

Sérové koncentrácie vitamínu D a osteomarkerov vo vzťahu k aktivite reumatoidnej artritídy

L. STERANČÁKOVÁ, Z. KILLINGER, J. PAYER, Z. ZELINKOVÁ

V. interná klinika, LF UK a UN Bratislava

SÚHRN

Sterančáková L., Killinger Z., Payer J., Zelinková Z.: **Sérové koncentrácie vitamínu D a osteomarkerov vo vzťahu k aktivite reumatoidnej artritídy**

Úvod: Reumatoidná artritída (RA) je chronické zápalové ochorenie postihujúce aj mimokĺbne systémy. Je známe, že u pacientov s RA dochádza k signifikantnému poklesu množstva kostnej hmoty a následnému rozvoju osteoporózy. Podiel vysokej zápalovej aktivity a koncentrácie vitamínu D3 na tomto procese nie je presne objasnený.

Cieľ práce: Naším cieľom bolo zistiť vzťah aktivity RA s vybranými laboratórnymi parametrami kostného metabolizmu a koncentraciou vitamínu D3.

Súbor a metodika: Vyšetřili sme 43 pacientov s rôznou aktivitou RA. Priemerný vek pacientov bol 52,4 rokov, pomer žien a mužov predstavoval 3,3 : 1. Pacienti neboli liečení antiporotikami ani vitamínom D. Aktivitu ochorenia sme hodnotili prostredníctvom skóre DAS28 (disease activity score), kostný metabolizmus laboratórnymi markermi – osteokalcín (OC) a CTx (C-terminálny telopeptid kolagénu typu I). Stanovovali sme tiež hladinu vitamínu D3. Na štatistické hodnotenie sme použili Pearsonov korelačný koeficient.

Výsledky: Dokázali sme štatisticky významnú negatívnu koreláciu aktivity ochorenia a hladiny vitamínu D. Vzťah medzi osteomarkermi a DAS28 skóre nedosiahol štatistickú signifikantnosť, pozorovali sme však trend vzostupu kostného obratu so zvyšujúcou sa aktivitou RA.

Záver: RA je jedným z najtypickejších príkladov chronického zápalového procesu. U pacientov s pretrvávajúcou vysokou aktivitou RA dochádza v relatívne krátkom čase k hlbokým zmenám skeletu. Je preto potrebné v tejto skupine pacientov venovať zvýšenú pozornosť prevencii sekundárnej osteoporózy. Medzi tieto opatrenia patrí aj vyšetrenie a správna interpretácia nameraných hladín vitamínu D3, markerov kostného obratu a zhodnotenie kostnej hustoty.

Kľúčové slová: reumatoidná artritída, DAS28, osteokalcín, CTx, vitamín D

SUMMARY

Sterančáková L., Killinger Z., Payer J., Zelinková Z.: **Serum concentrations of vitamin D and bone markers and their relationship to rheumatoid arthritis activity**

Background: Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic inflammatory disorder also affecting the extra-articular systems. Patients with RA are known to have significantly reduced bone mass and to develop osteoporosis subsequently. The exact contribution of high inflammatory activity and vitamin D3 concentration to this the process is unclear.

Objective: The study aimed at determining the relationship between RA disease activity and selected laboratory parameters of bone metabolism and vitamin D3 concentrations.

Patients and methods: A total of 43 patients with different RA activity were examined. Their mean age was 52.4 years and the female-to-male ratio was 3.3 : 1. The patients were treated with neither anti-osteoporotic drugs nor vitamin D. Their disease activity was evaluated using the disease activity score (DAS 28) and bone metabolism was determined by laboratory markers such as osteocalcin (OC) and C-terminal telopeptide of type I collagen (CTx). Vitamin D3 levels were also measured. For statistical evaluation, the Pearson correlation coefficient was used.

Results: There was a statistically significant negative correlation between disease activity and vitamin D levels. The relationship between bone markers and DAS 28 scores did not reach statistical significance. However, an increase in bone turnover associated with increased RA activity was observed.

Conclusion: RA is one of the most typical examples of chronic inflammation. Profound bone changes are known to occur within a relatively short time in patients with high RA activity. Therefore, secondary osteoporosis screening should be provided in this group of patients. A recommended clinical approach includes vitamin D, bone metabolism markers and bone mineral density measurements.

Keywords: rheumatoid arthritis, DAS 28, osteocalcin, CTx, vitamin D

Osteologický bulletin 2013;18(1):9–15

Adresa: MUDr. Lenka Sterančáková, V. interná klinika, Ružinovská 6, 826 06 Bratislava, Slovenská republika, e-mail: lenkasterancakova@gmail.com

Došlo do redakcie: 26. 11. 2012

Přijato k tisku: 11. 2. 2013

Úvod

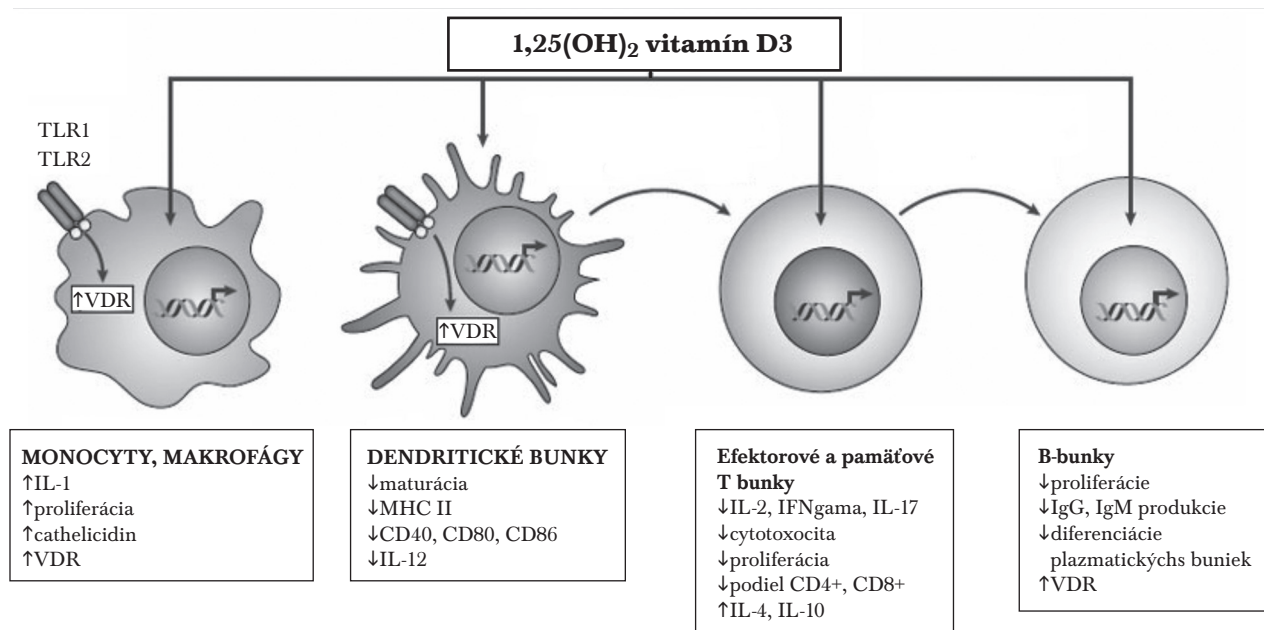
Kostné prejavy u reumatoidnej artritídy (RA) po prvý krát opísal Barwell v roku 1865. RA je asociovaná s fokálnym a systémovým znížením kostnej denzity, ktoré je výsledkom narušenia rovnováhy medzi osteoformáciou a osteoresorpciou v remodelačných jednotkách. Kostné postihnutie pri RA je jednou z hlavných príčin invalidity týchto pacientov. Riziko osteoporotických zlomenín je pri RA 1,5–2 krát vyššie ako u zdravej populácie. K vzniku osteoporózy u RA prispievajú nielen štandardné rizikové faktory primárnej osteoporózy, ale i zápal, imobilizácia a užívanie imunosupresívnej a glukokortikoidovej liečby [1,2].

Kostná prestavba je kontinuálny proces kostnej resorpcie a formácie. Pri RA úbytok kostnej hmoty je vo vzťahu k zvýšenej kostnej resorpcii, zatiaľ čo údaje o tvorbe kostí sú kontroverzné [3]. Štúdie na zvieracích modeloch ukázali, že

osteoklastogenéza v kĺbe je rýchly a dynamický proces, ktorý vedie k rýchlemu úbytku kostnej hmoty juxtaartikulárnej kosti a je predpokladom skorého nástupu štrukturálneho poškodenia [4].

Patogenéza zmeneného kostného metabolizmu pri RA je multifaktoriálna a podiel, akým sa na rýchлом rozvoji podieľa vysoká zápalová aktivita (popri vplyve inaktivity, liečby kortikoidmi), nie je presne objasnený. Mechanizmy kostnej remodelácie pri RA zahŕňajú interakcie medzi kostnými a infiltrujúcimi zápalovými bunkami. Rozhodujúcim činiteľom sa v tomto prípade zdá byť faktor nekrotizujúci tumory α (TNF- α), ktorý spolu s interleukínom 6 (IL-6) a interleukínom 1 (IL-1) indukujú osteoklastogenézu, podporujú zápal, resorpciu kostí a potláčajú nábor osteoblastov z progenitorových buniek. TNF- α indukuje expresiu RANKL (li-

Obr. 1
Vitamín D a imunitný systém



1,25(OH)₂ vitamín D3 pôsobí na niekoľko typov imunitných buniek, vrátane makrofágov, dendritických buniek, T- a B-buniek. Makrofágy a dendritické bunky konštitučne exprimujú jadrový steroidný receptor pre 1,25(OH)₂ vitamín D3 (VDR). V T- a B-bunkách sa VDR exprimuje len po ich aktivácii. V makrofágoch a monocytoch vitamín D3 pozitívne ovplyvňuje svoje vlastné účinky zvýšením expície VDR. Niektoré signály sprostredkované cez TLR1,2 (receptory na bunkovej membráne sprostredkujúce signál pre VDR receptory) môžu zvýšiť expresiu VDR. 1,25(OH)₂ vitamín D3 tiež indukuje expresiu interleukínu 1 (IL-1) a katelicidín (antimikrobiálny peptid) v makrofágoch, čím prispieva k vrodeným imunitným reakciám na niektoré baktérie. 1,25(OH)₂ vitamín D3 potláča maturáciu dendritických buniek, bráni expresii molekúl MHC (molekúl hlavného histokompatibilného komplexu) triedy II a diferenciálnych znakov CD40, CD80, CD86, znižuje produkciu interleukínu 12 (IL-12) a zvyšuje produkciu interleukínu 10 (IL-10). 1,25(OH)₂ vitamín D3 znižuje v T-bunkách produkciu interleukínov 2 a 17 (IL-2, IL-17), interferónu- γ (IFN- γ), oslabuje cytotoxickú aktivitu T-buniek, znižuje proliferáciu T-buniek exprimujúcich CD4⁺ a CD8⁺ diferenciálne znaky a zvyšuje expresiu interleukínu 4 a 10 (IL-4, IL-10). Nakoniec, v B-bunkách 1,25(OH)₂ vitamín D3 znižuje produkciu imunoglobulínov triedy G a M (IgG a IgM), brzdí proliferáciu B-buniek, diferenciáciu plazmatických buniek a zvyšuje expresiu VDR.

Modifikované podľa Rodrigo Mora J. et al. Vitamin effects on the immune system: vitamin A and D take centre stage. Nature Reviews Immunology 2008;8:685–698

gand pre RANK – receptor nukleárního faktora κ B) na povrchu stromálních a osteoblastických buniek. Vázba RANKL na receptor RANK spôsobuje diferenciáciu osteoklastov a následne kostnú resorpciu. Časť účinkov TNF- α je sprostredkovaná cez DKK-1 (Dickkopf-1). DKK-1 redukuje osteoblastickú aktivitu cez negatívnu reguláciu Wnt signálnej dráhy. Wnt je β -katenín signálna dráha, ktorá hrá významnú úlohu v diferenciácii kostných buniek, ich proliferácii a apoptóze, a nabáda mezenchymálne progenitorové bunky diferenciovať sa na osteoblasty. Blokádou Wnt signálnych proteínov sa tlmí aktivita osteoprotegerínu, ktorý je silným inhibítorom kostnej resorpcie a antagonistom RANKL [5,6,7].

Vitamín D hrá dôležitú úlohu v metabolizme kostí. Hoci je vitamín D známy približne 80 rokov, jeho aktívny metabolit 1,25-(OH) $_2$ -D3 bol objavený pred menej ako 25 rokmi. Hlavným biologickým účinkom aktívnej formy vitamínu D je udržanie hladín sérového vápnika v normálnom rozmedzí. Zvyšuje črevnú absorpciu kalcia a ovplyvňuje aktivitu kostných buniek. V posledných rokoch sa však čoraz častejšie spomína jeho imunomodulačný účinok. Vitamín D pôsobí cez jadrové steroidné receptory (VDR) vyjadrené na antigén prezentujúcich bunkách, aktívnych T- a B-lymfocytoch. VDR je ligand-dependentný transkripčný faktor, ktorý tkanivovo špecificky moduluje expresiu génov. Primárnym cieľom pre imunomodulačný efekt vitamínu D sú dendritické bunky (DC). Vitamín D inhibuje ich zrenie a diferenciáciu, čo vedie k down-regulácii MHC II kostimulačných molekúl (CD40, CD80 a CD86) a zníženiu produkcie IL-12. Navyše vitamín D zvyšuje tvorbu IL-10 a podporuje apoptózu DC buniek. Spoločne tieto účinky inhibujú DC – závislú aktiváciu T-buniek. Zdá sa, že inhibuje aj diferenciáciu monocytových precursorov do nezrelých DC buniek a následne schopnosť nezrelých DC buniek podstúpiť terminálnu diferenciáciu v reakcii na podnety pre ich zrenie. Liečba VDR agonistami inhibuje T-bunky a tvorbu IL17 – prozápalového cytokínu, ktorý je produkován bunkami Th17 v mozgu, srdci, čreve a synovií. Pro-diferenciačný, imunomodulačný a protizápalový účinok syntetického VDR agonistu môže byť využitý na liečbu rôznych autoimunitných reumatických ochorení [1,7,8,9].

Cieľ práce

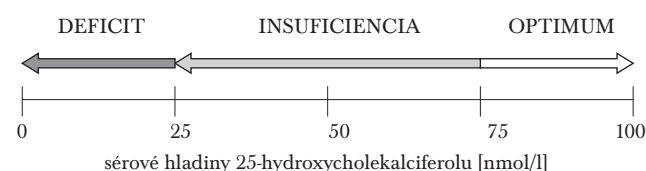
Cieľom našej práce bolo zistiť vzťah kostného metabolizmu a hladiny vitamínu D s aktivitou ochorenia RA.

Súbor pacientov a metodika

Súbor pacientov. Sledovali sme 43 pacientov (33 žien, 10 mužov) z reumatologickej ambulancie V. internej kliniky Lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Univerzitnej nemocnice v Bratislave s priemerným vekom 52,4 roka (viď tab. 1). Všetci pacienti

splnili kritéria RA podľa American College of Rheumatology, mali rôznu aktivitu ochorenia, pričom priemerná dĺžka trvania ochorenia bola 8,3 roka. Všetci pacienti užívali štandardné DMARDs. Obligatorne bolo užívanie metotrexátu v priemernej dávke 14,16 mg týždenne, pričom

Obr. 2
Definícia stavu saturácie 25-hydroxycholecalciferolu



Modifikované podľa Payer J., Killinger Z. Osteoporóza. Bratislava, Herba, spol. s. r. o., 2012:264

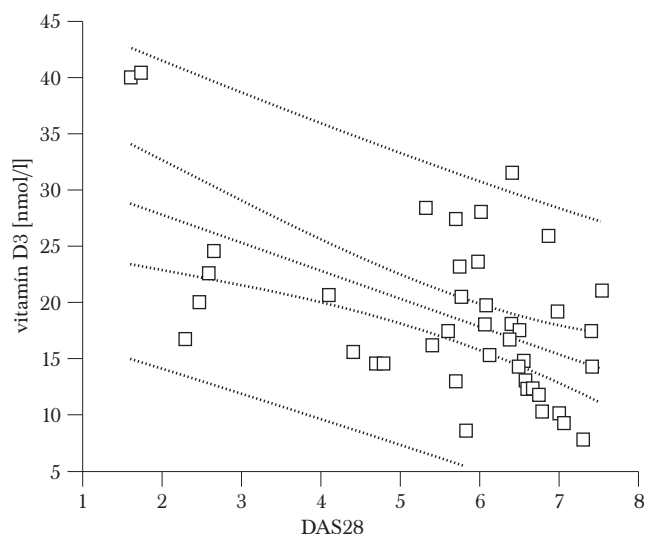
Tabuľka 1
Charakteristika súboru

počet pacientov	43
ženy/muži	33/10
postmenopauzálné ženy	11
priemerný vek (min/max)	52,4 (29/71)
medián trvania RA v rokoch (min/max)	8,3 (4/12)
priemerná hodnota DAS 28 (min/max)	5,639 (1,6/7,5)
priemerné denné dávky glukokortikoidov (prednison) v mg (min/max)	5,5 (2/10)

Tabuľka 2
Korelačná tabuľka

		CTx	DAS28	Osteokalcín	Vitamín D
CTx	Correlation Coefficient		0,216	0,512	-0,274
	Significance Level P		0,1637	0,0005	0,0756
	N		43	43	43
DAS28	Correlation Coefficient	0,216		0,038	-0,534
	Significance Level P	0,1637		0,8097	0,0002
	N	43		43	43
Osteokalcín	Correlation Coefficient	0,512	0,038		-0,286
	Significance Level P	0,0005	0,8097		0,063
	N	43	43		43
Vitamín D	Correlation Coefficient	-0,274	-0,534	-0,286	
	Significance Level P	0,0756	0,0002	0,063	
	N	43	43	43	

Graf 1
Korelácia DAS28 s hladinou vitamínu D3



Tabuľka 3
Priemerné hodnoty pozorovaných parametrov
u premenopauzálnych žien a mužov

	N	Mean	95% CI
CTx (ng/l)	32	413,351	359,758–466,947
DAS28	32	5,646	5,066–6,225
OC (μg/l)	32	23,196	19,892–26,501
Vitamín D3 (nmol/l)	32	19,025	16,111–21,939

Tabuľka 4
Korelačná tabuľka súboru bez postmenopauzálnych žien

		CTx	DAS28	Osteokalcín	Vitamín D
CTx	Correlation Coefficient		0,2533	0,4224	–0,4131
	Significance Level P		0,162	0,016	0,019
	N		32	32	32
DAS28	Correlation Coefficient	0,2533		0,0116	–0,6037
	Significance Level P	0,162		0,950	0,0002
	N	32		32	32
Osteokalcín	Correlation Coefficient	0,4224	0,0116		–0,3761
	Significance Level P	0,16	0,950		0,034
	N	32	32		32
Vitamín D	Correlation Coefficient	–0,4131	–0,6037	–0,3761	
	Significance Level P	0,019	0,0002	0,034	
	N	32	32	32	

niektorí pacienti užívali metotrexát aj v kombinácii s nesteroidnými antiflogistikami, sulfasalazínom alebo cyklosporínom. Všetci pacienti užívali glukokortikoidy (prednizón) v priemernej dennej dávke 5,5 mg v liečbe priemerne 1,5 roka. Do štúdie neboli zaradení pacienti liečení biologickými DMARDs. V našej štúdií bolo 11 postmenopauzálnych žien. Do štúdie boli zaradení len pacienti bez liečby antiporotikami a vitamínom D.

Aktivita ochorenia RA. Aktivitu ochorenia RA sme hodnotili na základe skóre DAS28. Tento index zahŕňa počet bolestivých a opuchnutých kĺbov, hodnoty sedimentácie a hodnotenie aktivity ochorenia samotným pacientom.

Kostný metabolizmus. K stanoveniu úrovne kostnej resorpcie sme použili β -CTx (C-terminálny telopeptid kolagénu typu I). K hodnoteniu kostnej formácie sme stanovovali osteokalcín (OC) v sére. Analýza kostných markerov bola vykonávaná elektrochemiluminiscenčnou imunoanalýzou (Roche Diagnostics).

Vitamín D. Hodnotili sme koncentráciu 25-hydroxycholecalciferolu v sére pomocou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie (HPLC).

Všetky vzorky séra na stanovenie osteomarkerov a 25(OH) vitamínu D sa štandardne odoberali v období od začiatku marca do konca mája 2011, aby sme predišli sezónnej variabilite vitamínu D.

Štatistické hodnotenie. Asociácie medzi spojitostou premenných boli skúmané pomocou Pearsonovho korelačného koeficientu. Všetky štatistické postupy boli vykonávané pomocou počítačového štatistického programu SPSS verzia 17.0. Výsledok sme hodnotili ako štatisticky významný pri $P < 0,001$.

Charakteristiky súboru pacientov sú zhodnotené v tabuľke 1.

Výsledky

Zhodnotenie korelácie medzi DAS28 a parametrami kostného metabolizmu vyjadruje korelačná tabuľka (tab. 3).

Korelačnú analýzu aktivity ochorenia RA so sérovou hladinou vitamínu D3 vyjadruje graf 1. Korelačný koeficient pre túto analýzu je $-0,534$ a $P < 0,001$ signifikantne vysoko významné.

Aby kostný metabolizmus nebol ovplyvnený menopauzálnym statusom, v ďalšom sledovaní sme zo štúdie vyčlenili 11 postmenopauzálnych žien. Priemerné hodnoty pozorovaných parametrov po ich vyradení sú znázornené v tabuľke 4.

Následne sme týchto 32 pacientov rozdelili do 4 kvartilov na základe hodnoty skóre DAS28 (tab. 4).

18,75 % premenopauzálnych žien a mužov mali insuficientné sérové hladiny 25-hydroxycholecalciferolu a 81,25 % z 32 pacientov mali deficit 25-hydroxycholecalciferolu, pričom ani jeden z týchto pacientov nedosahoval optimálne hladiny 25-hydroxycholecalciferolu v sére.

Vzťahy medzi jednotlivými parametrami v kvartiloch vyjadrujú *grafy 2, 3, 4*.

Diskusia

Tvrdenia, že vitamín D vplýva na výskyt autoimunitných ochorení, vychádzali z hypotézy, že dostupnosť ligandu vitamínu D v životnom prostredí (slnečné žiarenie, strava) je faktorom ovplyvňujúcim prevalenciu autoimunitných chorôb. Neskôr sa ukázalo, že aj genetické rozdiely vo VDR môžu byť jedným z mnohých faktorov, ktoré predurčujú jedinca pre rozvoj autoimunitného ochorenia [10]. Výskum VDR sa spočiatku zameriaval predovšetkým na jeho úlohu v regulovaní sérovej hladiny kalcia a kostného metabolizmu. Nedávne výskumy ukázali prítomnosť týchto receptorov aj na bunkách imunitného systému, ako sú makrofágy, dendritické bunky, T- a B-lymfocyty, hlavne po ich aktivácii. Väzba vitamínu D na jeho receptor inhibuje prozápalové procesy potlačením nadmernej činnosti CD4+, Th1, Th2 a Th17 buniek a tvorbu ich pridružených cytokínov ako interleukín-2, interferón- γ či TNF- α [11]. Zistenia upozorňujú aj na možné pozitívne ovplyvnenie autoimunitných ochorení vitamínom D. Laragione a spol. zistili, že hlodavce s deficitom vitamínu D sú náchylnejšie na rozvoj vážnejšieho poškodenia v experimentálnom modeli artritídy, ktorý koreluje s rádiografickým a histologickým poškodením [12]. V nedávno publikovanej štúdii autori zistili výrazne nižšie hodnoty vitamínu D u pacientov zle reagujúcich na liečbu a pacientov s vyššou aktivitou RA [13]. Rossini a spol. potvrdili inverzný vzťah medzi aktivitou RA a sérovými hladinami vitamínu D3 a vplyv liečby vitamínom D3 na aktivitu ochorenia RA [10]. Iní autori vychádzajú z hypotézy, že hypovitaminóza D pri autoimunitných ochoreniach, vrátane RA, je skôr dôsledkom ako modifikátorom imunitnej odpovede [7].

V našej štúdii sme preukázali signifikantnú negatívnu koreláciu hladiny vitamínu D3 s aktivitou ochorenia bez ohľadu na menopauzálny status. Vzhľadom však na limitovanú veľkosť súboru a viaceré nižšie uvedené koincidujúce faktory nie je možné preukázaný vzťah považovať za kauzálny.

Výsledná kostná hmota pri RA je ovplyvnená stupňom funkčného postihnutia, kumulatívnym účinkom glukokortikoidov, aktivity ochorenia a dĺžkou trvania ochorenia. Nie je plne objasnené, či osteoporóza pri RA vzniká v dôsledku zníženia kostnej formácie alebo zvýšenia kostnej resorpcie. Markery kostnej resorpcie dávajú oproti tomu viac uniformné výsledky, s významným nárastom u pacientov s RA v porovnaní s kontrolnou skupinou. Deodhar a spol. preukázali vyššiu úroveň osteoresorpcie u pacientov s aktívnym ochorením ako u pacientov s neaktívnym ochorením [7].

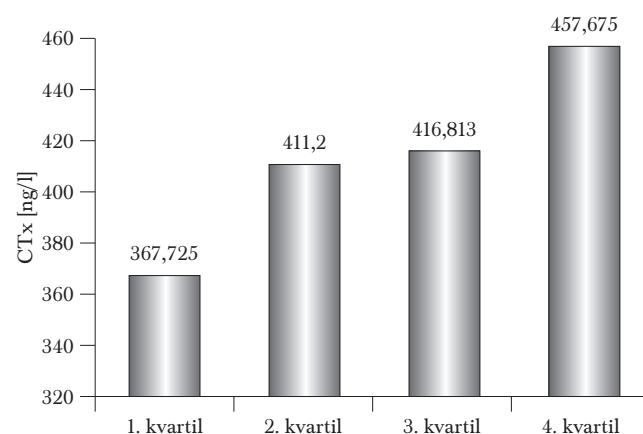
V našej štúdii, po vyčlenení postmenopauzálnych žien a rozdelení pacientov do 4 kvartilov na základe DAS28, nachádzame vyššiu úroveň kostnej resorpcie u pacientov s vyššou aktivitou RA. Poukázali sme aj na tzv. uncoupling

fenomén kostných markerov – so stúpajúcim DAS28, stúpa CTx, no klesá marker kostnej formácie. Vzťah medzi markermi kostného metabolizmu a aktivitou ochorenia nedosiahol štatistickú signifikanciu, na čom sa mohli podieľať aj limitácie našej štúdie. Patrí sem, vzhľadom na charakter sledovaných markerov (vysoká variabilita, inter- a intraindividuálne rozdiely hodnôt osteomarkerov), hlavne nedostatočná veľkosť nášho súboru, ovplyvnená však aj faktom, že do

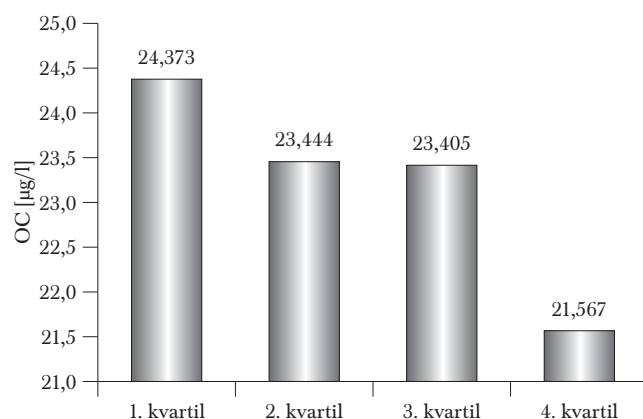
Tabuľka 5
Rozdelenie pacientov do 4 kvartilov podľa skóre DAS28

	1. kvartil (N-8)	2. kvartil (N-8)	3. kvartil (N-8)	4. kvartil (N-8)
DAS28	3,305	5,673	6,499	7,106
CTx	367,725	411,200	416,813	457,675
Vitamín D3	23,818	20,023	17,091	15,169
OC	24,373	23,444	23,405	21,564

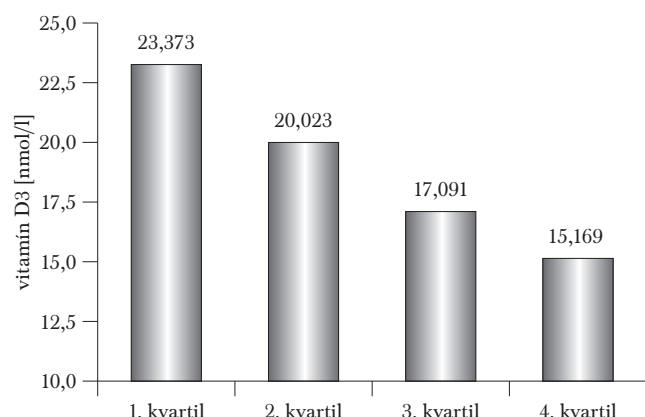
Graf 2
Zmeny priemerných hodnôt CTx v jednotlivých kvartiloch



Graf 3
Zmeny priemerných hodnôt OC v jednotlivých kvartiloch



Graf 4
Zmeny priemerných hodnôt vitamínu D3 v jednotlivých kvartiloch



sledovania sme zaradili len časť pacientov, bez suplementácie vitamínom D a bez antiporotickej liečby. Na nižšej osteoformácii v skupine pacientov s vysokou aktivitou ochorenia RA sa určite spolupodieľalo aj užívanie vyšších dávok glukokortikoidov. V ďalšom sledovaní plánujeme preto nielen rozšíriť veľkosť súboru, ale aj jeho užšiu špecifikáciu v zmysle oddiferencovania vplyvu pohlavia, veku, menopauzálného statusu, dĺžky trvania RA a iných faktorov s potenciálnym vplyvom na kostný metabolizmus. Taktiež plánujeme doplniť denzitometrické vyšetrenie a hodnotenie kvality kosti pomocou stanovenia trabekulárneho kostného skóre u pacientov s RA.

Záver

Aj keď etiopatogenéza kostných zmien pri RA nie je doteraz presne objasnená, je známe, že sekundárna osteoporóza

vedie k výraznému nárastu fraktúr a štrukturálne poškodenie je z veľkej časti zodpovedné za vznik deformít kĺbov. Oba faktory sú zodpovedné za vysokú socio-ekonomickú záťaž, ktorú RA predstavuje. Hlavne u pacientov s vyššou aktivitou RA je preto dôležité v priebehu ochorenia častejšie monitorovať zmeny kostnej denzity, kostného obratu a hladinu vitamínu D3. Správna interpretácia parametrov kostného metabolizmu môže viesť k včasnému nasadeniu efektívnej antiporotickej liečby a adekvátnej suplementácie vitamínom D s následným poklesom závažných komplikácií osteoporózy.

Literatúra

1. Payer J, Killinger Z. Osteoporóza. Bratislava, Herba, spol. s r. o., 2012:264.
2. Kim SY, Schneeweiss S, Liu J et al. Risk of osteoporotic fracture in large population – based cohort of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Research and Therapy* 2010;12:R154.
3. Vis M et al. Early changes in bone metabolism in rheumatoid arthritis patients treated with infliximab. *Arthritis and Rheumatism* 2003;48(10):2996–3000.
4. Zwerina J et al. Imbalance of local bone metabolism in inflammatory arthritis and its reversal upon tumor necrosis factor blockade: direct analysis of bone turnover in murine arthritis. *Arthritis Research and Therapy* 2006;8:R22.
5. Diarra D et al. Dickopf-1 is a master regulator of joint remodeling. *Nature medicine* 2007;13(2):136–163.
6. Saldenber-Kermanac N et al. TNF- α antibodies and osteoprotegerin decrease systemic bone loss associated with inflammation through distinct mechanisms in collagen-induced arthritis. *Bone* 2004;35:1200–1207.
7. Deodhar AA, Woolf AD. Bone mass measurement and bone metabolism in rheumatoid arthritis: A review. *British Journal of Rheumatology* 1996;35:309–322.
8. Cherniack EP. A Ray of hope for tender joints: vitamin D and rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2011;38:5–7.
9. Mora JR et al. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nature Reviews Immunology* 2008;8:685–698.
10. Rossini M et al. Vitamin D deficiency in rheumatoid arthritis: prevalence, determinants and associations with disease activity and disability. *Arthritis research and therapy* 2010;12:R216.
11. Toubi E, Shoenfeld Y. The role of vitamin D in regulating immune responses. *IMAJ* 2010;12:174–175.
12. Laragione T, Shah A, Gulko PS. The vitamin D receptor regulates rheumatoid arthritis synovial fibroblast invasion and morphology. *Mol Med* 2012;18:194–200.
13. Attar SM. Vitamin D deficiency in rheumatoid arthritis. Prevalence and association with disease activity in Western Saudi Arabia. *Saudi Med J* 2012;33(5):520–525.

