [Epub ahead of print]
- ⁵⁸ Turhanoğlu AD, Güler H, Yönden Z, Aslan F, Mansuroglu A, Ozer C. The relationship between vitamin D and disease activity and functional health status in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*. 2010 Mar 19. [Epub ahead of print]
- ⁵⁹ Craig SM, Yu F, Curtis JR, Alarcón GS, Conn DL, Jonas B, et al. Vitamin D status and its associations with disease activity and severity in African Americans with recent-onset rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2010;37:275-81.

⁶⁰ 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;56:2143-9.