



Palma-Sánchez D<sup>1</sup>, Haro-Martínez AC<sup>1</sup>, Gallardo Muñoz I<sup>2</sup>, Portero de la Torre M<sup>2</sup>, García-Fontana B<sup>3</sup>, Reyes-García R<sup>4</sup>

1 Unidad de Reumatología. Hospital General Universitario Rafael Méndez. Lorca. Murcia (España)

2 Servicio de Radiología. Hospital General Universitario Rafael Méndez. Lorca. Murcia (España)

3 Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada. Complejo Hospitalario Universitario de Granada. Granada (España)

4 Servicio de Endocrinología. Hospital Torrecárdenas. Almería (España)

# Efecto de la terapia biológica en las concentraciones de DKK1 y esclerostina, riesgo cardiovascular y metabolismo óseo en pacientes con artritis reumatoide

Correspondencia: Deseada Palma Sánchez - Hospital Rafael Méndez - Ctra. Nacional 340 - km 589 - 30800 Lorca - Murcia (España)

Correo electrónico: d\_esiree@hotmail.com

Fecha de recepción: 24/09/2017

Fecha de aceptación: 12/12/2017

*Trabajo premiado con una Beca de Investigación Clínica FEIOMM 2013.*

## Resumen

**Introducción:** Estudios previos han relacionado la vía Wnt con la alteración del metabolismo óseo y la patología cardiovascular. Así mismo, el control de la inflamación con terapia biológica tiene un efecto positivo sobre la densidad mineral ósea (DMO) y el riesgo cardiovascular. El objetivo de este estudio fue, por tanto, evaluar el efecto de la terapia biológica en pacientes con artritis reumatoide (AR) que no habían recibido previamente terapia biológica sobre la carga inflamatoria, y su relación con el riesgo cardiovascular y el metabolismo óseo.

**Pacientes y métodos:** Estudio de cohortes prospectivo en pacientes con diagnóstico de AR activa que iniciaban terapia biológica. Los pacientes fueron seleccionados de forma consecutiva no seleccionada. Se recogieron: las concentraciones séricas de proteína Dickkopf-1 (DKK1) y esclerostina, ambas mediante el método ELISA (Biomedica Medizinprodukte GmbH and Co. KG, Viena, Austria); características sociodemográficas y clínicas; marcadores de remodelado óseo; la DMO en columna lumbar y en cadera mediante absorciometría de rayos X de energía dual (DXA); el grosor íntima-media carotídea (c-IMT); y la evaluación de riesgo cardiovascular mediante el modelo *Systematic Coronary Risk Evaluation* (SCORE).

**Resultados:** El 46,7% de los pacientes presentaron respuesta EULAR al tratamiento a los 12 meses. Sólo en este subgrupo de pacientes encontramos un aumento en las concentraciones de DKK1 tras el inicio de la terapia biológica (basal: 20,55±8,13 pg/ml *vs.* 12 meses: 31,20±4,88 pg/ml,  $p=0,03$ ). En cuanto a los marcadores de remodelado óseo, se detectó un aumento en los niveles de osteocalcina (basal: 11,25±3,28 ng/ml *vs.* 12 meses: 15,78±4,11 ng/ml,  $p=0,01$ ). No se encontraron cambios estadísticamente significativos en el c-IMT ni en el SCORE tras 12 meses de tratamiento.

**Conclusiones:** En pacientes con AR tratados con terapia biológica y con respuesta al tratamiento hemos observado un aumento significativo de las concentraciones séricas de DKK1 a los 12 meses de tratamiento, no asociado a cambios en el metabolismo óseo o al riesgo cardiovascular.

**Palabras clave:** *artritis reumatoide, DKK1, esclerostina, terapia biológica.*



# Effect of biological therapy on concentrations of DKK1 and sclerostin, cardiovascular risk and bone metabolism in patients with rheumatoid arthritis

## Summary

**Introduction:** Previous studies have linked the Wnt pathway in the alteration of bone metabolism and cardiovascular pathology. Also, the control of inflammation with biological therapy has a positive effect on bone mineral density (BMD) and cardiovascular risk. The aim of the study was to evaluate the effect of biological therapy in patients with rheumatoid arthritis, naïve to these therapy, on the inflammatory load and its relation with cardiovascular risk and bone metabolism.

**Patients and methods:** Prospective cohort study performed in patients diagnosed with active rheumatoid arthritis (RA) initiating biological therapy. Patients were selected consecutively not selected. The serum concentrations of Dickkopf-1 protein (DKK1) and sclerostin were collected, both by means of the ELISA method (Biomedica Medizinprodukte GmbH and Co. KG, Vienna, Austria); demographic and clinical variables, markers of bone remodeling, hip and lumbar spine BMDs were measured by dual energy X-ray absorptiometry (DXA), measurement of intima-media thickness (IMT), evaluation cardiovascular risk by Systematic Coronary Risk Evaluation (SCORE).

**Results:** 46.7% of patients presented EULAR response to treatment at 12 months. Only in this subgroup of patients, we found in the subgroup of patients an increase in the concentrations of DKK1 following the initiation of biological therapy (baseline  $20.55 \pm 8.13$  pg/ml vs 12 months  $31.20 \pm 4.88$  pg/ml,  $p=0.03$ ). Regarding markers of bone remodeling, an increase in osteocalcin levels (baseline:  $11.25 \pm 3.28$  ng/ml vs 12 months  $15.78 \pm 4.11$  ng/ml,  $p=0.01$ ). There was no change in IMT or SCORE at 12 months of treatment.

**Conclusions:** In patients with RA treated with biological therapy who presented EULAR response we observed a significant increase in serum concentrations of DKK1 at 12 months of treatment not associated with changes in bone metabolism and cardiovascular risk.

**Key words:** *rheumatoid arthritis, DKK1, sclerostin, biological therapy.*

## Introducción

La artritis reumatoide (AR) y otras enfermedades reumáticas inflamatorias presentan una mayor mortalidad cardiovascular debida al desarrollo de aterosclerosis acelerada<sup>1</sup>. La inflamación crónica persistente, así como factores genéticos, se han implicado en el desarrollo de la aterosclerosis acelerada y, consecuentemente, en episodios cardiovasculares<sup>2</sup>. Así mismo, se ha demostrado un mayor riesgo de osteopenia y osteoporosis en estos pacientes<sup>3-4</sup>.

La vía Wnt se ha involucrado no sólo en la alteración del metabolismo óseo<sup>5</sup>, sino también en la patología cardiovascular<sup>6,7</sup>, por lo que podría ser uno de los nexos comunes entre estas enfermedades.

Estudios previos han encontrado niveles séricos más elevados de proteína Dickkopf-1 (DKK1) en pacientes con AR que en el grupo control, lo que se ha correlacionado con erosiones e inflamación<sup>8</sup>. DKK1 también se ha implicado en la pérdida ósea inducida por la inflamación<sup>9</sup> y en los procesos de calcificación vascular, con datos que muestran una relación entre los niveles de DKK1 y la aterosclerosis en seres humanos<sup>10-11</sup>.

La implicación de la artritis reumatoide en esta vía se ha explicado a través de las citoquinas proinflamatorias involucradas en su patogénesis, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), o las interleukinas 1 y 6, que tienen un papel relevante en el proceso de diferenciación osteoclástica, aumentando el ligando del receptor activador del factor nuclear  $\kappa$ B (RANKL) así como la DKK1 y la

esclerostina, ambas inhibidoras de la vía Wnt<sup>12-13</sup>. Por tanto, el control de la actividad en pacientes con AR debería inducir un aumento de la densidad mineral ósea, así como una reducción del riesgo cardiovascular.

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la terapia biológica, en pacientes con AR que no habían recibido previamente terapia biológica, sobre la carga inflamatoria, y su relación con el riesgo cardiovascular y el metabolismo óseo. Para ello se analizó la actividad inflamatoria, las concentraciones séricas de antagonistas de la vía Wnt (DKK1 y esclerostina), la presencia de riesgo cardiovascular determinada por el método SCORE modificado para AR, el grosor íntima-media carotídeo y la enfermedad ósea en pacientes con AR, al inicio de tratamiento con terapia biológica y a los 6 y 12 meses de tratamiento.

## Pacientes y métodos

Se trata de un estudio cohortes prospectivo de pacientes con diagnóstico de AR activa evaluados en la Unidad de Reumatología y que iniciaban terapia biológica. Los pacientes fueron seleccionados de forma consecutiva no seleccionada. Para el diagnóstico de AR se aplicaron los criterios del *American College of Rheumatology* (ACR) de 1987. Los criterios de inclusión fueron los siguientes: diagnóstico de AR; edad mayor de 18 años; presencia de actividad de la enfermedad definida por la *Disease Activity Score* 28 (DAS-28) con VSG  $>2,4$



a pesar de tratamiento con fármacos modificadores sintéticos de la enfermedad (FAMES); y la firma del consentimiento informado. Se excluyeron pacientes con eventos cardiovasculares previos, fracturas osteoporóticas previas, enfermedad metabólica ósea distinta a osteoporosis, enfermedad renal crónica, hepatopatía crónica, diabetes *mellitus* tipo 1 y 2, enfermedad neoplásica, embarazo y lactancia.

El estudio fue presentado y aceptado por el Comité de Ética para la Investigación Clínica del Hospital General Universitario Rafael Méndez. Todos los participantes fueron informados del tipo de estudio y de sus procedimientos, y proporcionaron su consentimiento informado antes de realizar cualquier procedimiento del estudio. El estudio se diseñó y se realizó de acuerdo a las normas éticas de la declaración de Helsinki.

Se recogieron las siguientes variables: niveles séricos de DKK1 y esclerostina; características sociodemográficas; tensión arterial (TA); DAS-28 con VSG; escala analógica visual (EVA) de la enfermedad por el paciente medida de 0 a 10; duración de la enfermedad determinada en meses; respuesta de la enfermedad al tratamiento valorada mediante respuesta EULAR; valores de factor reumatoide y anticuerpos anti-péptido citrulinado; hemograma; bioquímica general con función hepato-renal; perfil lipídico (colesterol total, HDL, LDL, triglicéridos); proteína C reactiva (PCR); calcio y fósforo sérico; parathormona (PTH); 25-hidroxivitamina D3 (25-OH vitamina D3); marcadores del remodelado óseo (fosfatasa alcalina ósea, osteocalcina, telopeptido C-terminal del colágeno tipo I -CTX-); grosor de la íntima-media carotídea (c-IMT); modelo SCORE (*Systematic Coronary Risk Evaluation*, Evaluación Sistemática del Riesgo Coronario); modelo SCORE modificado para AR; y densidad mineral ósea (DMO) en columna lumbar y cadera medida mediante absorciometría dual de rayos X (DXA).

### Determinaciones bioquímicas

El análisis de parámetros bioquímicos habituales se realizó a través de técnicas estandarizadas.

Las concentraciones de hormonas calciotropas se determinaron por HPLC para la 25-OH vitamina D3 y ELECSYS para la PTH intacta. Los marcadores bioquímicos de remodelado se determinaron de forma automatizada (Roche Elecsys 2010).

Las concentraciones de DKK1 se evaluaron a través de ELISA (Biomedica Medizinprodukte GmbH and Co. KG, Viena, Austria) según las instrucciones del fabricante. Las determinaciones de DKK1 se expresaron en pg/ml. Las concentraciones de esclerostina se evaluaron a través de ELISA (Biomedica, Viena, Austria) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Las determinaciones de esclerostina se expresaron en pmol/l, y el límite inferior de la detección fue de 10 pmol/l.

### Evaluación de la actividad de la enfermedad

La actividad de la enfermedad se evaluó según DAS-28 con VSG.

Los cambios en la actividad de la enfermedad se expresaron mediante cambios relativos de DAS-28 con VSG a los 6 y 12 meses con respecto al basal, y mediante la respuesta EULAR al tratamiento a los 12 meses.

### Evaluación de densidad mineral ósea

La DMO en columna lumbar y cuello femoral se evaluó a través de densitometría dual de rayos X (DXA) (Norland XR-800). La DMO se definió como el contenido mineral óseo dividido por área explorada expresada en g/cm<sup>2</sup>. Para pacientes postmenopáusicas y varones >50 años se utilizó la T-score para clasificar la DXA central en normal, osteopenia y osteoporosis. En el resto de los casos se utilizó la Z-score, considerándose baja masa ósea una Z-score <-2.

Los cambios en la DMO se expresaron como cambios relativos al año comparado con la basal.

### Evaluación de c-IMT

La evaluación ultrasonográfica de las arterias carótidas se realizó a través de eco-doppler (Philips iU22) con una sonda lineal de 9-3 MHz. Se valoró el c-IMT y la existencia de placas. El c-IMT se midió en el tercio distal de ambas arterias carótidas primitivas, 1 cm antes del bulbo. La placa se definió como un engrosamiento focal mayor de 0,5 mm dentro de la luz arterial o un engrosamiento >50% del espesor de la íntima adyacente o un grosor de la íntima >1,5 mm.

Los cambios en el IMC y la existencia de placas se expresaron como cambios relativos a los 6 y 12 meses con respecto al basal.

### Evaluación de riesgo cardiovascular

El riesgo cardiovascular de los pacientes se determinó mediante el modelo SCORE y SCORE modificado para AR<sup>14</sup>. Aquellos pacientes que en la ecografía carotídea presentaban placas y/o c-IMT >0,9 mm se clasificaron como pacientes de muy alto riesgo cardiovascular independientemente del SCORE obtenido.

### Análisis estadístico

Los datos de variables cuantitativas se expresan como media  $\pm$  desviación estándar (distribución normal) o mediana (distribución no normal). Los datos para las variables cualitativas se presentan como porcentajes. Los cambios en las variables cuantitativas antes y después del tratamiento se han comparado con el test de la t de Student para muestras apareadas. Las variables categóricas se han comparado a través del test  $\chi^2$ .

Los análisis de correlación entre variables cuantitativas se han realizado mediante la correlación de Pearson (distribución normal) o de Spearman (distribución no normal). Los análisis de asociación entre variables cuantitativas y cualitativas dicotómicas se han realizado mediante el test de la t de Student para muestras independientes (distribución normal) y la U de Mann-Whitney (distribución no normal), mientras que para variables policotómicas se ha utilizado ANOVA (distribución normal) y K muestras independientes (distribución no normal). Los valores de p<0,05 se han considerado significativos. Para el



análisis estadístico se ha utilizado el programa SPSS, versión 18.0 (SPSS, Chicago, Illinois. EE.UU.).

## Resultados

Se incluyeron en el estudio 20 pacientes que no habían recibido previamente terapia biológica, de los cuales 18 completaron el estudio a los 6 meses y 15 pacientes a los 12 meses.

### VARIABLES DEMOGRÁFICAS-CLÍNICAS

La edad media de los pacientes fue de  $45,22 \pm 14,47$  años, siendo el 72,2% mujeres. El 11,1% de los pacientes incluidos eran hipertensos y el 44,4% eran fumadores. Los valores del resto de variables se muestran en la tabla 1.

### VARIABLES RELACIONADAS CON LA ENFERMEDAD

La duración media de la enfermedad fue de  $79,16 \pm 69,75$  meses, mediana 55,50. El DAS-28-VSG basal medio fue de  $4,51 \pm 1$ ; el número de articulaciones tumefactas medio de  $3,33 \pm 1,97$ ; el número de articulaciones dolorosas medio de  $4,39 \pm 3,25$ , mediana de 5; y el valor en la escala visual analógica (EVA) de la enfermedad determinada por el paciente fue de  $6,52 \pm 1,94$ .

El 72,2% presentaron factor reumatoide positivo, y el 83,3% anticuerpos anti-péptido citrulinado. El 72,2% de los pacientes iniciaron terapia biológica con fármacos anti-TNF $\alpha$ , el 22,2% con abatacept y solo un 5,6% con tocilizumab. El 66,7% de los pacientes incluidos en el estudio tomaban fármacos modificadores de la enfermedad (FAMES) asociados a la terapia biológica. La dosis media de prednisona fue de  $4,86 \pm 4,65$  mg, mediana de 5.

De los 18 pacientes que completaron los 6 meses del estudio, el 44% presentaron respuesta EULAR a los 6 meses, y de los 15 pacientes que finalizaron el estudio, 7 (46,7%) presentaron respuesta EULAR a los 12 meses.

### VARIABLES ANALÍTICAS Y RELACIONADAS CON EL METABOLISMO ÓSEO

Los niveles séricos de DKK1 fueron de  $35,96 \pm 36,25$  pg/ml, y los de esclerostina  $56,09 \pm 36,46$  ng/ml. Solo el 6,3% de los pacientes presentaban osteopo-

rosis según la DXA. Los valores del resto de variables se representan en la tabla 2.

### VARIABLES RELACIONADAS CON EL RIESGO CARDIOVASCULAR

El c-IMT medio derecho fue de  $0,55 \pm 0,15$  mm y el izquierdo de  $0,62 \pm 0,20$  mm. El 33,3% de los pacientes presentaban placas carotídeas. El 61,1% de los pacientes presentaron un SCORE bajo; ninguno presentó un SCORE alto o muy alto. Sin embargo, al aplicar el SCORE modificado para AR, el 11,1% de los pacientes presentaron un SCORE alto, y al realizar la ecografía carotídea el 38,9% de los pacientes se clasificaron con un SCORE muy alto y el 5,6% alto.

A los 12 meses de tratamiento no se encontraron cambios estadísticamente significativos en estas variables.

### CORRELACIÓN ENTRE REMODELADO ÓSEO, DMO, DKK1, ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD Y c-IMT

No se observó una correlación estadísticamente significativa entre la actividad de la enfermedad medida mediante DAS-28-VSG y los niveles de fosfatasa alcalina ósea, osteocalcina, CTX, 25-OH vitamina D3, DKK1, esclerostina, DMO ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) o el grosor de la íntima media. Sin embargo, encontramos una correlación entre el grosor de la íntima media y los niveles de fosfatasa alcalina ósea ( $p=0,01$ ,  $r=0,6$ ) y esclerostina ( $p=0,05$ ,  $r=0,5$ ).

La actividad de la enfermedad, medida por DAS-28-VSG, y el riesgo cardiovascular, evaluado mediante SCORE, SCORE modificado y SCORE por ecografía carotídea, no se relacionaron.

### CAMBIOS EN DKK1, ESCLEROSTINA Y MARCADORES DE REMODELADO ÓSEO TRAS EL TRATAMIENTO

En el subgrupo de pacientes que presentaron respuesta EULAR a los 12 meses de tratamiento encontramos un aumento en los niveles de DKK1 a los 12 meses de tratamiento con terapia biológica (basal:  $20,55 \pm 8,13$  pg/ml *vs.* 12 meses:  $31,20 \pm 4,88$  pg/ml,  $p=0,03$ ) (Figura 1), no encontrándose cambios en los niveles de esclerostina (Figura 2). En cuanto a los marcadores de remodelado óseo, sólo se detectó un aumento en los niveles de osteocalcina (basal:  $11,25 \pm 3,28$  ng/ml *vs.* 12 meses  $15,78 \pm 4,11$  ng/ml,  $p=0,01$ ).

En el subgrupo de pacientes que no alcanzaron respuesta EULAR a los 12 meses de tratamiento no se encontraron cambios en los niveles de DKK1, esclerostina, ni de marcadores de remodelado óseo.

### CAMBIOS EN EL METABOLISMO ÓSEO Y RIESGO CARDIOVASCULAR TRAS EL TRATAMIENTO

No se encontraron cambios estadísticamente significativos a los 12 meses de tratamiento en la DMO ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ), en el grosor de la íntima media (mm) ni en la presencia de placas carotídeas.

Tabla 1. Características sociodemográficas y clínicas

N	18
Edad, media $\pm$ DE	$45,22 \pm 14,47$
Mujer, n (%)	13 (72,2)
IMC, media $\pm$ DE	$30,39 \pm 7,85$
HTA, n (%)	2 (11,1)
DLP, n (%)	5 (27,8)
Toma de alcohol, n (%)	2 (11,1)
Hábito tabáquico, n (%)	8 (44,4)

DE: desviación estándar; IMC: índice de masa corporal; HTA: hipertensión arterial; DLP: dislipemia.



Tabla 2. Variables bioquímicas relacionadas con el metabolismo óseo, actividad de la enfermedad y riesgo cardiovascular basal, a los 6 y a los 12 meses

	<b>Basal</b>	<b>6 meses</b>	<b>12 meses</b>
Colesterol total (mg/dl), media ± DE	206±44,36	212,22±54,59 p=0,34	208,13±47,4 p=0,50
HDL-colesterol (mg/dl), media ± DE	53,22±11,72	52,40±19,34 p=0,27	51,20±16,4 p=0,72
LDL- colesterol (mg/dl), media ± DE	150,44±42,21	155,40±49,40 p=0,44	156±23,88 p=0,54
Triglicéridos (mg/dl), media ± DE	123,72±45,63	138,27±58,62 p=0,23	136,21±37,79 p=0,54
PCR (mg/l), media ± DE	9,98±10,97	7,30±8,11 p=0,12	8,60±7,68 p=0,57
Mediana	5	5	6
PTH-i (pg/ml), media ± DE	41,58±17,23	45,23±12,12 p=0,86	49,36±15,89 p=0,12
25-OH vitamina D3 (ng/dl), media ± DE	19,11±7,94	22,91±15,63 p=0,18	20,68±8,31 p=0,74
Fosfatasa alcalina ósea (µg/dl), media ± DE	12,25±4,89	12,22±2,71 p=0,81	12,40±3,83 p=0,78
Osteocalcina (ng/ml), media ± DE	12,83±5,51	15,59±8,99 p=0,18	17,72±6,52 p=0,002
CTX (ng/ml), media ± DE	0,27±0,11	0,32±0,16 p=0,19	1,83±5,80
DKK1 (pg/ml), media ± DE	35,96±36,25	28,79±17,32 p=0,53	36,27±20,43 p=0,07
Mediana	26,56	24,71	31,28
Esclerostina (ng/ml), media ± DE	56,09±36,46	89,97±177,68 p=0,31	59,60±62,47 p=0,4
Mediana	45,65	43,61	42,03
DMO (g/cm <sup>2</sup> )			
- L2-L4, media ± DE	1,19±0,17		1,19±0,22 p=0,22
- Cuello femoral, media ± DE	0,99±0,13		0,93±0,15 p=0,5
DXA central			
- Normal, n (%)	14 (87,5)		10 (83,3)
- Osteopenia, n (%)	1 (6,3)		1 (8,3)
- Osteoporosis, n (%)	1 (6,3)		1 (8,3)



Tabla 2. (cont.)

	Basal	6 meses	12 meses
DAS-28-VSG, media $\pm$ DE	4,51 $\pm$ 0,99	3,39 $\pm$ 1,36 p=0,001	3,31 $\pm$ 1,24 p=0,001
EVA-enfermedad, media $\pm$ DE	6,52 $\pm$ 1,94	3,66 $\pm$ 2,74 p=0,001	3,20 $\pm$ 3,12 p=0,002
Mediana	7	4	3
SCORE			
- Bajo, n (%)	11 (61,1)	11 (61,1)	9 (60)
- Moderado, n (%)	7 (38,9)	6 (33,3)	5 (33,3)
- Alto, n (%)	0 (0)	1 (5,6)	1 (6,7)
- Muy alto, n (%)	0 (0)	0 (0)	
SCORE modificado			
- Bajo, n (%)	10 (55,6)	10 (55,6)	9 (60)
- Moderado, n (%)	6 (33,3)	5 (27,8)	3 (20)
- Alto, n (%)	2 (11,1)	2 (11,1)	3 (20)
- Muy alto, n (%)	0 (0)	1 (5,6)	
SCORE-ecografía			
- Bajo, n (%)	8 (44,4)	9 (50)	7 (46,7)
- Moderado, n (%)	2 (11,1)	1 (5,6)	0 (0)
- Alto, n (%)	1 (5,6)	1 (5,6)	2 (13,3)
- Muy alto, n (%)	7 (38,9)	1 (38,9)	6 (40)
c-IMT derecha (mm), media $\pm$ DE	0,55 $\pm$ 0,15	0,55 $\pm$ 0,16 p=0,92	0,57 $\pm$ 0,17
c-IMT izquierda (mm), media $\pm$ DE	0,62 $\pm$ 0,20 p=0,10	0,59 $\pm$ 0,18	0,61 $\pm$ 0,15
Placas carotídeas, n (%)	6 (33,3)	5 (27,8)	5 (33,3)

DE: desviación estándar; PCR: proteína C reactiva; c-IMT: grosor íntima-media carotídea.

## Discusión

Nuestro estudio encontró en el subgrupo de pacientes que presentaron respuesta EULAR a los 12 meses de tratamiento un aumento estadísticamente significativo en los niveles de DKK1 que no se asoció a cambios en la DMO ni en el riesgo cardiovascular.

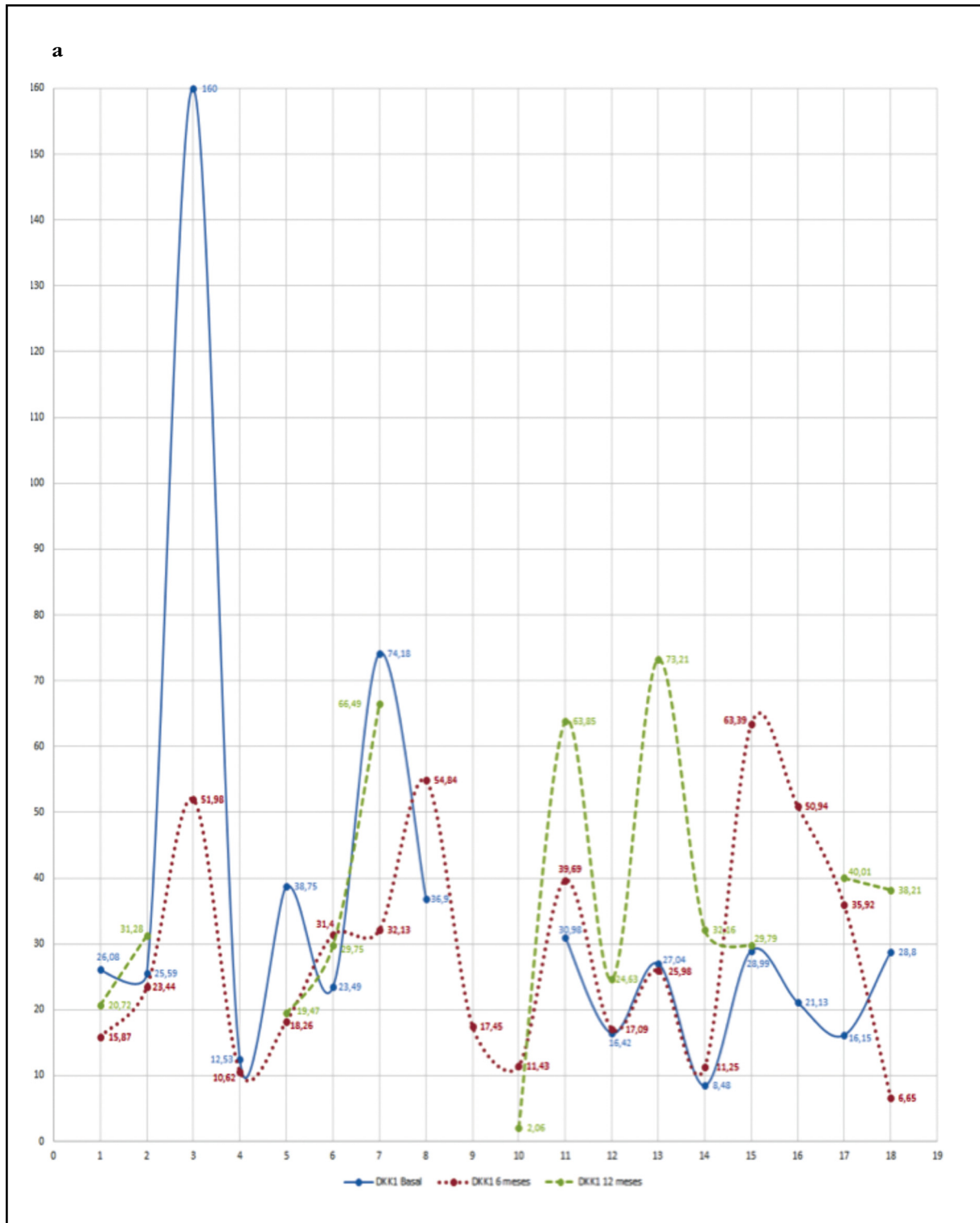
Diferentes estudios epidemiológicos han demostrado una asociación entre la pérdida de densidad mineral ósea, la calcificación vascular y la morbimortalidad cardiovascular<sup>15-17</sup>. La vía Wnt está implicada en la regulación de la calcificación vascular y en la diferenciación de las células musculares lisas a osteoblastos<sup>18</sup>. Así, se ha demostrado un aumento en la expresión de DKK1 en pla-

cas ateroscleróticas carotídeas<sup>19-20</sup>, así como un aumento de las concentraciones séricas de esclerostina en pacientes con enfermedad aterosclerótica y diabetes tipo 2<sup>21</sup>.

Por otra parte, en pacientes con AR se han demostrado niveles circulantes de DKK1 elevados que se han relacionado con daño radiológico<sup>8,22-25</sup>, y la expresión de esclerostina parece correlacionarse de manera positiva con los niveles de DKK1<sup>9</sup>. Sin embargo, este es el primer estudio prospectivo en el que se analiza el efecto de la terapia biológica sobre la carga inflamatoria de la enfermedad, y su relación con el riesgo cardiovascular y el metabolismo óseo teniendo en cuenta los inhibidores de la vía Wnt (DKK1 y esclerostina).



Figura 1. Cambios en las concentraciones de DKK1 tras el tratamiento biológico en pacientes que alcanzaron respuesta EULAR

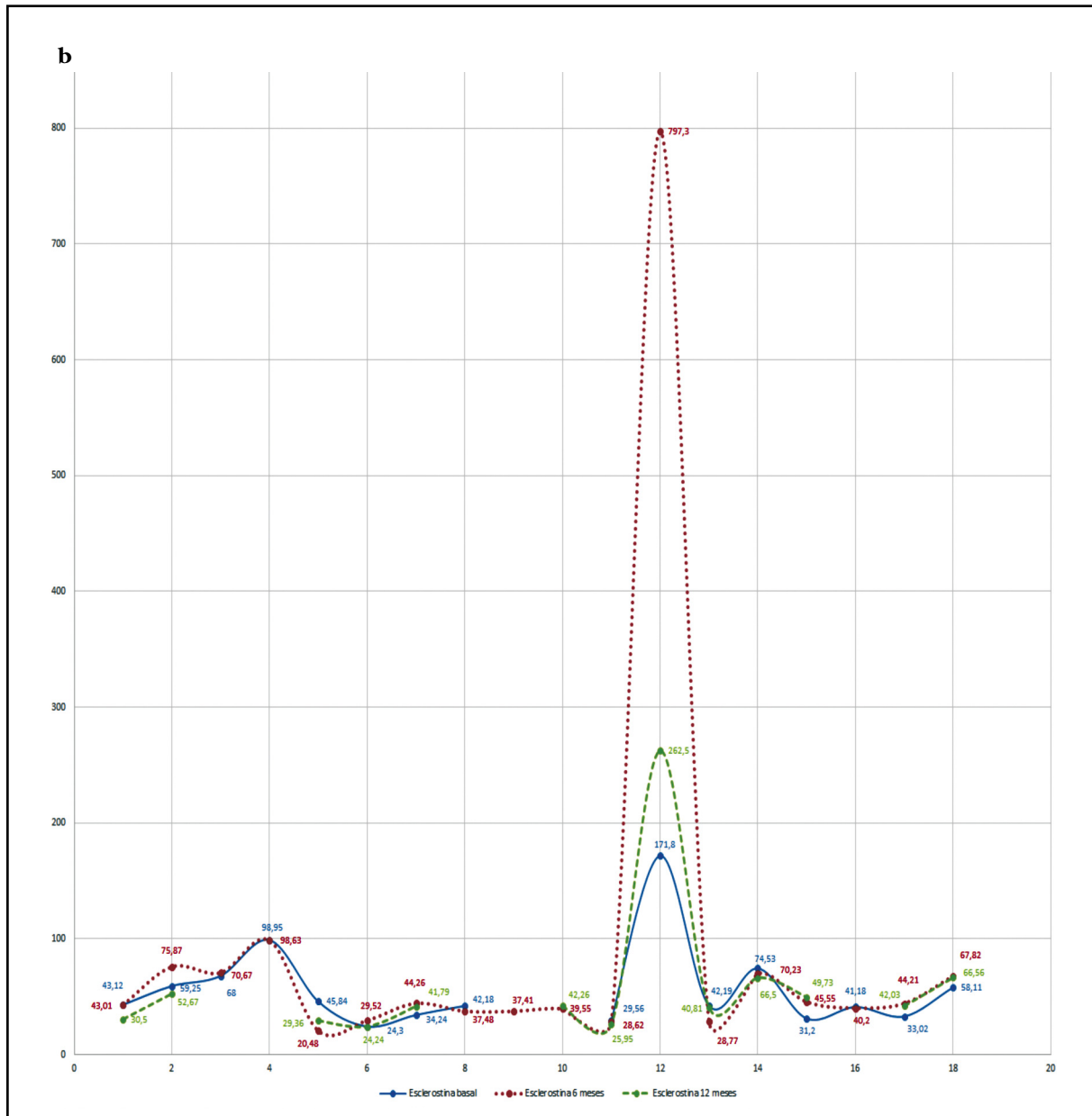


Nuestro estudio preliminar mostró una disminución en los niveles de DKK1 a los 6 meses de tratamiento<sup>26</sup>, lo que estaba en concordancia con lo publicado por Briot y cols.<sup>13</sup>. En este artículo, los pacientes con AR activa tratados con tocilizumab experimentaron un descenso de las concentraciones de DKK1, así como un descenso de los marcadores de formación ósea a los 3 y 12 meses de tratamiento, no encontrando cambios en los niveles de esclerostina.

Sin embargo, nuestros resultados a 12 meses mostraron un aumento estadísticamente significativo en los niveles de DKK1 y osteocalcina en el subgrupo de pacientes que alcanzaron respuesta EULAR al tratamiento. Estos resultados discordantes podrían deberse al tamaño muestral de nuestro estudio. Sin embargo, recientemente se ha publicado que los anti-TNF $\alpha$  producen a corto plazo (6 meses) un aumento en los niveles de PTH y un descenso de DKK1, y que este



Figura 2. Cambios en las concentraciones de esclerostina tras el tratamiento biológico en pacientes que alcanzaron respuesta EULAR



aumento de PTH podría promover la resorción ósea y atenuar la normalización de los niveles séricos de DKK1 en la AR<sup>27</sup>. Los autores sugieren una relación directa entre TNF $\alpha$  y PTH, suprimiendo el TNF $\alpha$  la producción de PTH. Los anti-TNF $\alpha$ , por tanto, impedirían esta supresión y darían lugar a un aumento en los niveles de PTH y, secundariamente, de DKK1. En este sentido, en nuestro estudio encontramos un descenso en los niveles séricos de DKK1 a los 6 meses, sin cambios en los niveles de PTH. En cambio, se detectó un incremento de PTH no significativo a los 12 meses en el subgrupo de pacientes con respuesta EULAR, que podría explicar el aumento en los niveles de DKK1. En el caso del estudio de Briot y cols., no se analizaron los niveles de PTH, lo que podría haber influido en los niveles de DKK1. Además, la mayoría de los pacientes incluidos en nuestro estudio iniciaron tratamiento con anti-TNF $\alpha$  y solo un 5% con

tocilizumab, por lo que esta diferencia de resultados se podría deber a un efecto de clase de los fármacos.

Hay que destacar como limitaciones de nuestro estudio, la ausencia de grupo control y de análisis multivariante, lo que podría haber limitado la detección de una variable con efecto confusor en los resultados encontrados. Sin embargo, hay que señalar que las variables demográficas, clínicas y biológicas fueron similares tanto en el grupo de pacientes con respuesta EULAR al tratamiento a los 12 meses como en el grupo que no presentaron dicha respuesta.

El tiempo de seguimiento de los pacientes podría haber influido en no encontrar cambios en el c-IMT y la DMO, ya que los estudios publicados han encontrado cambios en el c-IMT en pacientes con AR a los 2 años de tratamiento con terapia biológica<sup>28</sup>. En el caso de la DMO, a pesar de





haber estudios en los que se han encontrado cambios al año del tratamiento, la mayoría presentaban resultados a los 2 años<sup>29</sup>.

Como conclusión, podemos decir que en pacientes con AR activa tratados con terapia biológica hemos observado un aumento significativo de las concentraciones séricas de DKK1 y osteocalcina, no encontrando asociación con cambios en la DMO ni en el riesgo cardiovascular. Por tanto, son necesarios estudios con mayor tamaño muestral que confirmen estos resultados, y que ayuden a definir el papel de DKK1 y esclerostina en la AR y en la respuesta al tratamiento con terapia biológica.

**Conflicto de intereses:** Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Los autores declaran haber observado los preceptos de la declaración de Helsinki sobre estudios clínicos.

### Bibliografía

- González-Gay M, González-Juanatey C, Martín J. Rheumatoid arthritis: A disease associated with accelerated atherogenesis. *Semin Arthritis Rheum*. 2005;35:8-17.
- González-Gay M, González-Juanatey C, López-Díaz MJ, Piñero A, García-Porrúa C, Miranda-Filloo JA, et al. HLA-DRB1 and persistent chronic inflammation contribute to cardiovascular events and cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2007;57:125-32.
- Haugeberg G, Uhlig T, Falch JA, Halse JI, Kvien TK. Reduced bone mineral density in male rheumatoid arthritis patients: frequency and associations with demographic and disease variables in ninety-four patients in the Oslo County Rheumatoid Arthritis Register. *Arthritis Rheum*. 2000;43:2776-84.
- Haugeberg G, Uhlig T, Falch JA, Halse JI, Kvien TK. Bone mineral density and frequency of osteoporosis in female patients with rheumatoid arthritis: results from 394 patients in the Oslo County Rheumatoid Arthritis register. *Arthritis Rheum*. 2000;43:522-30.
- Baron R, Rawadi G. Targeting the Wnt/beta-catenin pathway to regulate bone formation in the adult skeleton. *Endocrinology*. 2007;148:2635-43.
- Towler DA, Shao JS, Cheng SL, Pingsterhaus JM, Loewy OP. Osteogenic regulation of vascular calcification. *Ann NY Acad Sci*. 2006;1068:327-33.
- Shao JS, Cheng SL, Pingsterhaus JM, Charlton-Kachigian N, Loewy OP, Towler DA. Msx2 promotes cardiovascular calcification by activating paracrine Wnt signals. *J Clin Invest*. 2005;115:1210-20.
- Wang SY, Liu YY, Ye H, Guo JP, Li R, Liu X, et al. Circulation Dickkopf-1 is correlated with bone erosion and inflammation in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2011;38:821-7.
- Heiland GR, Zwerina K, Baum W, Kireva T, Distler JH, Grisanti M, et al. Neutralisation of DKK1 protects from systemic bone loss during inflammation and reduces sclerostin expression. *Ann Rheum Dis*. 2010;69:2152-9.
- Kim KI, Park KU, Chun EJ, Choi SI, Cho YS, Youn TJ, et al. A novel biomarker of coronary atherosclerosis: serum DKK1 concentration correlates with coronary artery calcification and atherosclerotic plaques. *J Korean Med Sci*. 2011;26:1178-84.
- Register TC, Hruska KA, Divers J, Bowden DW, Palmer ND, Carr JJ, et al. Plasma Dickkopf (DKK1) concentrations negatively associate with atherosclerotic calcified plaque in african-americans with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98:60-5.
- Walsh C, Gravallesse EM. Bone loss in inflammatory arthritis: mechanisms and treatment strategies. *Curr Opin Rheumatol*. 2004;16:419-27.
- Briot K, Rouanet S, Schaeferbeke T, Etchepare F, Gaudin P, Perdriger A, et al. The effect of tocilizumab on bone mineral density, serum levels of Dickkopf-1 and bone remodeling markers in patients with rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*. 2015;82:109-15.
- Peters MJ, Symmons D, McCarey D, Dijkmans BA, González-Gay MA, Kitaz G, et al. EULAR evidence-based recommendations for cardiovascular risk management in patients with rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory arthritis: Report of a task force of the EULAR Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCI-SIT). *Ann Rheum Dis*. 2010;69:325-31.
- Tanko LB, Christiansen C, Cox DA, Geiger MJ, Mc Nabb MA, Cummings SR. Relationship between osteoporosis and cardiovascular disease in postmenopausal women. *J Bone Miner Res*. 2005;20:1912-20.
- Hyder JA, Allison MA, Wong N, Papa A, Lang TF, Sirlin C, et al. Association of coronary artery and aortic calcium with lumbar bone density: the MESA Abdominal Aortic Calcium Study. *Am J Epidemiol*. 2009;169:186-94.
- Naves M, Rodríguez-García M, Díaz-López JB, Gómez-Alonso C, Cannata-Andía JB. Progression of vascular calcifications is associated with greater bone loss and increased bone fractures. *Osteopor Int*. 2008;19:1161-6.
- Tsaousi A, Mill C, George SJ. The Wnt pathways in vascular disease: lesson from vascular development. *Curr Opin Lipidol*. 2011;22(5):350-7.
- Towler DA, Shao JS, Cheng SL, Pingsterhaus JM, Loewy AP. Osteogenic regulation of vascular calcification. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1068:327-33.
- Ueland T, Otterdal K, Lekva T, Halvorsen B, Gabrielsen A, Sandberg WJ, et al. Dickkopf-1 enhances inflammatory interaction between platelets and endothelial cells and shows increased expression in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29:1228-34.
- Morales-Santana S, García-Fontana B, García-Martín A, Rozas-Moreno P, García-Salcedo JA, Reyes-García R, Muñoz-Torres M. Atherosclerotic disease in type 2 diabetes is associated with an increase in sclerostin levels. *Diabetes Care*. 2013;36:1667-74.
- Voorzanger-Rousselot N, Ben-Tabassi NC, Garnero P. Opposite relationships between circulating DKK1 and cartilage breakdown in patients with rheumatoid arthritis and knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2009;68:1513-4.
- Diarra D, Stolina M, Polzer K, Zwerina J, Ominsky MS, Dwyer D, et al. Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling. *Nat Med*. 2007;13:156-63.
- Liu YY, Long L, Wang SY, Guo JP, Ye H, Cui LF, et al. Circulation Dickkopf-1 and osteoprotegerin in patients with early and longstanding rheumatoid arthritis. *Chin Med J (Eng)*. 2010;123:1407-12.
- Garnero P, Tabassi NC, Voorzanger-Rousselot N. Circulating dickkopf-1 and radiological progression in patients with early rheumatoid arthritis treated with etanercept. *J Rheumatol*. 2008;35:2313-5.
- Palma-Sánchez D, Haro-Martínez AC, Gallardo Muñoz I, Portero de la Torre M, Mayor González M, Peñas E, et al. Cambios inducidos en DKK1 en pacientes con artritis reumatoide que inician tratamiento con terapia biológica. *Rev Osteoporos Metab Miner*. 2016;8:30-5.
- Adami G, Orsolini G, Adami S, Viapiana O, Idolazzi L, Gatti D, et al. Effects of TNF Inhibitors on Parathyroid Hormone and Wnt Signaling Antagonists in Rheumatoid Arthritis. *Calcif Tissue Int*. 2016;99:360-4.
- Gonzalez-Juanatey C, Llorca J, García-Porrúa C, Martín J, Gonzalez-Gay MA. Effect of anti-tumor necrosis factor alpha therapy on the progression of subclinical atherosclerosis in severe rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2006;55:150-3.
- Okano T, Koike T, Tada M, Sugioka Y, Mamoto K, Wakitani S, et al. The limited effects of anti-tumor necrosis factor blockade on bone health in patients with rheumatoid arthritis under the use of glucocorticoid. *J Bone Miner Metab*. 2014;32(5):593-600.