



## L'acido urico predice i livelli di proteina C-reattiva ed interleuchina-6 dopo tre anni di follow-up: risultati dello studio InCHIANTI

### Usefulness of uric acid to predict changes in C-reactive protein and interleukin-6 in 3-year period in Italians aged 21 to 91 years

C. RUGGIERO<sup>1,2</sup>, A. CHERUBINI<sup>2</sup>, N.H. NGUYEN<sup>2</sup>, G. DELL'AQUILA<sup>2</sup>, B. GASPERINI<sup>2</sup>, R. SERRA<sup>1,2</sup>, M. MAGGIO<sup>1</sup>, F. LAURETANI<sup>3</sup>, S. BANDINELLI<sup>4</sup>, U. SENIN<sup>2</sup>, L. FERRUCCI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Sezione Studi Longitudinali, Ricerca Clinica, Istituto Nazionale sull'Invecchiamento, NIH, Baltimore, Maryland, USA; <sup>2</sup> Istituto di Geriatria e Gerontologia, Università di Perugia; <sup>3</sup> Agenzia per la Salute, Regione Toscana, Firenze; <sup>4</sup> A.S.F. Riabilitazione Geriatrica, Firenze

**Aim:** The role of uric acid (UA) in the process of atherotrombosis is controversial. Although serum UA has powerful antioxidant properties, epidemiological studies show that UA is a risk factor for cardiovascular diseases and is positively associated with proinflammatory markers.

**Methods:** We investigated the relationship between baseline UA and changes in UA circulating levels with C-Reactive Protein (CRP) and interleukin-6 (IL-6) after 3 years of follow-up in a cohort of 892 Italian men and women aged 21-91 years. Participants had complete baseline and follow-up data on UA, inflammatory markers and covariates. An autoregressive approach was used to study such a relationship.

**Results:** In adjusted analyses, baseline UA and changes in UA levels predicted a 3 years change in CRP ( $p = 0.028$ ), but not IL-6 ( $p = 0.101$ ). The relationship between UA and CRP persisted after adjustment for baseline IL-6. Participants with high UA at baseline had progressively higher probability of developing clinically relevant elevated levels of IL-6 ( $> 2.5$  pg/mL) and CRP ( $> 3.0$  mg/L) over 3 years.

**Conclusions:** Our study suggests that in a population-based cohort, baseline UA and changes in circulating UA levels over 3 years of follow-up predict changes in circulating CRP levels independent of relevant confounders, including baseline IL-6 levels.

**Key words:** Uric acid • Inflammation • Cardiovascular diseases • Inflammatory markers • Metabolism

## Introduzione

Gli elevati livelli sierici di acido urico (AU) si associano ad uno stato pro-infiammatorio sistemico <sup>1</sup>, all'aumento di proteina C-reattiva (PCR) <sup>2</sup>, alla disfunzione endo-



teliale<sup>3,4</sup>, all'ipertensione<sup>5</sup> ed alle malattie cardiovascolari<sup>6</sup>. L'iperuricemia è considerata un fattore di rischio di mortalità soprattutto nelle donne<sup>7,8</sup>, negli anziani<sup>9,10</sup> e nei soggetti ad elevato rischio cardiovascolare<sup>12</sup> o affetti da preesistenti malattie cardiovascolari<sup>11</sup>. Alcuni studi sperimentali hanno dimostrato che il danno cellulare determina l'aumento dell'AU citoplasmatico, e questo stimolerebbe la risposta infiammatoria sia attivando la maturazione delle cellule dendritiche che promuovendo la risposta immunitaria mediata dai linfociti T CD8+<sup>13</sup>. Malgrado queste evidenze, pochi studi hanno indagato la relazione tra AU e marker pro-infiammatori. In un precedente studio condotto dal nostro gruppo abbiamo dimostrato l'esistenza di un'associazione positiva tra AU e marker pro-infiammatori in un'ampia coorte di soggetti anziani, molti dei quali erano normo-uricemici<sup>14</sup>. Data la natura trasversale dello studio, non è stato possibile verificare la relazione tra i livelli circolanti di AU e le modificazioni longitudinali dei marker infiammatori.

Scopo di questo studio è pertanto quello di verificare se i livelli sierici di AU al basale e le sue variazioni in un arco temporale di 3 anni predicono incrementi patologici di interleuchina-6 (IL-6) e PCR in un campione rappresentativo della popolazione generale seguito longitudinalmente per 3 anni.

## Metodi

Lo studio InCHIANTI (Invecchiare in Chianti) è un progetto epidemiologico longitudinale che è stato condotto in due comuni della Toscana, Bagno a Ripoli e Greve in Chianti, entrambi in provincia di Firenze. Tale studio è stato effettuato al fine di identificare i fattori predittivi di declino funzionale in età avanzata. Il protocollo di studio è risultato conforme alla Dichiarazione di Helsinki ed è stato approvato dal Comitato Etico dell'Istituto Nazionale Italiano per la Ricerca e Cura dell'Anziano.

Brevemente, nell'Agosto del 1998, 1.270 soggetti di età  $\geq 65$  anni e 60 soggetti (30 di sesso maschile e 30 di sesso femminile) in ogni decade di età fra i 20 ed i 60 anni e nel gruppo di età compresa fra 61 e 64 anni sono stati individuati in maniera casuale dai registri comunali. Dei 1.530 soggetti del campione iniziale, 1.453 (94%) hanno accettato di partecipare allo studio. Di questi, 1.343 hanno acconsentito al prelievo ematico e 1.325 (86% di quelli inizialmente ritenuti idonei) hanno completato la raccolta dei dati al basale avvenuta dal Settembre 1998 al Marzo 2000.

I dati del follow-up sono stati raccolti tra il 2001 ed il 2002. Dei 1.453 partecipanti allo studio al basale, 142 (9,8%) sono deceduti, 127 (8,7%) hanno volontariamente interrotto la propria collaborazione, e 17 (1,6%) sono stati ritenuti non idonei a proseguire il follow-up, in quanto non in grado di fornire una quantità sufficiente di siero per poter effettuare i dosaggi dei marker di infiammazione. Dei 286 soggetti mancanti al follow-up, molti avevano superato gli 85 anni, erano di sesso femminile ed affetti da diabete, e presentavano al basale livelli elevati di AU, IL-6 e PCR. Considerando che 961 erano i soggetti con dati completi relativi sia all'AU che ai marker di infiammazione al basale ed al follow-up, e che di questi sono stati esclusi 47 soggetti affetti da cancro, 2 soggetti affetti da insufficienza renale in fase terminale, ed infine 20 soggetti in terapia con allopurinolo. Il campione finale dello studio è stato di 892 soggetti (404 uomini, 488 donne).

Tutti i partecipanti sono stati sottoposti a prelievo ematico al mattino, dopo 12 ore di digiuno e dopo essere rimasti seduti per almeno 15 minuti. Dopo la separazione, il siero ed il plasma sono stati immediatamente posti in una cella frigorifera a temperatura di -80 °C e successivamente utilizzati per il dosaggio dell'AU e delle citochine. Una dettagliata descrizione delle procedure di raccolta ed analisi dei campioni è stata riportata in un precedente studio<sup>15</sup>.

Alla valutazione basale ed a quella longitudinale, l'AU (mg/dL) è stato misurato utilizzando il metodo enzimatico-colorimetrico (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany). Tale metodica ha una elevata sensibilità ed è in grado di quantificare l'AU in un range compreso tra 0,2 e 25,0 mg/dL. Il coefficiente di variazione intra-dosaggio è stato dello 0,5%, mentre quello tra dosaggi è stato del 7,0%. Ai fini dell'analisi statistica sono stati definiti i quintili di AU utilizzando i seguenti *cut-off*: 4,0, 4,7, 5,3 e 6,1 mg/dL.

Al basale, i livelli sierici di IL-6 sono stati misurati con la metodica ELISA, utilizzando dei kit commerciali ultrasensibili (Human Ultrasensitive, Biosource International Inc., Camarillo, CA, USA). Il valore minimo rilevato di IL-6 è stato pari a 0,10 pg/mL, con un coefficiente di variazione tra dosaggi del 7%. Ai fini dell'analisi è stato considerato il valore medio di due misurazioni. Il dosaggio di IL-6 al follow-up è stato eseguito presso i Laboratori di Ricerca Clinica e Biochimica dell'Università del Vermont (R&D Systems, Inc., Minneapolis, Minnesota). Per verificare l'equivalenza della metodologia utilizzata al follow-up con quella utilizzata

al basale, i dosaggi dell'IL-6 sono stati ripetuti su un sottogruppo di campioni raccolti al basale (75 soggetti) ed i risultati ottenuti con la metodica del follow-up sono stati confrontati con quelli ottenuti con la metodica del basale.

Le due misurazioni correlavano all'89%, cosicché i valori ottenuti al basale sono stati trasformati, mediante l'utilizzo di un'equazione derivata *ad hoc*, al fine di ottimizzare la comparabilità tra le due misurazioni. Infine, sulla scorta di precedenti studi, i livelli sierici di IL-6 sono stati categorizzati in relazione alla presenza (IL-6 > 2,5 pg/mL) od assenza (IL-6 ≤ 2,5 pg/mL) di elevato rischio di sviluppare declino funzionale e disabilità<sup>16</sup>.

Sia alla valutazione basale che al follow-up, i livelli sierici della PCR sono stati misurati mediante metodica ELISA ad elevata sensibilità, utilizzando proteine purificate ed anticorpi policlonali anti-PCR (Calbiochem, San Diego, CA, USA) ed in accordo agli standard previsti dalla WHO *First International Reference*. Il valore minimo rilevato di PCR è stato pari a 0,03 mg/L, con un coefficiente di variazione tra dosaggi del 5%. Sulla base dei criteri della *American Heart Association*, i livelli di PCR sono stati categorizzati in relazione alla presenza (PCR > 3,0 mg/dL) od assenza (PCR < 3,0 mg/dL) di elevato rischio cardiovascolare<sup>17</sup>.

Utilizzando le categorie di rischio sia per l'IL-6 che per la PCR, i soggetti partecipanti sono stati inseriti in tre classi di rischio in base ai cambiamenti dei livelli di IL-6 e di PCR rilevati tra la valutazione basale e quella longitudinale. Le classi di rischio sono state così definite: soggetti con "stato infiammatorio persistentemente lieve o remittente"; soggetti con "stato infiammatorio ingravescente"; soggetti con "grave stato infiammatorio cronico". Alla prima classe di rischio, cioè quella dei soggetti con "stato infiammatorio persistentemente lieve o remittente", appartengono soggetti con IL-6 ≤ 2,5 pg/mL e PCR ≤ 3,0 mg/dL al basale ed al follow-up, oppure soggetti con IL-6 > 2,5 pg/mL al basale e ≤ 2,5 pg/mL al follow-up, od ancora soggetti con PCR > 3,0 mg/dL al basale e ≤ 3,0 mg/dL al follow-up. Nella seconda classe di rischio sono inclusi soggetti con "stato infiammatorio ingravescente", cioè coloro che presentano livelli di IL-6 ≤ 2,5 pg/mL al basale e > 2,5 pg/mL al follow-up, oppure livelli di PCR ≤ 3,0 mg/dL al basale e > 3,0 mg/dL al follow-up. Infine, appartengono alla terza classe di rischio i soggetti con "grave stato infiammatorio cronico", cioè quelli che presentano livelli di IL-6 > 2,5 pg/mL e di PCR > 3,0 mg/dL sia al basale che al follow-up.

I dati demografici e le informazioni su fumo, introito energetico totale, consumo di alcol, attività fisica ed uso di farmaci sono state raccolte utilizzando questionari standardizzati.

L'esposizione al fumo è stata stimata sulla base del consumo di sigarette, calcolato come "(numero di sigarette fumate al giorno) x (durata in anni di tabagismo)".

Il livello di attività fisica svolta nell'anno precedente è stato valutato sulla base delle risposte ad un questionario a domande multiple. I soggetti sono stati classificati in tre categorie:

- 1) sedentari: soggetti inattivi o che svolgono attività fisica leggera (es. camminare, svolgere le attività domestiche, altro) per meno di 1 ora alla settimana;
- 2) lievemente attivi: soggetti che svolgono attività fisica leggera per 2-4 ore alla settimana;
- 3) moderatamente-notevolmente attivi: soggetti che svolgono attività fisica leggera per più di 4 ore alla settimana od attività fisica moderata (es. camminare a passo svelto, svolgere attività sportive, giardinaggio) per almeno 1 o 2 ore alla settimana.

Il consumo giornaliero di alcol (g/die), l'introito energetico totale (kcal/die) e quello di proteine animali (g/die) sono stati ottenuti da un questionario sviluppato nell'ambito dello *European Prospective Investigation into Cancer (EPIC) and Nutrition food frequency questionnaire*. Le informazioni acquisite tramite il questionario sono state convertite nell'assunzione di macro e micronutrienti (g/die), utilizzando un software elaborato in collaborazione con l'Istituto Europeo di Oncologia<sup>18</sup> che ha come riferimento la tabella della composizione dei cibi.

Tutti i soggetti sono stati esaminati da un medico geriatra al fine di accertare lo stato di salute secondo criteri prestabiliti. La funzione epatica è stata valutata tramite il monitoraggio della glutammico-ossalacetico transaminasi (GOT) e della glutammico-piruvico transaminasi (GPT).

La funzione renale è stata stimata misurando i livelli sierici di creatinina e la velocità di filtrazione glomerulare (VFG in ML/MIN/1,73/M<sup>2</sup>) basata sulla creatinuria delle 24 ore<sup>19</sup>.

Le principali malattie croniche sono state identificate e caratterizzate sulla base di criteri che includono informazioni cliniche e test ematobiochimici<sup>20</sup>. La malattia cardiovascolare è stata definita in base all'anamnesi positiva per angina pectoris, infarto del miocardio, scompenso cardiaco congestizio, mentre quella cerebrovascolare in base all'anamnesi positiva per ictus cerebri ed attacco

ischemico transitorio. La sindrome metabolica è stata definita in base a criteri stabiliti dal *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III*<sup>21</sup>. L'aterosclerosi è stata definita come la presenza di placche aterosclerotiche carotidee, indipendentemente dalla significatività della stenosi, e/o la presenza di arteriopatia obliterante degli arti inferiori. La presenza di placca aterosclerotica e stenosi carotidea è stata valutata mediante flussimetria ultrasonografica Doppler. L'arteriopatia obliterante degli arti inferiori è stata definita sulla base dell'indice di Winsor (ABI caviglia-braccio < 0,90)<sup>22</sup>. Tutti i partecipanti sono stati sottoposti ad esame ultrasonografico Doppler delle carotidi ed ad una stima dell'ABI.

## Analisi statistica

Le caratteristiche dei soggetti sono state descritte per l'intero gruppo di studio in relazione ai cambiamenti dei livelli di IL-6 e PCR dal basale al follow-up. Le variabili con distribuzione normale sono state riportate come valori medi e deviazioni standard (DS); quelle con distribuzione asimmetrica sono state invece riassunte come mediane ed intervalli interquartili. Le variabili con distribuzione asimmetrica sono state trasformate in valori logaritmici per l'analisi di regressione, ed infine riconvertite per la presentazione dei dati. La significatività statistica delle differenze tra i tre gruppi è stata valutata utilizzando l'ANCOVA e la regressione logistica entrambe aggiustate per età e sesso. La significatività del trend dei marker infiammatori nei quintili di AU è stata verificata utilizzando il test del chi quadrato di Mantel-Haenszel. La significatività statistica è stata attribuita ai test con  $p < 0,05$ . Inizialmente, sono stati descritti i livelli medi dei marker di infiammazione nei quintili di AU. Dopo aver indagato la relazione tra IL-6 e PCR al basale ed IL-6 e PCR al follow-up nei soggetti con livelli di AU rispettivamente inferiori e superiori alla media, abbiamo esaminato la relazione tra i livelli basali di AU ed i suoi cambiamenti nei 3 anni successivi ed i parametri infiammatori al follow-up utilizzando un modello di autoregressione<sup>23</sup>. In base a tale modello, i livelli basali di AU e le sue variazioni nell'arco di 3 anni sono state messe in relazione ai livelli di IL-6 e PCR al follow-up aggiustando per i livelli basali degli stessi marker pro-infiammatori ed altri potenziali fattori di confondimento.

La probabilità di presentare al follow-up un elevato rischio clinico in base a IL-6 > 2,5 pg/ml e PCR > 3 mg/dl è stata stimata mediante modello di re-

gressione logistica aggiustata per età, sesso e livelli basali di parametri infiammatori. Tutte le analisi effettuate sono state eseguite utilizzando il pacchetto statistico SAS, versione 8,2 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

## Risultati

Le principali caratteristiche dei soggetti inclusi nell'analisi longitudinale (n = 892) e degli stessi soggetti categorizzati in base alla valutazione del rischio clinico sono riportate in Tabella I. I soggetti appartenenti alla classe di rischio in base a IL-6 e PCR presentano caratteristiche simili. Rispetto ai soggetti con "stato infiammatorio persistentemente lieve o remittente" (IL-6  $\leq$  2,5 pg/mL o PCR  $\leq$  3,0 mg/dL sia al basale che al follow-up), quelli con "stato infiammatorio ingravescente" (IL-6 al basale  $\leq$  2,5 pg/mL ed al follow-up > 2,5 pg/mL; PCR al basale  $\leq$  3,0 mg/dL ed al follow-up > 3,0 mg/dL) o con "grave stato infiammatorio cronico" (IL-6 > 2,5 pg/mL e PCR > 3,0 mg/dL sia al basale che al follow-up) oltre ad essere significativamente più anziani, hanno livelli di AU più elevati, hanno un BMI (*body mass index*) superiore, praticano meno attività fisica ed hanno una maggior prevalenza di malattie cardiovascolari e loro fattori di rischio (es. diabete ed ipertensione).

Ad una valutazione trasversale dei dati raccolti al basale ed al follow-up, i livelli circolanti di AU, IL-6 e PCR si correlano all'età in maniera significativa. In tutti i soggetti, i livelli di AU aumentano notevolmente dalla valutazione basale a quella longitudinale ( $0,27 \pm 0,86$  mg/dL;  $p < 0,0001$ ), mentre i livelli di IL-6 ( $p = 0,0501$ ) e PCR ( $p = 0,1027$ ) non si modificano in modo rilevante tra le due valutazioni. Al basale ed al follow-up, i livelli di IL-6 ( $p = 0,0428$ ), PCR ( $p \leq 0,0001$ ) e la percentuale di soggetti con livelli di IL-6 > 2,5 pg/ml ( $p < 0,0001$ ) e di PCR > 3,0 mg/dL ( $p < 0,0001$ ) aumentano significativamente nei quintili di AU (Tab. II).

Indipendentemente dall'età e dal sesso, i soggetti che al basale presentano livelli di IL-6 > 2,5 pg/mL e di PCR > 3,0 mg/dL vanno incontro dopo 3 anni ad un incremento medio di questi parametri (IL-6:  $2,6 \pm 0,6$  pg/mL;  $p < 0,0001$ ; PCR:  $4,10 \pm 0,47$  mg/dL;  $p < 0,0001$ ) maggiore rispetto a quello di soggetti con livelli basali di IL-6  $\leq$  2,5 pg/mL e PCR  $\leq$  3,0 mg/dL. Dalla valutazione basale al follow-up, i soggetti con livelli di AU superiori alla media tendono a presentare livelli di IL-6 e PCR più elevati rispetto a quelli con livelli di AU inferiori alla media. Questo andamento si è mantenuto costante

**Tab. I.** Caratteristiche del campione totale ed in relazione alle modificazioni a 3 anni dei livelli di IL-6 e PCR.

Variabili	Livelli di IL-6 dal basale al follow-up				Livelli di PCR dal basale al follow-up		
	Campione totale	Persistentemente bassi o remittenti <sup>a</sup> (n = 524)	Aumentati <sup>b</sup> (n = 107)	Persistentemente elevati <sup>c</sup> (n = 261)	Persistentemente bassi o remittenti (n = 596)	Aumentati (n = 90)	Persistentemente elevati (n = 206)
Donne (%)	488 (54,7%)	301 (57,4%)	62 (57,9%)	125 (47,9%)	306 (51,3%)	54 (60,0%)	128 (62,4%)
Età (anni)	66,0 ± 15,6	61,2 ± 16,4	70,2 ± 12,8	73,9 ± 10,6 <sup>d</sup>	64,3 ± 16,4	68,2 ± 15,2	70,0 ± 12,5 <sup>d</sup>
AU (mg/dL)	4,9 ± 1,3	4,8 ± 1,1	4,9 ± 1,4	5,4 ± 1,4 <sup>e</sup>	4,8 ± 1,2	4,9 ± 1,4	5,2 ± 1,4 <sup>d</sup>
VFG (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	80,7 ± 17,2	82,7 ± 17,2	76,5 ± 15,4	78,4 ± 17,4	82,0 ± 17,1	79,4 ± 16,9	77,5 ± 17,4
PCR (µg/mL)	2,14 (3,5)	1,5 (2,4)	1,9 (3,2)	4,0 (5,8) <sup>d</sup>	1,4 (2,0)	1,8 (1,2)	5,8 (5,9) <sup>d</sup>
IL-6 (pg/mL)	2,42 (1,8)	2,0 (1,2)	1,8 (0,7)	3,9 (2,3) <sup>d</sup>	2,2 (1,7)	2,1 (1,5)	3,3 (2,7) <sup>d</sup>
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27,0 ± 4,0	26,6 ± 3,8	27,4 ± 3,9	27,7 ± 4,4 <sup>e</sup>	26,5 ± 3,6	26,6 ± 4,4	28,7 ± 4,6 <sup>d</sup>
Introito energetico (kcal/d)	2061 ± 623	2124 ± 636	2047 ± 616	1939 ± 582	2108 ± 640	1966 ± 589	1964 ± 572
Introito proteico (g/d)	79,9 ± 22,7	81,4 ± 22,8	80,9 ± 23,1	76,4 ± 22,1	80,7 ± 22,7	79,8 ± 23,0	77,5 ± 22,5
Consumo di alcol (g/d)	7,8 (26,5)	7,6 (26,7)	9,1 (25,9)	7,8 (25,5)	8,0 (26,6)	7,6 (14,9)	7,6 (19,5)
Fumo (pacchetti/anno)	0,0 (16,2)	0,0 (13,4)	0,0 (15,1)	0,0 (24,0)	0,0 (16,8)	0,0 (10,9)	0,0 (19,0)
Attività fisica (h/sett)	3,1 ± 0,8	3,3 ± 0,7	3,0 ± 0,8	2,7 ± 0,9 <sup>d</sup>	3,2 ± 0,8	3,0 ± 0,9	2,8 ± 0,8 <sup>e</sup>
Iperensione arteriosa (%)	505 (56,6%)	257 (49,0%)	62 (58,0%)	186 (71,3%) <sup>e</sup>	319 (53,5%)	50 (55,5%)	136 (66,2%)
Malattie cardiovascolari (%)	168 (18,8%)	72 (13,7%)	21 (19,6%)	75 (28,7%) <sup>e</sup>	95 (16,0%)	25 (27,8%)	48 (23,3%)
Malattie cerebrovascolari (%)	42 (4,7%)	10 (1,9%)	6 (5,7%)	26 (10,1%) <sup>e</sup>	21 (3,6%)	2 (2,2%)	19 (9,4%) <sup>e</sup>
Diabete mellito di tipo 2 (%)	140 (15,7%)	71 (13,5%)	17 (15,9%)	52 (20,0%) <sup>e</sup>	83 (14,0%)	20 (22,2%)	37 (17,9%) <sup>e</sup>
Sindrome metabolica (%)	170 (19,1%)	79 (15,1%)	20 (18,7%)	71 (27,2%) <sup>e</sup>	96 (16,1%)	16 (17,8%)	58 (28,2%) <sup>e</sup>
Aterosclerosi (%)	113 (13,8%)	34 (6,9%)	21 (21,2%)	58 (25,5%) <sup>e</sup>	61 (10,9%)	18 (22,5%)	34 (18,6%) <sup>e</sup>
Artrosi dell'anca e del ginocchio (%)	63 (7,1%)	29 (5,5%)	6 (5,6%)	28 (10,7%) <sup>e</sup>	32 (5,4%)	10 (11,1%)	21 (10,2%) <sup>e</sup>
Uso di diuretici (%)	47 (5,3%)	16 (3,0%)	5 (4,7%)	26 (10,0%) <sup>e</sup>	26 (4,4%)	4 (4,4%)	17 (8,2%) <sup>e</sup>

I valori sono espressi come media ± DS, mediana (range di interquartili) o numero (percentuale); <sup>a</sup> persistentemente bassi o remittenti: al follow-up IL-6 ≤ 2,5 pg/mL o PCR ≤ 3,0 mg/dL indipendentemente dai livelli basali; <sup>b</sup> aumentati per IL-6: al basale ≤ 2,5 pg/mL ed al follow-up > 2,5; per PCR: al basale ≤ 3,0 mg/dL ed al follow-up > 3,0; <sup>c</sup> persistentemente elevati: IL-6 > 2,5 pg/mL e PCR > 3,0 mg/dL sia al basale che al follow-up; i test statistici sono stati effettuati mediante analisi della covarianza ed analisi di regressione aggiustate per età e sesso; <sup>d</sup> p < 0,0001; <sup>e</sup> p < 0,005.

**Tab. II.** Distribuzione dei soggetti con livelli patologici di IL-6 e PCR nei quintili basali di AU.

	Quintili di acido urico					Valore di p*
	1 (n = 201)	2 (n = 178)	3 (n = 160)	4 (n = 175)	5 (n = 178)	
Range di AU (mg/dL)	1,9-3,9	4,0-4,6	4,7-5,1	5,2-5,9	5,9-10,9	
<b>Livelli basali</b>						
IL-6 (pg/mL)	2,8 ± 2,3	2,9 ± 2,3	3,4 ± 2,4	3,7 ± 6,0	3,6 ± 2,6	0,0428
PCR (µg/mL)	3,3 ± 6,0	3,9 ± 9,0	4,1 ± 5,8	4,4 ± 6,3	4,9 ± 7,0	0,0016
IL-6 > 2,5 pg/mL	73 (36%)	72 (40%)	85 (53%)	96 (55%)	103 (58%)	< 0,0001
PCR > 3,0 µg/mL	57 (28%)	56 (31%)	64 (40%)	77 (44%)	92 (52%)	< 0,0001
<b>Livelli al follow-up</b>						
IL-6 (pg/mL)	2,7 ± 2,4	2,6 ± 2,2	3,1 ± 2,6	3,5 ± 2,8	3,4 ± 2,9	< 0,0001
PCR (µg/mL)	2,8 ± 3,9	2,9 ± 3,8	3,5 ± 4,9	4,2 ± 7,4	5,2 ± 11,8	< 0,0001
IL-6 > 2,5 pg/mL	73 (36%)	53 (30%)	63 (40%)	83 (47%)	96 (54%)	< 0,0001
PCR > 3,0 µg/mL	58 (29%)	53 (30%)	49 (31%)	68 (39%)	68 (38%)	0,00118

I valori sono espressi come media ± DS o numeri (percentuale); \* le comparazioni statistiche tra i valori medi provengono da un modello di regressione lineare aggiustato per età e sesso, quelle fra le proporzioni provengono dal test del chi quadrato secondo Mantel-Haenszel.

sia per l'IL-6 che per la PCR in ciascun quintile di AU (Fig. 1).

Indipendentemente dal sesso, dall'età e dai livelli basali di IL-6 e PCR, più elevati sono i livelli iniziali di AU e significativamente più elevati sono quelli di IL-6 e PCR al follow-up (Tab. III, modello 1a).

Focalizzando sulla relazione tra AU ed IL-6, l'associazione tra AU basale e IL-6 al follow-up si è lievemente indebolita dopo aggiustamento per BMI, VFG, GOT, GPT, introito proteico ed energetico totale, consumo di alcol, fumo e livello di attività fisica (Tab. III, modello 2a) ed ha perso completamente significatività statistica dopo aggiustamento per le condizioni cliniche (Tab. III, modello 3a).

Al contrario, i livelli basali di AU si associano significativamente ai livelli di PCR al follow-up (Tab. III,

modello 2a), e tale associazione è rimasta statisticamente significativa anche dopo aggiustamento per tutte le variabili di confondimento, incluse le condizioni cliniche (Tab. III, modello 3a).

Indipendentemente dai livelli basali di AU, anche i cambiamenti dei livelli di AU dal basale al follow-up si associano significativamente a più elevati livelli di PCR dopo 3 anni, ma non di IL-6 (Tab. III, modelli 1b, 2b e 3b). Inoltre, il valore predittivo dell'AU al basale ( $p = 0,0005$ ) e delle sue variazioni nei 3 anni di follow-up ( $p = 0,0160$ ) rispetto alla PCR sono indipendenti dai livelli basali di IL-6.

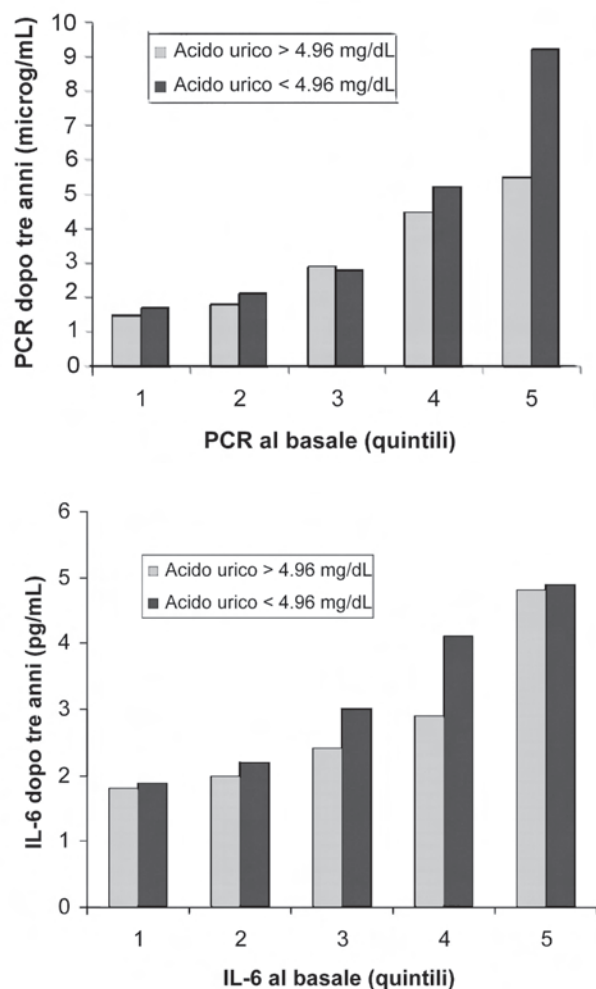
Infine, la probabilità di avere livelli patologici di IL-6 e PCR dopo 3 anni di follow-up non è lineare nei quintili di AU. Indipendentemente da età, sesso, BMI e livelli basali di IL-6, la probabilità di avere livelli patologici di IL-6 è pari a 1,83 (intervallo di confidenza al 95%: 1,11-3,05) nel primo quintile di AU, a 1,22 (intervallo di confidenza al 95%: 0,72-2,07) nel terzo, a 1,57 (intervallo di confidenza al 95%: 0,95-2,63) nel quarto ed a 2,15 (intervallo di confidenza al 95%: 1,27-3,65) nel quinto rispetto al secondo quintile di AU (Fig. 2). La probabilità di presentare livelli patologici di PCR tende ad aumentare nel terzo (OR 0,94, intervallo di confidenza al 95%: 0,56-1,59), quarto (OR 1,36, intervallo di confidenza al 95%: 0,82-2,26) e quinto quintile (OR 1,27, intervallo di confidenza al 95%: 0,75-2,14) rispetto al secondo quintile di AU. Rispetto ai soggetti appartenenti al secondo quintile, quelli appartenenti al primo quintile (OR 1,00, intervallo di confidenza al 95%: 0,61-1,65) hanno la stessa probabilità di avere livelli patologici di PCR nei 3 anni di follow-up (Fig. 2). Tali andamenti sono stati osservati anche dopo aggiustamento per fattori di confondimento clinici e comportamentali (dati non mostrati).

Analizzando l'ipotesi opposta, ovvero che i marker di infiammazione possano predire i livelli di AU, è emerso che i livelli basali di PCR e di IL-6 e le loro variazioni durante i 3 anni di osservazione non sono in grado di predire i livelli di AU né le sue variazioni dopo 3 anni di follow-up (dati non mostrati).

## Conclusioni

Utilizzando i dati raccolti nel contesto di uno studio epidemiologico condotto su un campione di soggetti rappresentativo della popolazione generale, abbiamo verificato il valore predittivo dei livelli circolanti di AU nei confronti di quelli di IL-6 e PCR in un arco temporale di 3 anni. Indipenden-

**Fig. 1.** Livelli di PCR ed IL-6 dopo 3 anni di osservazione rispettivamente nei soggetti con AU superiore od inferiore al valore medio della popolazione e nei quintili di IL-6 e PCR definiti al basale.



**Tab. III.** Modello di regressione lineare multivariata tra i livelli basali di AU, le variazioni di AU tra basale e follow-up ed i livelli di IL-6 o PCR dopo 3 anni di follow-up.

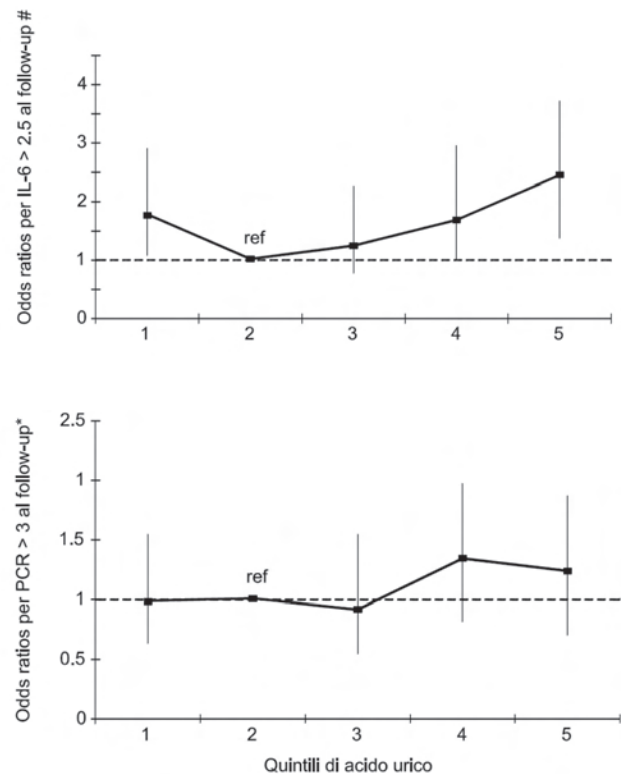
Modello		IL-6 dopo 3 anni (pg/mL)*		PCR dopo 3 anni (µg/mL)*	
		$\beta \pm SE$	Valori di p	$\beta \pm SE$	Valori di p
1a	AU (mg/dL)	0,05 ± 0,01	0,0016	0,14 ± 0,02	< 0,0001
2a	AU (mg/dL)	0,03 ± 0,01	0,0629	0,08 ± 0,03	0,0035
3a	AU (mg/dL)	0,02 ± 0,01	0,3051	0,09 ± 0,03	0,0042
1b	AU (mg/dL)+	0,06 ± 0,01	0,0006	0,16 ± 0,03	< 0,0001
	Variazioni di AU (mg/dL)	0,03 ± 0,02	0,1334	0,14 ± 0,04	0,0002
2b	AU (mg/dL)+	0,04 ± 0,02	0,0259	0,11 ± 0,03	0,0002
	Variazioni di AU (mg/dL)	0,03 ± 0,02	0,1323	0,12 ± 0,04	0,0033
3b	AU (mg/dL)+	0,02 ± 0,02	0,1399	0,11 ± 0,03	0,0007
	Variazioni di AU (mg/dL)	0,04 ± 0,02	0,1019	0,09 ± 0,04	0,0284

\* I valori di IL-6 e PCR sono stati trasformati in logaritmo per l'analisi. Il modello 1a è stato aggiustato per età, sesso e livelli basali di IL-6 o PCR; il modello 2a è stato aggiustato per tutte le variabili del modello 1 e per indice di massa corporea, transaminasi glutammico-ossalacetica e glutammico-piruvica, introito energetico totale, consumo di alcol, fumo, attività fisica e velocità di filtrazione glomerulare; il modello 3a è stato aggiustato per tutte le variabili del modello 2 e per malattie cardiovascolari, malattie cerebrovascolari, sindrome metabolica ed aterosclerosi; i modelli 1b, 2b e 3b sono stati aggiustati per gli stessi fattori di confondimento dei rispettivi modelli "a", includendo le variazioni di AU tra le variabili indipendenti. Le variazioni di AU rappresentano la differenza dei livelli di AU tra il follow-up ed il basale

temente dai livelli basali dei marker infiammatori e dai molteplici fattori di confondimento presi in considerazione, i livelli basali di AU ed i suoi cambiamenti nel corso del follow-up risultano predittori significativi delle variazioni di PCR durante i 3 anni di osservazione. I livelli basali di AU ed i suoi cambiamenti nei 3 anni successivi predicono in maniera parzialmente indipendente i livelli di IL-6 al follow-up.

Comunque, c'è da osservare che i soggetti appartenenti ai quintili più alti di AU hanno una maggiore probabilità di sviluppare livelli patologici di IL-6 (> 2,5 pg/mL) e di PCR (> 3,0 mg/dL) durante i 3 anni di follow-up rispetto a quelli appartenenti al secondo quintile di AU.

L'aumento dei livelli circolanti di AU è stato frequentemente descritto come un fattore correlato allo sviluppo ed alla progressione di ipertensione<sup>24</sup>, diabete<sup>25</sup>, malattie cardiovascolari, ed alla mortalità<sup>12,26</sup>. L'AU rappresenta un fattore di rischio per l'insorgenza di futuri eventi cardiovascolari nei soggetti affetti da ipertensione<sup>12</sup>, diabete, malattie cerebro<sup>27</sup> - e cardiovascolari, ed un fattore prognostico negativo di mortalità<sup>28</sup> in quelli affetti da scompenso cardiaco di grado medio-severo. Tuttavia, esistono numerose controversie sulla natura della relazione tra AU ed eventi cardiovascolari. Dato l'elevato numero di fattori di rischio coinvolti nelle malattie cardiovascolari e la loro stretta associazione con l'AU, risulta estremamente difficile

**Fig. 2.** Odds ratios per lo sviluppo di livelli patologici di IL-6 e PCR dopo 3 anni di follow-up nei quintili di AU.

\* # ORs aggiustato per età, sesso, BMI e livelli di IL-6 o PCR al basale.

provarne od escluderne un ruolo indipendente, anche se ciò non preclude la possibilità che l'AU abbia un ruolo causale nello sviluppo delle malattie cardiovascolari.

In accordo a precedenti lavori<sup>29</sup>, il nostro studio suggerisce che gli elevati livelli circolanti di AU, in quanto predittori indipendenti di uno stato pro-infiammatorio, in particolare di livelli patologici di PCR, potrebbero contribuire allo sviluppo ed alla progressione dei processi aterosclerotici. La relazione tra AU ed IL-6 è invece ancora poco chiara: da una parte, i livelli basali di AU non si associano in maniera significativa con quelli di IL-6 dopo 3 anni di follow-up, dall'altra i livelli basali di IL-6 non si correlano significativamente con quelli di AU al follow-up. Tuttavia, il riscontro che i soggetti appartenenti agli ultimi due quintili di AU presentano una maggiore probabilità di avere livelli patologici di IL-6 (> 2,5 pg/mL) suggerisce che l'effetto dell'AU sull'IL-6 è rilevante solo per livelli elevati di uricemia. In alternativa, non possiamo escludere che tali conclusioni siano influenzate dall'utilizzo di metodiche più precise ed affidabili per la misurazione dei livelli di PCR rispetto a quelle utilizzate per misurare i livelli di IL-6.

**Oggetto:** Il ruolo dell'acido urico (AU) nei processi di aterotrombosi è controverso. Nonostante l'AU circolante possieda una potenziale attività antiossidante, gli studi epidemiologici finora condotti hanno dimostrato che esso è un fattore di rischio per l'insorgenza di malattie cardiovascolari ed è associato in maniera positiva con i marker di infiammazione.

**Metodi:** Il nostro studio ha esaminato la relazione tra i livelli basali di AU e le variazioni dello stesso al follow-up con i livelli di proteina C-reattiva (PCR) ed interleuchina-6 (IL-6) a 3 anni dall'osservazione iniziale in una coorte di 892 soggetti di nazionalità Italiana di età compresa tra 21 e 98 anni. Dati completi sia al basale che al follow-up relativi ad AU, marker di infiammazione e fattori di confondimento sono stati ottenuti per ciascuno dei partecipanti allo studio. Al fine di investigare tale relazione, è stato utilizzato un modello di autoregressione.

**Risultati:** I risultati dopo aggiustamento per i fattori di confondimento hanno dimostrato che i

I risultati dello studio InCHIANTI si presentano validi per diversi motivi: 1) lo studio è adatto ad investigare la relazione tra AU e marker infiammatori poiché in tutti i partecipanti sia al basale che al follow-up sono stati effettuati i dosaggi dei parametri infiammatori e sono state raccolte le informazioni sui principali fattori di confondimento quali malattie, consumo di alcol, dieta ed attività fisica; 2) la metodologia utilizzata è quella considerata all'avanguardia nel dosaggio dei parametri infiammatori; 3) la relazione tra AU e marker infiammatori è stata valutata utilizzando i parametri più comunemente associati al rischio cardiovascolare, quali IL-6 e PCR; 4) l'ipotesi opposta, secondo cui i marker pro-infiammatori predicono i cambiamenti dei livelli di AU, è stata verificata e confutata.

In conclusione, dimostrando che i livelli basali di AU ed i suoi cambiamenti in un arco temporale di 3 anni sono in grado di predire in maniera significativa aumenti patologici dei livelli di PCR nei 3 anni successivi, il nostro studio suggerisce che l'AU può contribuire allo stato pro-infiammatorio generalmente associato alle malattie croniche dell'età avanzata.

I livelli basali di AU e le variazioni dello stesso in un arco temporale di 3 anni sono predittori indipendenti dei livelli di PCR ( $p = 0,0028$ ) ma non di quelli di IL-6 ( $p = 0,101$ ) nei 3 anni successivi. La relazione tra AU e PCR è rimasta sostanzialmente invariata anche dopo aggiustamento per i livelli basali di IL-6. Soggetti con elevati livelli basali di AU hanno una maggior probabilità di sviluppare aumenti patologici dei livelli di IL-6 (> 2,5 pg/mL) e PCR (3,0 mg/dL) a 3 anni dall'osservazione iniziale.

**Conclusioni:** Il nostro studio suggerisce che in un campione rappresentativo della popolazione generale, i livelli basali di AU e le variazioni dello stesso nei 3 anni successivi sono in grado di predire cambiamenti dei livelli circolanti di PCR indipendentemente da numerosi fattori di confondimento, compresi i livelli basali di IL-6.

**Parole chiave:** Acido urico • Infiammazione • Malattie cardiovascolari • Marker di infiammazione • Metabolismo

## BIBLIOGRAFIA

- 1 Anker SD, Doehner W, Rauchhaus M, Sharma R, Francis D, Knosalla C, et al. *Uric acid and survival in chronic heart failure: validation and application in metabolic, functional, and hemodynamic staging*. *Circulation* 2003;107:1991-7.
- 2 Saito M, Ishimitsu T, Minami J, Ono H, Ohru M, Matsuoka H. *Relations of plasma high-sensitivity C-reactive protein to traditional cardiovascular risk factors*. *Atherosclerosis* 2003;167:73-9.
- 3 Farquharson CA, Butler R, Hill A, Belch JJ, Struthers AD. *Allopurinol improves endothelial dysfunction in chronic heart failure*. *Circulation* 2002;106:221-6.
- 4 Doehner W, Schoene N, Rauchhaus M, Leyva-Leon F, Pavitt DV, Reaveley DA, et al. *Effects of xanthine oxidase inhibition with allopurinol on endothelial function and peripheral blood flow in hyperuricemic patients with chronic heart failure*. *Circulation* 2002;105:2619-24.
- 5 Feig DI, Johnson RJ. *Hyperuricemia in childhood essential hypertension*. *Hypertension* 2003;42:247-52.
- 6 Johnson RJ, Kang DH, Feig D, Kivlighn S, Kanellis J, Watanabe S, et al. *Is there a pathogenetic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease?* *Hypertension* 2003;41:1183-90.
- 7 Freedman DS, Williamson DF, Gunter EW, Byers T. *Relation of serum uric acid to mortality and ischemic heart disease. The NHANES I Epidemiologic Follow-up Study*. *Am J Epidemiol* 1995;141:637-44.
- 8 Fang J, Alderman MH. *Serum uric acid and cardiovascular mortality the NHANES I epidemiologic follow-up study, 1971-1992. National Health and Nutrition Examination Survey*. *JAMA* 2000;283:2404-10.
- 9 Goldberg RJ, Burchfiel CM, Benfante R, Chiu D, Reed DM, Yano K. *Lifestyle and biologic factors associated with atherosclerotic disease in middle-aged men. 20-year findings from the Honolulu Heart Program*. *Arch Intern Med* 1995;155:686-94.
- 10 Franse LV, Pahor M, Di Bari M, Shorr RI, Wan JY, Somes GW, et al. *Serum uric acid, diuretic treatment and risk of cardiovascular events in the Systolic Hypertension in the Elderly Program (SHEP)*. *J Hypertens* 2000;18:1149-54.
- 11 Alderman MH. *Uric acid and cardiovascular risk*. *Curr Opin Pharmacol* 2002;2:126-30.
- 12 Baker JF, Krishnan E, Chen L, Schumacher HR. *Serum uric acid and cardiovascular disease: recent developments, and where do they leave us?* *Am J Med* 2005;118:816-26.
- 13 Shi Y, Evans JE, Rock KL. *Molecular identification of a danger signal that alerts the immune system to dying cells*. *Nature* 2003;425:516-21.
- 14 Ruggiero C, Cherubini A, Ble A, Bos AJ, Maggio M, Dixit VD, et al. *Uric acid and inflammatory markers*. *Eur Heart J* 2006;27:1174-81.
- 15 Ferrucci L, Bandinelli S, Benvenuti E, Di Iorio A, Macchi C, Harris TB, et al. *Subsystems contributing to the decline in ability to walk: bridging the gap between epidemiology and geriatric practice in the InCHIANTI study*. *J Am Geriatr Soc* 2000;48:1618-25.
- 16 Ferrucci L, Harris TB, Guralnik JM, Tracy RP, Corti MC, Cohen HJ, et al. *Serum IL-6 level and the development of disability in older persons*. *J Am Geriatr Soc* 1999;47:639-46.
- 17 Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M, et al.; Centers for Disease Control and Prevention; American Heart Association. *Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association*. *Circulation* 2003;107:499-511.
- 18 Salvini S. *A food composition database for epidemiological studies in Italy*. *Cancer* 1997;114:299-300.
- 19 Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW, et al.; National Kidney Foundation. *National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification*. *Ann Intern Med* 2003;139:137-47.
- 20 Guralnik JM, Fried LP, Simonsick EM, Kasper JD, Lafferty ME. *The Women's Health and Aging Study: health and social characteristics of older women with disability*. Bethesda, MD: National Institute of Aging 1995.
- 21 Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *Final report*. *Circulation* 2002;106:3143-421.
- 22 McDermott MM, Guralnik JM, Albay M, Bandinelli S, Miniati B, Ferrucci L. *Impairments of muscles and nerves associated with peripheral arterial disease and their relationship with lower extremity functioning: the InCHIANTI Study*. *J Am Geriatr Soc* 2004;52:405-10.
- 23 Rosner B, Munoz A. *Conditional linear models for longitudinal data*. In: Dwyer J, Feinleib M, Lippert P, Hoffmaeister H, eds. *Statistical Models for Longitudinal Studies of Health*. New York: Oxford University Press 1992, p. 115-31.
- 24 Jossa F, Farinaro E, Panico S, Krogh V, Celentano E, Galasso R, et al. *Serum uric acid and hypertension: the Olivetti heart study*. *J Hum Hypertens* 1994;8:677-81.
- 25 Nakanishi N, Okamoto M, Yoshida H, Matsuo Y, Suzuki K, Tatara K. *Serum uric acid and risk for development of hypertension and impaired fasting glucose or Type II diabetes in Japanese male office workers*. *Eur J Epidemiol* 2003;18:523-30.
- 26 Niskanen LK, Laaksonen DE, Nyyssonen K, Alftan G, Lakka HM, Lakka TA, et al. *Uric acid level as a risk factor for cardiovascular and all-cause mortality in middle-aged men: a prospective cohort study*. *Arch Intern Med* 2004;164:1546-51.
- 27 Jee SH, Lee SY, Kim MT. *Serum uric acid and risk of death from cancer, cardiovascular disease or all causes in men*. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2004;11:185-91.
- 28 Ochiai ME, Barretto AC, Oliveira MT Jr, Munhoz RT, Morgado PC, Ramires JA. *Uric acid renal excretion and renal insufficiency in decompensated severe heart failure*. *Eur J Heart Fail* 2005;7:468-74.
- 29 Krishnan E, Baker JF, Furst DE, Schumacher HR. *Gout and the risk of acute myocardial infarction*. *Arthritis Rheum* 2006;54:2688-96.