



**EVALUACIÓN DE LA MEDICIÓN DE LA MASA ÓSEA
DE METACARPÍANOS CON DENSITOMETRÍA DUAL
DE RAYOS X COMO PREDICTOR DE MAL CURSO
EVOLUTIVO EN PACIENTES CON ARTRITIS DE
RECIENTE COMIENZO**

Tesis doctoral

Irene Llorente Cubas

Madrid, Julio 2021

Universidad Autónoma de Madrid
Programa de doctorado en Medicina y Cirugía
Facultad de Medicina



**EVALUACIÓN DE LA MEDICIÓN DE LA MASA ÓSEA
DE METACARPÍANOS CON DENSITOMETRÍA DUAL
DE RAYOS X COMO PREDICTOR DE MAL CURSO
EVOLUTIVO EN PACIENTES CON ARTRITIS DE
RECIENTE COMIENZO**

Memoria presentada por la licenciada en Medicina:

Irene Llorente Cubas

Para optar al grado de Doctor por la Universidad Autónoma de
Madrid

Directores de Tesis: Dr. Santos Castañeda Sanz y

Dr. Isidoro González Álvaro

Este trabajo se ha desarrollado en el Hospital Universitario de la
Princesa

en el servicio Reumatología

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis, Santos Castañeda e Isidoro González Álvaro, así como a mi tutor de tesis Jesús Alberto García Vadillo, gracias a ellos este proyecto ha conseguido ver la luz al final de un largo recorrido. Gracias por permitir que no desistiera en los momentos bajos y siguiera adelante con este trabajo que tantas ilusiones y oportunidades me ha brindado.

Gracias a Ana M. Fernández Ortiz por iniciar el proyecto y cederme el paso, ayudarme con los inicios y animarme a continuarlo, así como siempre ser un apoyo, siendo mi residente mayor pero ante todo una gran amiga.

Gracias a Eugenio Escolano, nuestro técnico de radiología, por tener paciencia y enseñarme los entresijos del densitómetro, por ayudarme con las dudas y siempre tener una sonrisa y unas buenas palabras, este proyecto es tanto nuestro como tuyo.

Gracias de nuevo a Isidoro González como a Ana Ortiz por colaborar con los datos del estudio PEARL de artritis de reciente comienzo, siendo meticulosos y cediendo desinteresadamente su trabajo para poder llevar a cabo esta tesis, así como a Teresa Velasco, enfermera del servicio que siempre ha colaborado y ayudado con este proyecto.

Gracias a todo el servicio de Reumatología del Hospital de La Princesa, en especial a la jefa de servicio, la Dra García de Vicuña, por apoyarme desde residente con este trabajo, por darme la oportunidad de iniciarme en el campo de la investigación y darme soporte para dar luz a los datos, poder exponerlos en cursos y congresos y ser siempre una guía en este campo. He aprendido mucho de vosotros, tanto de los mayores como de los menores, y deseo que este ámbito docente continúe mucho más adelante.

Gracias a mi familia, por apoyarme y darme ánimos, por perseverar junto a mi en este largo camino, a veces con mas sombras que luces pero que finalmente ha encontrado su feliz final.

Gracias a mis amigos, mi otra familia, la que uno elige, que siempre han estado a mi lado y que más han sufrido los altibajos de este recorrido,

gracias a ellos esto ha sido posible y este logro es buena parte por y para ellos.

Gracias a todas las mujeres fuertes que me han inspirado y que me han dado la energía suficiente para seguir adelante, gracias Marilu por ir juntas de la mano a apuntarnos a esta aventura y desventura y salir adelante, siempre fuiste una gran inspiración. Por y para todas las mujeres que dedican sus días a su pasión, a su trabajo, mujeres que trabajan en este ámbito que nos ocupa y que tan difícil es llegar a veces, gracias a todas vosotras por seguir inspirándonos a todas.

Sin más, gracias a todos y todas los que habeis aportado vuestro granito de arena por el camino y por vuestra ayuda, sin vosotros esto no habría sido posible.

Comprender las cosas que nos rodean es la mejor preparación para comprender las cosas que hay más allá.

Hipatia

En la vida, no hay nada que temer, solo hay que comprender.

Marie Curie

ABREVIATURAS

1. ACPA: Anticuerpos antipéptido-citrulinados
2. AI: Artritis indiferenciada
3. Anti-CarPa: Anticuerpo frente a proteínas carbamiladoas
4. AR: Artritis reumatoide
5. ARC: Artritis de reciente comienzo
6. CDAI: Clinical Disease activity index (índice de actividad de la enfermedad clínico)
7. CF: Cuello femoral
8. CL: Columna lumbar
9. CT: Cadera total
10. CTX-1: Telopéptido carboxi-terminal de colágeno tipo I
11. CV: Coeficiente de variación
12. DAS28: Disease Activity Score using 28 joints counts (índice de actividad usando recuento de 28 articulaciones)
13. DDK-1: Dickkopf-1
14. DE: Desviación estándar
15. DMO: Densidad mineral ósea
16. DXA: Densitometría dual de rayos X
17. EIA: Enzimoimmunoanálisis
18. EVA: Escala analógica visual
19. FAME: Fármaco modificador de la enfermedad de acción lenta
20. FR: Factor reumatoide
21. GC: Glucocorticoides
22. HAQ: Health Assessment Questionnaire disability index (Cuestionario de discapacidad de salud)
23. hTNFtg: TNF humano transgénico
24. HUPI: Hospital Universitario de La Princesa Index
25. IC: Intervalo de confianza
26. ICC: Coeficiente de correlación entre clases
27. IL: Interleuquina
28. IMC: Índice de masa corporal
29. INFg: Interferon gamma
30. IQR/RIC: Rango intercuartílico
31. MC: Metacarpianos

32. MCF: Metacarpofalángica
33. M-CSF: Factor estimulante de colonias de macrófagos
34. MCV-ACPA: Anticuerpos anti vimentina mutada citrulinada
35. OB: Osteoblasto
36. OC: Osteoclasto
37. OP: Osteoporosis
38. OPG: Osteoprotegerina
39. PCR: Proteína C reactiva
40. PEARL: Princesa Early Arthritis Register Longitudinal study
41. PINP: Propéptido N-terminal de procolágeno tipo 1
42. RANK: Receptor activador del factor nuclear (NF) -kB
43. RANKL: Ligando del receptor activador del factor nuclear (NF) –kB
44. ROI: *Region of interest* (Regiones de interés)
45. Rx: Radiografía
46. SDAI: Simplified Disease activity index (índice de actividad de la enfermedad simplificado)
47. SDD: Diferencia más pequeña detectable
48. SvdH: Índice de Sharp modificado por Van der Heijde
49. TNF: Factor de necrosis tumoral
50. TNFi: Inhibidores del factor de necrosis tumoral
51. uTNx: N-telopéptido de colágeno tipo I urinario
52. VSG: Velocidad de sedimentación globular

RESUMEN EN CASTELLANO /
ABSTRACT EN INGLÉS

ANTECEDENTES: La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune sistémica que produce inflamación crónica de la membrana sinovial y destrucción articular, asociada complicaciones sistémicas e incremento de mortalidad. Los anticuerpos antipéptidos citrulinados (ACPA) pueden inducir la activación de los osteoclastos incluso antes del desarrollo de la artritis lo que conlleva a una pérdida de densidad mineral ósea (DMO) en estos pacientes. Técnicas como la radiogrametría basada en rayos X (DXR) ha demostrado que pacientes con AR con una menor DMO medida en los metacarpianos (MC) de la mano se asocia a un peor pronóstico de la enfermedad, incluso a aumento de mortalidad. No obstante, esta técnica es poco accesible en nuestro medio. Por el contrario, la densitometría dual de rayos X (DXA) es una técnica sencilla, barata y accesible que permite medir de manera eficaz la DMO.

OBJETIVOS: El desarrollo de esta tesis tiene varios objetivos. El primero estudiar la relación entre la presencia de ACPA, como ejemplo de biomarcador de mal pronóstico, y la DMO evaluada mediante DXA tanto a nivel local como sistémico. Posteriormente, establecer un método de medición de DMO en la diáfisis de los de MC mediante DXA y validar la reproducibilidad de la medición de la DMO mediante esta técnica para poder evaluar la DMO diafisaria MC mediante ambas técnicas y estudiar su correlación. Finalmente, analizar los resultados de DMO diafisaria de MC medidos a través de DXA con parámetros clínicos para valorar mejor las variables que pueden incidir en su utilización como marcador pronóstico y así evaluar la utilidad de la medición de DMO basal en MC 2º a 4º mediante DXA en pacientes con artritis de inicio como marcador pronóstico en base a diferentes variables clínicas de actividad y remisión, así como de progresión radiográfica de la enfermedad y su correlación a los 2 años de seguimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS: : La mayor parte de este trabajo se basa en el estudio PEARL, registro longitudinal de pacientes reclutados en la consulta monográfica de artritis de reciente comienzo (ARC) del Servicio de Reumatología del Hospital Universitario de la Princesa, cohorte longitudinal prospectiva que inició su reclutamiento en septiembre de 2001 y que en la actualidad incluye a más de 900 pacientes con ARC y un seguimiento de 2 años. Para esta tesis se analizaron los datos de las visitas basales, donde se recogen variables sociodemográficas, clínicas, analíticas

y variables terapéuticas. Además se realiza una DXA de la mano no dominante, de columna lumbar (CL) y de cadera.

La determinación de ACPA se realizó mediante un inmunoensayo enzimático de péptidos cíclicos anticitrulinados de segunda generación (EIA; Euro-Diagnostica Immunoscan RA; positivo >50 UI/ml) hasta octubre de 2010 y a partir de entonces con un EIA de tercera generación (QUANTA Lite CCP3 IgG e IgA, Inova Diagnostics; positivo >40 UI/ml). Este último EIA es de tercera generación y capaz de detectar ACPA de isotipo IgG, IgA. Asimismo, se analizaron anticuerpos anti-vimentina mutada citrulinada de isotipo IgG (MCV-ACPA) a través de un análisis cuantitativo EIA (ORG548 anti-MCV, Orgentec Diagnostika GmbH, Mainz, Alemania; positivo >20 UI/ml).

En cuanto a las variables radiográficas estudiadas se realizaron radiografías simples de la mano no dominante a los pacientes de ARC seleccionados para realizar DXR realizándose un estudio computarizado de la masa ósea diafisaria del 2° al 4° metacarpianos (MC) de la mano no dominante mediante el sistema Pronosco© a partir de las Rx digitales de ambas manos de todos los pacientes incluidos en el estudio.

Posteriormente se realizó estudio de DMO mediante DXA con un densitómetro HOLOGIC©4500W serie Elite (Hologic ©, Bedford, MA, EE. UU) y se reprodujo la técnica mediante la cual se analiza la DMO diafisaria de los 3 MC centrales de la mano no dominante, seleccionando las regiones de interés (ROI) del tercio medio de cada MC para su análisis y validación y reproducibilidad de la técnica.

Los datos obtenidos mediante DXA y DXR se correlacionaron con datos de actividad de la enfermedad (DAS28, HUPI, SDAI, CDAI), criterios de remisión ACR/EULAR y progresión radiológica mediante el método validado de Sharp modificado por van der Heijde (SvdH) como marcador de gravedad.

Para cada objetivo se realizó el correspondiente análisis estadístico, media y desviación estándar (DE) de las variables cuantitativas con una distribución normal. La mediana y el rango intercuartílico (RIC) se calcularon para aquellas variables con distribución normal. La t de Student se aplicó para comparar las medias de las variables con una distribución normal y la prueba de Mann-Whitney se utilizó para variables que no presentaban distribución normal. La prueba de la χ^2 se utilizó para las variables cualitativas. Para el análisis de la correlación entre la DMO de diáfisis de metacarpianos 2° a 4° evaluada mediante DXA y DXR, así como con diferentes variables cuantitativas, se utilizaron los test de Pearson o de Spearman según la distribución de las variables.

Para el objetivo 3, analizar la relación de la DMO de diáfisis de metacarpianos 2° a 4° medida por DXA con diferentes variables, se realizó un análisis multivariable con modelos lineales generalizados usando el comando glm de Stata 14.0 para Windows (Stata Corp LP, College Station, TX, USA).

RESULTADOS: Para el primer objetivo del estudio, se incluyeron 578 pacientes del estudio PEARL (54,7% cumplían criterios de AR 2019, más en el grupo ACPA positivo que negativo), con una media de 5 meses de evolución de la enfermedad, un mayor porcentaje de mujeres en ambos grupos. La DMO se asoció significativamente con el género, la edad, la menopausia y el IMC. La positividad para ACPA permaneció como una variable independiente asociada de forma significativa con valores más bajos de DMO en columna lumbar y cadera.

Para establecer la DXA como método de medición de DMO diafisaria en MC se llevó a cabo un estudio en 27 individuos (17 sanos y 10 pacientes de ARC), la mayoría mujeres. Las mediciones de la DMO en la diáfisis MC tuvieron excelentes coeficientes de correlación intraobservador (valor medio 0,995 [0,94-0,99]) así como variabilidad interobservador (valor medio 0,99 [0,97-0,99]). Los valores absolutos de la mínima diferencia detectable (SDD en inglés) fueron 0,028 g/cm² para el segundo MC, 0,034 g/cm² para el tercer MC y 0,028 g/cm² para el cuarto. Los gráficos de Bland Altman sugieren que la precisión de las mediciones no se correlaciona con el valor de las medidas, siendo estable tanto en valores altos como bajos.

Posteriormente, se realizó un estudio prospectivo longitudinal a los que se realizó DXR en 111 pacientes (87,4% mujeres) y 378 DXA (82% mujeres) con características similares en ambos grupos. La correlación de la DMO diafisaria de MC entre ambas técnicas fue excelente (R=0,859; p<0,0001). Dados estos hallazgos, se procedió a estudiar la relación de la DMO de MC con distintos parámetros clínicos. Los principales factores que influyen sobre la DMO son el género femenino, la edad y el IMC. Ajustando por estas variables, observamos que los pacientes con mayor actividad clínica a lo largo del seguimiento y que no consiguieron alcanzar la remisión clínica al final del seguimiento mostraron una tendencia a presentar menor DMO de MC en la visita basal, aunque sin alcanzar significación estadística. Sin embargo, sí se observó una asociación estadísticamente significativa entre mayor progresión radiográfica a los dos años de seguimiento, evaluada mediante el índice de SvdH, y menor DMO de MC ajustada por edad, sexo e IMC en la visita basal.

CONCLUSIONES: La presencia de ACPA, como biomarcador de mal pronóstico, se asocia a una menor DMO medida mediante DXA sistémico. La medición de DMO diafisaria de MC mediante DXA es una técnica reproducible con buena correlación inter e intraobservador. Los principales factores que influyen sobre la medición de DMO diafisaria de MC son el género femenino, la edad y el IMC. Los pacientes con menor DMO de MC tienen una mayor progresión en el subíndice de erosiones del SVdH a los 2 años de seguimiento.

BACKGROUND: Rheumatoid arthritis (RA) is a systemic autoimmune disease that produces chronic inflammation of the synovial membrane and joint destruction, associated with systemic complications and increased mortality. Citrullinated proteins antibodies (ACPA) can induce osteoclast activation even before the development of arthritis, leading to a loss of bone mineral density (BMD) in these patients. Techniques such as X-ray-based radiogrammetry (DXR) have shown that RA patients with lower BMD measured in the metacarpals diaphysis (MC) of the hand are associated with a worse disease prognosis, including increased mortality. However, this technique is not very accessible in our environment. In contrast, dual X-ray densitometry (DXA) is a simple, inexpensive, and accessible technique that enables effective BMD measurement.

OBJECTIVES: The development of this thesis has several objectives. The first to study the relationship between the presence of ACPA, as an example of a bad prognostic biomarker, and BMD assessed by DXA both locally and systemically. Subsequently, establish a method for measuring BMD in MC diaphysis using DXA and validate the reproducibility of the measurement of BMD using this technique to be able to evaluate cortical BMD in MC diaphysis using both techniques and study its correlation. Finally, analyze the BMD results of MC measured through DXA with clinical parameters to better assess the variables that may influence its use as a prognostic marker and thus evaluate the usefulness of baseline BMD measurement in MC diaphysis 2nd to 4th by DXA in patients with arthritis of onset as a prognostic marker based on different clinical variables of activity and remission, as well as radiographic progression of the disease and its correlation at 2 years of follow-up.

MATERIALS AND METHODS: Most of this work is based on the PEARL study, a longitudinal registry of patients recruited from the monographic clinic of recent onset arthritis (ARC) of the Rheumatology Service of the Hospital Universitario de la Princesa, a prospective longitudinal cohort that began its recruitment in September 2001 and which currently includes more than 900 patients with ARC and a follow-up of 2 years. For this thesis, the data from the baseline visits were analyzed, where sociodemographic, clinical, analytical and therapeutic variables are collected. In

addition, a DXA of the non-dominant hand, lumbar spine (LS) and hip is performed.

ACPA determination was performed using a second generation anti-cyclic citrullinated peptide enzyme immunoassay (EIA; Euro-Diagnostica Immunoscan RA; positive > 50 IU / ml) until October 2010 and thereafter with a third generation EIA (QUANTA Lite CCP3 IgG and IgA, Inova Diagnostics; positive > 40 IU / ml). This last EIA is third generation and capable of detecting ACPA of the IgG, IgA isotype. Likewise, IgG isotype anti-mutated citrullinated vimentin antibodies (MCV-ACPA) were tested by quantitative EIA analysis (ORG548 anti-MCV, Orgentec Diagnostika GmbH, Mainz, Germany; positive > 20 IU / ml).

Regarding the radiographic variables studied, plain radiographs of the non-dominant hand were performed in the selected ARC patients to perform DXR, performing a computerized study of the cortical bone mass of the 2nd to 4th metacarpals diaphysis (MC) of the non-dominant hand using the system Pronosco © from digital X-rays of both hands of all patients included in the study.

Subsequently, a BMD study was performed using DXA with a HOLOGIC © 4500W Elite series densitometer (Hologic ©, Bedford, MA, USA) and the technique by which the BMD of the 3 central CM of the non-dominant hand was analyzed was reproduced. , selecting the regions of interest (ROI) of the middle third of each MC for analysis and validation and reproducibility of the technique.

Data obtained using DXA and DXR were correlated with disease activity data (DAS28, HUPI, SDAI, CDAI), ACR / EULAR remission criteria and radiological progression using the validated Sharp method modified by van der Heijde (SvdH) as severity marker.

For each objective, the corresponding statistical analysis, mean and standard deviation (SD) of the quantitative variables with a normal distribution was performed. The median and interquartile range (IQR) were calculated for those variables with a normal distribution. Student's t-test was applied to compare the means of the variables with a normal distribution and the Mann-Whitney test was used for variables that did not present a normal distribution. The χ^2 test was used for qualitative variables. For the analysis of the correlation between the 2nd to 4th metacarpal diaphysis BMD evaluated by DXA and DXR, as well as with different quantitative variables, the Pearson or Spearman tests were used according to the distribution of the variables.

For objective 3, to analyze the relationship of the 2nd to 4th metacarpal diaphysis BMD measured by DXA with different variables, a multivariate analysis was performed with

generalized linear models using the Stata 14.0 glm command for Windows (Stata Corp LP, College Station , TX, USA).

RESULTS: For the first objective of the study, the relationship between the presence of ACPA as a marker of poor prognosis and a lower BMD at the systemic level, 578 patients from the PEARL study were analyzed (54.7% met the 2019 RA criteria, more in the group ACPA positive than negative), with an average of 5 months of evolution of the disease, a higher percentage of women in both groups. BMD was significantly associated with gender, age, menopause, and BMI. Positivity for ACPA remained as an independent variable significantly associated with lower BMD values in the lumbar spine and hip.

In order to establish DXA as a method for measuring BMD in MC, it was carried out in 27 individuals (17 healthy and 10 ARC patients), the majority women. Measurements of BMD in the diaphysis of MC shaft had excellent intraobserver correlation coefficients (mean value 0.995 [0.94-0.99]) as well as interobserver variability (mean value 0.99 [0.97-0.99]). The absolute values of the least detectable difference (SDD) were 0.028 g / cm² for the second MC, 0.034 g / cm² for the third MC diaphysis, and 0.028 g / cm² for the fourth. The Bland Altman plots suggest that the precision of the measurements does not correlate with the value of the measurements, being stable at both high and low values.

Subsequently, in the study of correlation of BMD measured by DXA and by DXR, a longitudinal prospective study was carried out in which DXR was performed in 111 patients (87.4% women) and 378 DXA (82% women) with similar characteristics in both groups. The metacarpal BMD correlation between both techniques was excellent ($R = 0.859$; $p < 0.0001$). Given these findings, we proceeded to correlate with different prognostic parameters. The main factors that influence BMD are female gender, age and BMI. In the data analyzed, we observe that patients with greater clinical activity present a tendency to present a lower BMD at the baseline visit and a tendency to present a lower baseline BMD in those patients with greater disease activity, although it does not reach statistical significance, if a statistically significant correlation was observed between the radiographic progression at two years of follow-up evaluated by the sVdH index and the BMD of MC diaphysis adjusted for age, sex and body mass index.

CONCLUSIONS: The presence of ACPA, as a poor prognostic biomarker, is associated with a lower BMD measured by systemic DXA. Measurement of MC

diaphysis BMD by DXA is a reproducible technique with good inter- and intra-observer correlation. The main factors influencing the BMD measurement of MC diaphysis are female gender, age, and BMI. Patients with lower BMD of MC diaphysis have a greater progression in the subindex of erosions of the SVdH at 2 years of follow-up.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	V
ABREVIATURAS.....	XI
RESUMEN/ABSTRACT	XV
ÍNDICE	XXV
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	XXX
1. INTRODUCCIÓN	1
1. 1 FACTORES DE RIESGO DE OSTEOPOROSIS EN AR.....	4
1. 2 OSTEOPOROSIS ASOCIADA CON AR.....	12
1. 3 EL PAPEL DE LOS AUTOANTICUERPOS SOBRE LA MASA ÓSEA EN LA ARTRITIS REUMATOIDE.....	10
1. 4 OSTEOPOROSIS ASOCIADA CON AR.....	12
1. 5 LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA COMO POSIBLE MARCADOR DE GRAVEDAD EN ARTRITIS REUMATOIDE	13
2. HIPOTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO	17
2.1 HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	19
2.2 OBJETIVOS DEL ESTUDIO	19
3. PACIENTES Y MÉTODOS.....	21
3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO Y SUBPOBLACIONES ANALIZADAS.....	23
3.2. ESTUDIO PEARL.....	23
3.3 MEDIDAS Y VARIABLES DEL ESTUDIO.	24
3.3.1 <i>Variables generales de la población de estudio</i>	24
3.3.2 <i>Variables específicas para el estudio de los ACPA y otros anticuerpos</i>	24
3.3.3 <i>Variables radiológicas</i>	25
3.3.4 <i>Variables de desenlace</i>	29
3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	29
4. RESULTADOS	31
4.1 LA RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE ACPA, COMO EJEMPLO DE BIOMARCADOR DE MAL PRONÓSTICO, Y LA DMO EVALUADA MEDIANTE DXA TANTO A NIVEL LOCAL COMO SISTÉMICO (ANEXO II).	33

4.1.1	<i>Características de la población</i>	33
4.1.2	<i>La masa ósea sistémica, pero no la de articulaciones MCF, es más baja en pacientes ACPA positivos</i>	35
4.2	DESCRIPCIÓN DE UN MÉTODO DE MEDICIÓN DE MC MEDIANTE DXA Y VALIDACIÓN DE LA REPRODUCIBILIDAD DE LA MEDICIÓN DE LA DMO MEDIANTE ESTA TÉCNICA (ANEXO III).....	39
4.2.1	<i>Características de los sujetos de estudio</i>	39
4.2.2	<i>Resultados de las mediciones de DMO</i>	40
4.2.3	<i>Variabilidad y precisión intra e interobservador</i>	40
4.3	CORRELACIÓN DE LA DMO EVALUADA MEDIANTE DXR Y DXA (ANEXO IV)	43
4.3.1	<i>Características de la población</i>	43
4.3.2	<i>La medición de DMO mediante DXA muestra una buena correlación con los resultados medidos mediante DXR</i>	43
4.4	EXAMINAR Y CORRELACIONAR LOS RESULTADOS DE DMO DE MC MEDIDOS A TRAVÉS DE DXA CON PARÁMETROS CLÍNICOS PARA VALORAR MEJOR LAS VARIABLES QUE PUEDEN INCIDIR EN SU UTILIZACIÓN COMO MARCADOR PRONÓSTICO.....	44
4.5	VALOR PREDICTIVO DE LA DMO EVALUADA MEDIANTE DXA CON VARIABLES DE DESENLACE EN PACIENTES CON ARC	46
5.	DISCUSIÓN	51
5.1.	RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE ACPA, COMO EJEMPLO DE BIOMARCADOR DE MAL PRONÓSTICO, Y LA DMO EVALUADA MEDIANTE DXA TANTO A NIVEL LOCAL COMO SISTÉMICO.....	53
5.2 Y 5.3	ESTABLECER UN MÉTODO DE MEDICIÓN DE DMO DE MC MEDIANTE DA Y VALIDAR LA REPRODUCIBILIDAD DE LA MEDICIÓN DE LA DMO MEDIANTE ESTA TÉCNICA. EVALUAR LA DMO CORTICAL EN MC MEDIANTE DXR Y DXA Y ESTUDIAR LA CORRELACIÓN DE MEDIDAS POR AMBAS TÉCNICAS.	55
5.4	ANALIZAR LOS RESULTADOS DE DMO DE MC MEDIDOS A TRAVÉS DE DXA CON PARÁMETROS CLÍNICOS PARA VALORAR MEJOR LAS VARIABLES QUE PUEDEN INCIDIR EN SU UTILIZACIÓN COMO MARCADOR PRONÓSTICO.....	56

5.5 EVALUAR LA UTILIDAD DE LA MEDICIÓN DE DMO BASAL EN MC 2° A 4° MEDIANTE DXA EN PACIENTES CON ARC COMO MARCADOR PRONÓSTICO EN BASE A DIFERENTES VARIABLES CLÍNICAS DE ACTIVIDAD Y REMISIÓN, ASÍ COMO PROGRESIÓN RADIOGRÁFICA DE LA ENFERMEDAD Y SU CORRELACIÓN A LOS 2 AÑOS DE SEGUIMIENTO.....	57
5.6 FORTALEZAS Y LIMITACIONES.....	59
6. CONCLUSIONES	63
7. BIBLIOGRAFÍA.....	67
8. ANEXOS.....	81

Índice de tablas y figuras

1. INTRODUCCIÓN	1
FIGURA 1. ESQUEMA ILUSTRATIVO DE LA REGULACIÓN DE LA OSTEOCLASTOGÉNESIS EN PACIENTES CON AR.....	7
FIGURA 2. PROCESO EVOLUTIVO DE LA ENFERMEDAD REMATOIDE.....	14
2. HIPOTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO	17
3. PACIENTES Y MÉTODOS	21
FIGURA 3. RADIOGRAMETRÍA DIGITAL DE RAYOS X (DXR). MARCADO EN AZUL LAS REGIONES DE INTERÉS (ROI) DE LOS METACARPANOS CENTRALES DE LA MANO NO DOMINANTE.....	26
FIGURA 4. A) ESTACIÓN DE TRABAJO PARA EL ESTUDIO DENSITOMÉTRICO. B) DENSITÓMETRO HOLOGIC © QDR-4500 CONVENCIONAL.....	27
FIGURA 5. DENSITOMETRÍA DUAL DE RAYOS X (DXA) DE LA MANO NO DOMINANTE. EN AMARILLO MARCADO LAS 3 REGIONES DE INTERÉS (ROI) DE LOS METACARPANOS (MC) CENTRALES.....	28
4. RESULTADOS	31
TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN	34
FIGURA 6. DENSIDAD MINERAL ÓSEA (DMO) EN PACIENTES ANTICUERPO ANTIPÉPTIDO CITRULINADO (ACPA) POSITIVOS.....	35
TABLA 2. EFECTO DE LOS ACPA Y OTRAS VARIABLES SOBRE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA (MG/CM ²) EN LA COLUMNA LUMBAR, CADERA Y ARTICULACIONES MCF	36
FIGURA 7. CORRELACIÓN Y EFECTO COMPARATIVO DE MCV-ACPA Y ACPA CON LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA (DMO) EN COLUMNA LUMBAR. CORRELACIÓN ENTRE NIVELES DE MCV-ACPA Y ACPA.....	37
FIGURA 8. CORRELACIÓN Y EFECTO COMPARATIVO DE MCV-ACPA Y ACPA CON LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA (DMO) EN COLUMNA LUMBAR DISTRIBUCIÓN DE DMO EN COLUMNA LUMBAR DE PACIENTES DEL REGISTRO PEARL ACORDES A NIVELES DE ACPA Y NIVELES DE MCV-ACPA.....	38
TABLA 3. EFECTO DE LOS MCV-ACPA Y OTRAS VARIABLES SOBRE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA (MG/CM ²) EN LA COLUMNA LUMBAR, CADERA Y ARTICULACIONES MCF	39
TABLA 4. CARACTERÍSTICAS DE LOS SUJETOS DE ESTUDIO	40

TABLA 5. VARIABILIDAD INTRA E INTEROBSERVADOS DE LAS MEDIDAS DE 2- ^o 4 ^o MC EN SUJETOS SANOS Y PACIENTES CON ARC.	41
FIGURA 9. VARIABILIDAD INTEROBSERVADOR OBSERVADA POR CADA DOS EVALUADORES.	42
FIGURA 10. GRÁFICAS DE BLAND-ALTMAN DE LAS MEDIDAS DE CADA DXA REALIZADA POR CADA OBSERVADOR.....	42
FIGURA 11. CORRELACIÓN DE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA (DMO) DE CORTICAL DE METACARPANOS 2 ^o A 4 ^o EVALUADA MEDIANTE RADIOGRAMETRÍA (DXR) Y DENSITOMETRÍA (DXA).	44
FIGURA 12. CORRELACIÓN DE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA (DMO) CON LAS PRINCIPALES VARIABLES QUE INFLUYEN SOBRE LA DMO.	45
TABLA 6. ANÁLISIS MULTIVARIABLE DE CORRELACIÓN DE LA MEDIA DE LA DMO DE 2-4 ^o MC CON LAS PRINCIPALES VARIABLES QUE INCIDEN SOBRE LA MASA ÓSEA (EDAD, SEXO, IMC) Y EL NIVEL DE ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD MEDIDO POR HUPI	45
FIGURA 13. LOS PACIENTES QUE NO CONSIGUEN ALCANZAR LA REMISIÓN (DEFINIDO POR HUPI < 2,5) A LOS DOS AÑOS DE SEGUIMIENTO TIENEN UNA MENOR DENSIDAD MINERAL ÓSEA (DMO) DIAFISARIA DE METACARPANOS (MC).	46
FIGURA 14. LOS PACIENTES CON UNA ACTIVIDAD MEDIA ELEVADA (MODERADA/ALTA SEGÚN HUPI) A LO LARGO DEL SEGUIMIENTO TIENEN MENOR DMO DIAFISARIA DE MC EN LA VISITA BASAL	47
TABLA 7. ANÁLISIS MULTIVARIABLE DE CORRELACIÓN DE LA MEDIA DE LA DMO DE 2-4 ^o MC CON LAS PRINCIPALES VARIABLES QUE INCIDEN SOBRE LA MASA ÓSEA (EDAD, SEXO, IMC), VARIABLE GENERADA DE INTENSIDAD DE TRATAMIENTO EN LOS PRIMEROS DOS AÑOS DE SEGUIMIENTO Y EL NIVEL DE ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD MEDIDO POR HUPI	47
TABLA 8. ANÁLISIS MULTIVARIABLE DE CORRELACIÓN DE LA MEDIA DE LA DMO DE 2-4 ^o MC CON LAS PRINCIPALES VARIABLES QUE INCIDEN SOBRE LA MASA ÓSEA (EDAD, SEXO, IMC) Y LA PROGRESIÓN RADIOGRÁFICA A DOS AÑOS SEGÚN EL ÍNDICE DE SVdH.	48
FIGURA 15. CORRELACIÓN DE LA DMO MEDIA DE MC CON LA PROGRESIÓN RADIOGRÁFICA EVALUADA MEDIANTE EL ÍNDICE RADIOLÓGICO SVdH A 2 AÑOS, ESTIMACIÓN MEDIA AJUSTADA POR EDAD, SEXO E IMC CALCULADA MEDIANTE EL COMANDO <i>MARGINS</i> DE STATA EN BASE AL MULTIVARIABLE DE LA TABLA 8.....	48

1. INTRODUCCIÓN

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune sistémica cuya manifestación más característica es la inflamación persistente de la membrana sinovial de las articulaciones diartrodiales, lo que lleva a deterioro del cartílago y el hueso yuxtaarticular con destrucción progresiva de las articulaciones y también pérdida de masa ósea nivel sistémico. Como consecuencia, conlleva una elevada discapacidad funcional, desarrollo de comorbilidades y disminución de la esperanza de vida (1). La actual prevalencia de la AR en España se estima en 1,07%, con un intervalo de confianza (IC) del 95%: 0,70-1,44(2), datos similares a los observados en otros países occidentales. Esto supone que casi medio millón de personas padecen AR en nuestro país y, por tanto, implica altos costes directos derivados de la atención sanitaria, y también indirectos debidos a la incapacidad laboral y la dependencia que produce la AR. En España, en 2001 el coste total de la AR era de más de 2.250 millones de euros (unos 10.700 euros por paciente y año), siendo el 30% costes indirectos relacionados con la discapacidad laboral (3). Recientemente, se ha estimado que solo los costes directos han aumentado hasta unos 12.150 euros por paciente y año, aunque con una enorme variabilidad dependiente del paciente y de la región (4). Muy probablemente, este incremento esté relacionado con el aumento del uso de terapias avanzadas que, entre los años 2000 y 2010, se administraron preferentemente en fases evolucionadas de la enfermedad, donde son menos efectivas.

El desalentador panorama descrito previamente parece que ha mejorado durante la última década (5). Los tres grandes hitos que han contribuido a mejorar el curso evolutivo de los pacientes con AR han sido: 1) El reconocimiento de la “ventana de oportunidad” como un periodo de unas 15-20 semanas desde el inicio de la enfermedad en el que la respuesta a cualquier tipo de fármaco modificador de la enfermedad (FAME) es desproporcionadamente mejor, siendo más factible reducir la destrucción articular y alcanzar la remisión de la enfermedad (6) 2) la intensificación del tratamiento en base a un seguimiento estrecho en el que se busque la consecución de objetivos preestablecidos (“*tight control*” + “*treat to target [T2T]*”), remisión o baja actividad (7) y 3) la llegada de las terapias avanzadas, tanto terapias biológicas, como inhibidores de las vías JAK-STAT, que se han ido incluyendo gradualmente en las recomendaciones de manejo de la AR (8). De las tres, posiblemente la primera sea la más importante, ya que incide directamente en la eficacia de las otras dos.

Sin embargo, la AR tiene un curso evolutivo muy heterogéneo y, para implementar las tres medidas antes descritas sin producir yatrogenia innecesaria necesitamos

biomarcadores que nos ayuden a diferenciar los pacientes con alto riesgo de mal curso evolutivo, de aquellos que con tratamiento poco agresivo evolucionaran de forma favorable.

La osteoporosis (OP) es un trastorno esquelético sistémico por el que se produce una disminución de la masa ósea y deterioro de la microarquitectura del tejido óseo, lo que conlleva un aumento de la fragilidad ósea y susceptibilidad a la aparición de fracturas por fragilidad o de bajo impacto. La fractura por fragilidad se define como una fractura espontánea resultado de un mínimo o nulo traumatismo y es un signo de OP establecida (9). La prevalencia de OP en la población general varía del 9% al 38% para las mujeres y del 1% al 8% para hombres según los países (9). En la Unión Europea (UE), se estimó que 22 millones mujeres y 5,5 millones de hombres tenían OP en 2010 (10).

Como es ya conocido, la OP es una comorbilidad frecuente en la AR con una prevalencia que ronda el 30%, llegando hasta el 50% en mujeres postmenopáusicas, casi el doble que la población general (11)(12), alcanzando una incidencia de 33,00 frente a 15,31 por 1.000 personas-año en un meta-análisis reciente (13). La columna vertebral es a menudo la parte del esqueleto más frecuentemente afectada, con una tasa de fracturas vertebrales hasta 5 veces superior respecto a los controles sanos (13)(14).

1. 1 FACTORES DE RIESGO DE OSTEOPOROSIS EN AR

La OP y la AR comparten algunos factores de riesgo común, como el género femenino (proporción mujer:hombre en AR: 3-4:1) y el tabaquismo. Otros factores de riesgo generales de OP como la edad, el índice de masa corporal (IMC) bajo, la menopausia, la diabetes o los trastornos tiroideos (11)(15)(16) son igualmente aplicable a pacientes con AR y a la población general.

La inflamación sistémica crónica es otro factor importante a tener en cuenta en estos pacientes. Por otra parte, la AR, presenta factores de riesgo añadidos para la OP, como son la actividad persistente de la enfermedad, con el efecto de las células inmunitarias que conduce a la aparición de erosiones óseas, y el uso frecuente de glucocorticoides (GC) a lo largo del transcurso de la enfermedad. Todo ello conduce a un aumento del riesgo de OP de manera más precoz y aumentando el riesgo de comorbilidades secundarias (16).

Se ha observado que tanto la OP como las fracturas aparecen de manera más significativa en pacientes con una alta actividad de la enfermedad evaluada mediante el índice compuesto DAS28, en aquellos que presentan erosiones periarticulares y daño estructural acumulado (17), puntuación más elevada en índices de capacidad funcional como el HAQ o que presentan biomarcadores de mal pronóstico en AR como son los anticuerpos antipéptido citrulinados (ACPA) o el factor reumatoide (FR) positivos (18)(19). De hecho, se ha descrito que la positividad de los ACPA se ha asociado de manera independiente con la pérdida de masa ósea trabecular grave (15) y que el riesgo de fractura, evaluado mediante el FRAX, se ve incrementado a los 10 años en estos pacientes (20). Por el contrario, las publicaciones recientes muestran que los pacientes que logran una remisión temprana de la AR tienen un perfil de riesgo de OP similar a la población general (19).

En cuanto a los agentes terapéuticos para la AR, la terapia con GC merece una mención especial. De hecho, los GC suprimen en el hueso la formación de osteoblastos, que se asocia con una rápida supresión de propéptido N-terminal de procolágeno tipo 1 (PINP, un biomarcador de formación ósea), lo que lleva a una reducción temprana del hueso trabecular (21). Curiosamente, los GC también suprimen la actividad de los osteoclastos (OC), cuya actividad está aumentada en pacientes con artritis activa, por lo que también podrían tener un efecto protector en algunos casos (22). De hecho, algunos estudios muestran que el uso de GC en la AR podría ser incluso beneficioso, con un bajo impacto en la densidad mineral ósea (DMO) debido a sus propiedades antiinflamatorias y supresoras sobre la actividad de la artritis (22)(23). Por tanto, dosis bajas de GC podrían proporcionar protección contra la pérdida ósea inflamatoria durante los episodios de actividad poliarticular inflamatoria y podría contrarrestar sus posibles efectos desfavorables sobre la reabsorción ósea que conducen a un equilibrio esquelético neutral o incluso favorable (23)(24).

1. 2 OSTEOINMUNOLOGIA: CONCEPTO Y RELEVANCIA CLÍNICA DEL SISTEMA INMUNE Y LAS ENFERMEDADES SISTÉMICAS MEDIADAS POR EL SISTEMA INMUNE SOBRE EL REMODELADO ÓSEO

En el pasado, el hueso era considerado una estructura estática, pero hoy en día sabemos que se trata de un tejido dinámico en constante actividad. Así, el esqueleto se renueva

de forma completa aproximadamente cada 10 años. El proceso de formación y reabsorción ósea se conoce como remodelado óseo. Este proceso tiene una regulación compleja, determinada por factores mecánicos, moleculares y celulares. De hecho, los OC, los osteoblastos (OB) y los osteocitos son los principales actores celulares involucrados en esta remodelación ósea.

El hueso y el sistema inmunológico mantienen una estrecha relación tanto anatómica - ya que el hueso alberga la médula ósea- como funcional a través diferentes vías de señalización molecular y celular y múltiples mediadores o citoquinas (25)(26).

En consecuencia, la osteoinmunología es una disciplina que intenta abordar todas estas interrelaciones (27) y ha experimentado un gran desarrollo en los últimos años. La AR es el prototipo de enfermedad osteoinmunológica donde la pérdida de DMO es uno de los hallazgos más característicos. En la AR hay tres tipos de pérdida ósea: local, yuxtaarticular y sistémica, ocasionando las distintas comorbilidades conocidas como el desarrollo de erosiones articulares y OP sistémica con el consecuente riesgo de presentar fracturas (28)(29).

El desequilibrio en la remodelación ósea que ocurre en la AR provoca un aumento en la resorción ósea que conduce a una reducción de la DMO y una disminución de la osteoformación que inhibe la reparación ósea. Existen diferentes células, citoquinas y vías de señalización que están involucradas en ambos procesos como podemos ver en el esquema que se muestra en la figura 1 (Anexo 1). Todas ellas podrían ser posibles dianas terapéuticas para prevenir la progresión radiográfica y la aparición de osteopenia/ osteoporosis asociada a la AR.

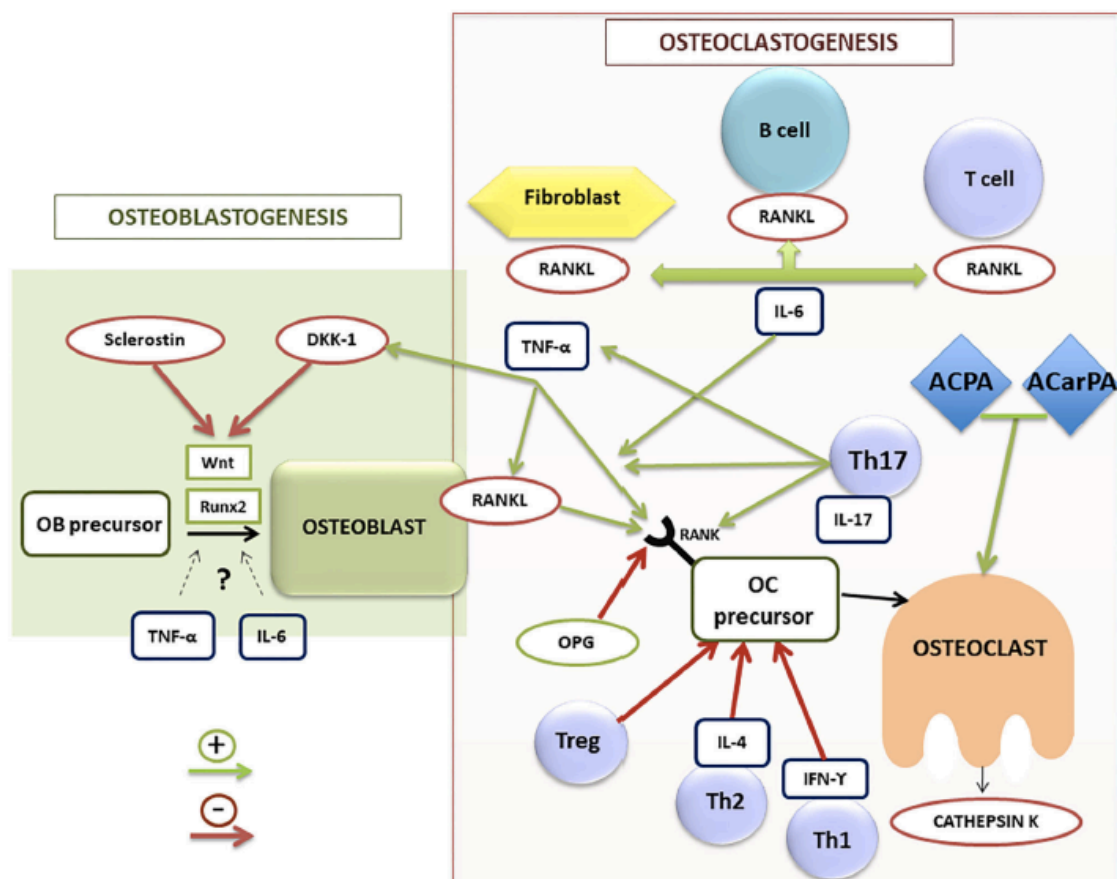


Figura 1. Esquema ilustrativo de la regulación de la osteoclastogénesis en pacientes con AR. ACPA: Anticuerpos antipéptidos citrulinados; ACPa: Anticuerpos antiproteínas carbamiladas; DDK-1: Dikkopf 1; IL: familia de interleucinas; OB: osteoblastos; OC: osteoclastos; OPG: osteoprotegerina; RANK: Receptor activador del factor nuclear (NF) - κ B; RANKL: Ligando del receptor activador del factor nuclear (NF) - κ B; Runx2: factor de transcripción relacionado con la osteoblastogénesis; TNF-alfa: Factor de necrosis tumoral alfa; Th: linfocitos “helper”; Treg: linfocitos T reguladores.

Los OC son la principal población celular responsable de la pérdida de masa ósea en pacientes con AR. Estas células gigantes multinucleadas están involucradas en la resorción ósea a través de la degradación de la matriz ósea por enzimas ácidas y catalíticas, lo que lleva al desarrollo de erosiones óseas en la AR (30). Se originan a partir de células madre hematopoyéticas del linaje de los macrófagos/monocitos. Para su diferenciación requieren la intervención del factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF) (31). Además, numerosas moléculas y vías de señalización están involucradas en los procesos de diferenciación y activación de los OC. Entre ellos, el receptor activador del factor nuclear (NF) - κ B (RANK) y su ligando (RANKL) son los

más importantes (Anexo 1). RANK y RANKL son proteínas que pertenecen a la superfamilia del Factor de necrosis tumoral (TNF). RANKL se expresa, tanto en forma soluble, como unido a la membrana de diferentes células óseas (OB y OC) y también en diferentes subpoblaciones de células del sistema inmunológico (25)(32). Por el contrario, RANK principalmente se expresa en OC. La osteoprotegerina (OPG) es otra proteína de la superfamilia del TNF, que tiene un papel regulador en remodelación ósea (33), trabajando como receptor señuelo RANKL, bloqueando su efecto a través de su interacción y por lo tanto inhibiendo la osteoclastogénesis. De hecho, RANKL se conocía inicialmente como el Ligando OPG (34).

El tejido sinovial en la AR es la principal fuente de RANKL (35), siendo los fibroblastos sinoviales y las células T activadas las principales células involucradas en su producción (36). En un modelo animal experimental, la ausencia de expresión de RANKL en fibroblastos de ratones con artritis inducida por colágeno parece tener un efecto protector sobre la aparición de erosiones óseas. Este no es el caso de la deficiencia de RANKL en las células T. Además de la expresión de RANKL, los fibroblastos inducen osteoclastogénesis a través de la disminución de OPG (37).

Las células T también juegan un papel crucial en el metabolismo óseo en la AR. Como se ha mostrado en la Figura 1, hay diferentes fenotipos de células T (Th1, Th2, Th17 y Treg), mostrando patrones de expresión de diferentes moléculas y de liberación de distintas citocinas que juegan distintas funciones en la regulación del remodelado óseo. Las dos primeras subpoblaciones desempeñan un papel regulador negativo sobre la osteoclastogénesis, secretando citocinas inhibitoras como interferón gamma (IFN-g) e IL-4 (38). Las células T reguladoras (Treg) también funcionan como reguladores negativos de la osteoclastogénesis, siendo responsables de regular la tolerancia y autorreactividad. Las células Treg parecen tener un efecto antiinflamatorio en modelos animales de artritis inducida por TNF, donde inhiben la diferenciación de los OC y promueven la actividad de los OB (39).

Por el contrario, las células Th17 se han descrito como un subtipo de las células Th que inducen la osteoclastogénesis por varios mecanismos (40). Estas células producen RANKL e IL-17, una citocina que a su vez estimula la producción de RANKL por los fibroblastos y OB. Además, estimulan la producción de M-CSF y RANKL por OB y células estromales, también la producción de TNF- α aumentan la expresión de RANK en los precursores de OC (41).

Finalmente, las células B, además de ser células productoras de anticuerpos, también parecen desempeñar un papel en la resorción ósea en la AR, ya que son capaces de producir RANKL bajo determinados estímulos participando así en osteoclastogénesis y resorción ósea (42).

Además de los subconjuntos de células, numerosas citocinas se han descrito en la patogenia de la AR, entre las que se encuentran TNF- α e IL-6, porque no solo juegan un papel en la inflamación, pero también parecen tener un efecto directo sobre la remodelación ósea en AR (25). De hecho, son dos de las principales dianas terapéuticas de las nuevas terapias para la AR. En la tabla 1 (Anexo I) se muestran las principales citocinas implicadas en la destrucción y formación ósea en pacientes con enfermedades inflamatorias.

El TNF- α tiene un efecto osteoclastogénico neto. Estimula la resorción ósea mediante la promoción de la diferenciación de los OC, aumentando la expresión de RANKL en linfocitos T y B y en OC, en los que también promueve la expresión de RANK en precursores de OC (43). El TNF- α también contribuye a la inhibición de la formación ósea mediante la estimulación de la producción de Dickkopf-1 (DKK-1) como se muestra en la figura 1. Los estudios *in vitro* e *in vivo* han descrito un controvertido papel del TNF- α en la osteoblastogénesis, describiendo efectos tanto inhibidores (44) como estimulantes (45), dependiendo de la etapa de diferenciación de los osteoblastos. La IL-6 es otra citocina clave en la patogenia de la AR (46). Además de su claro papel sobre la inflamación, tiene un efecto directo sobre la pérdida ósea global y local en AR (47). La IL-6 promueve la reabsorción ósea mejorando la expresión de RANKL por osteoblastos, fibroblastos y células T (48) y está implicado en la diferenciación de las células Th17. Sin embargo, IL-6 tiene un papel controvertido en la formación ósea, ya que es tanto proosteoclastogénico (49) como inhibitorio (50).

Otra molécula interesante involucrada en la reabsorción ósea es catepsina K, una proteasa lisosomal expresada predominantemente en OC y que está sobreexpresada en el tejido sinovial, fibroblastos y suero en pacientes con AR (51). En un modelo animal de artritis utilizando ratones transgénicos con TNF humano (hTNF-tg), la deficiencia de catepsina K inhibe la activación de los OC, previniendo la erosión articular y presentando un papel regulador en el sistema inmune (52).

En el proceso de formación ósea por los OB, las células de origen mesenquimal, y diferentes moléculas y vías de señalización celular contribuyen de diferentes maneras. Una de las rutas más importantes de señalización es la vía Wnt. Las vías de señalización

Wnt son un grupo de vías de transducción de señales que comienzan con proteínas que traducen señales en la célula a través de los receptores de la superficie celular, activando la transcripción de factores genéticos que regulan la maduración de los OB y por lo tanto la formación de hueso. También hay diferentes inhibidores endógenos de esta vía, entre los que se encuentran DKK-1 y la esclerostina (53). En la AR, hay un aumento en la expresión de estos factores inhibidores de la vía Wnt y por lo tanto una reducción en la formación de hueso. En consecuencia, esta vía podría estar involucrada en la reparación de erosiones óseas en AR (54).

De manera similar, se ha informado un aumento de DKK-1 en la membrana sinovial y el suero en pacientes con AR. La elevación DKK-1 se asocia con un mayor riesgo de erosiones en estos pacientes (55). Sus niveles parecen depender del estado proinflamatorio, mientras que la inhibición del TNF- α los reduce.

La esclerostina es otro inhibidor de la vía Wnt, principalmente secretada por los osteocitos. Bloqueando la esclerostina, en el modelo de artritis de ratones transgénicos para el TNF humano se reduce la destrucción del hueso periarticular y el daño del cartílago, sin cualquier efecto sobre la inflamación.

1.3 EL PAPEL DE LOS AUTOANTICUERPOS SOBRE LA MASA ÓSEA EN LA ARTRITIS REUMATOIDE

La AR es una enfermedad en la que el desarrollo de diferentes autoanticuerpos es un evento patogénico temprano que se asocia con daño estructural de la articulación, la aparición de erosiones y osteopenia yuxtaarticular (56)(57). Los autoanticuerpos más frecuentes asociados con la AR son el FR y los ACPA. El FR se dirige contra la región Fc de IgG y aparece principalmente como isoforma de IgM. Aunque el FR está presente en un alto porcentaje de los pacientes con AR, no es muy específico, ya que puede aparecer en otras enfermedades autoinmunes e incluso en población sana, especialmente en personas mayores. Por el contrario, los ACPA son más específicos de AR y es muy poco prevalente en la población general, habiendo demostrado evidencia de su papel pronóstico en la progresión radiológica y la aparición de erosiones. En la actualidad, está bien establecido que los ACPA se puede detectar en sueros humanos durante la etapa previa a la AR clínica, incluso 10 años antes del inicio de los síntomas (58).

Como ya se ha mencionado, los mecanismos por los cuales la OP sistémica aparece en la AR son complejos, incluidos la inflamación sistémica mantenida, el uso de GC, disminución de la actividad física y como consecuencia de algunos FAME.

En la actualidad, existe suficiente evidencia para respaldar que los autoanticuerpos también juegan un papel en la patogenia de la pérdida de DMO, sistémica o local, en la AR. Diferentes modelos animales han demostrado que los ACPA puede inducir diferenciación de los OC y su activación incluso antes del inicio de la artritis (59). Durante la diferenciación de los OC, los precursores mieloides expresan vimentina citrulinada en su membrana que puede ser el objetivo de su ACPA específicos. Este tipo de ACPA se une al receptor Fc-gamma que induce la producción de CXCL8, que a su vez promueve la proliferación y maduración de los OC (59)(60). La presencia de inmunocomplejos de ACPA y sus dianas también pueden inducir este proceso (61)(62). Además, Kleyer et al. han demostrado una disminución en la DMO cortical sistémica en una población limitada de sujetos positivos para ACPA sin artritis (63). Resultados similares en este sentido han sido descritos por Bugatti et al. en una cohorte de artritis de inicio temprano presentaban una disminución de la DMO cortical sistémica en cadera, columna lumbar y mano en pacientes ACPA positivos independiente de los factores de riesgo clásico para OP (64).

La sólida evidencia disponible sobre el papel de los ACPA como biomarcadores de diagnóstico y pronóstico en la AR ha llevado a que sean incluidos como un elemento altamente ponderado en los criterios ACR/EULAR para la clasificación de la AR (65). Sin embargo, otros autoanticuerpos que reconocen modificaciones postraduccionales de proteínas también se han asociado con una posible utilidad pronóstica. Entre ellos, los anticuerpos anti-proteínas carbamiladas (anti-CarPA) son los que tienen la evidencia más sólida con respecto a su papel en la patogenia de la AR en comparación con anticuerpos anti-proteínas acetiladas u otras modificaciones.

Curiosamente, muchas de estas modificaciones (citrulinación, acetilación o carbamilación) incluyen vimentina, apuntando a esta proteína como un objetivo importante en la patogénesis de la AR. Los anti-CarPA ha mostrado una superposición clara con los ACPA, pero algunos estudios los han identificado como un biomarcador de pronóstico independiente, especialmente con respecto a la aparición de erosiones (66).

Como ya se mencionó anteriormente, la presencia de citocinas proinflamatorias mantenidas en la AR juegan un papel importante en la regulación y activación de los

OC. Pero también hay evidencia de la importancia de los autoanticuerpos y complejos inmunes para la producción de estas citocinas inflamatorias por macrófagos, mostrando de una forma indirecta como estos complejos inmunes contribuyen a la pérdida de DMO a través de la regulación de los OC.

En conjunto, estos datos sugieren que múltiples factores patogénicos juegan un papel relevante en la aparición de la OP sistémica que incluso podrían estar actuando desde antes del inicio de la inflamación articular, y conducen a la pérdida local de DMO en etapas posteriores a través de la perpetuación de la inflamación y el aumento progresivo de sus niveles.

1.4 OSTEOPOROSIS ASOCIADA CON AR

En los últimos 10 años se ha descrito, una disminución en la prevalencia de OP y fracturas en pacientes con AR. Probablemente la causa sea una mejoría en las opciones terapéuticas que han permitido a los reumatólogos llevar a más pacientes con AR a la remisión (19).

La mayor parte de la información proviene de los inhibidores del TNF, cuyo uso se ha asociado con una disminución del número de fracturas y con la mejoría de la DMO en regiones anatómicas vertebrales y no vertebrales (67)(68). En cuanto a los marcadores de recambio óseo, los resultados de los estudios fueron bastante consistentes, mostrando a menudo un aumento en marcadores de la formación ósea junto con una disminución de los marcadores de resorción ósea (69)(70). Con menos frecuencia en estos estudios, se observaron una disminución en la resorción del hueso con estabilización de la formación ósea (71)(72), o estabilización de los marcadores de resorción ósea con de marcadores formación ósea (73)(74). Un artículo reciente mostró, en pacientes con AR temprana tratados con certolizumab pegol, que los marcadores de recambio óseo y los inhibidores de la vía Wnt/B-catenina pueden cambiar rápidamente después inicio de la terapia, con una disminución del telopéptido carboxi-terminal de colágeno tipo 1 (CTX-I), un aumento de PINP y la disminución en DKK-1 y esclerostina, ya evidente desde la primera semana del inicio del tratamiento (70).

Otros agentes biológicos como tocilizumab, rituximab y abatacept han mostrado una disminución significativa en los marcadores de resorción ósea y expresión de RANKL, que proporciona evidencia de un efecto beneficioso sobre el proceso de remodelación

ósea que ralentiza la pérdida de DMO (19). En un estudio, tras dos años de tratamiento con tocilizumab se objetivó una mejora en la DMO y reducción significativa de los niveles CTX en pacientes ACPA positivos (75). Otro estudio reveló la eficacia de abatacept para aumentar la DMO en la zona del cuello femoral sin diferencias en los niveles urinarios de N-telopéptido de colágeno tipo I (uNTx) y fosfatasa alcalina específica del hueso (76).

Finalmente, el efecto de los FAME no biológicos sobre la DMO, principalmente estudiado para metotrexato, sobre la DMO es controvertido (77). La leflunomida ha sido el único FAME para el que se ha observado un aumento significativo en la DMO de la columna lumbar, sin que se detecten diferencias significativas a nivel de cuello femoral (78). En conjunto, esta evidencia sugiere que la relación entre la actividad de la AR, la inflamación sistémica y la OP está mediada por citocinas proinflamatorias (principalmente M-CSF, IL-17, TNF- α , IL-1 e IL-6) que regulan la osteoclastogénesis y son importantes estimuladores de la síntesis de RANKL. Durante el proceso inflamatorio, su producción excede la síntesis de sus inhibidores fisiológicos y receptor señuelo OPG. Por lo tanto, el desequilibrio entre la actividad de los OB y los OC es directamente responsable de la pérdida ósea y las erosiones locales en la AR (19)(17). Sin embargo, este desequilibrio también puede ocurrir a nivel sistémico.

Todo ello permitiría postular que la pérdida de DMO en la AR puede ser un predictor temprano de enfermedad erosiva (17), como sugiere un estudio en el que la pérdida de DMO medida por radiogrametría en metacarpianos fue el principal predictor independiente de posterior progresión radiográfica articular (79).

1.5 LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA COMO POSIBLE MARCADOR DE GRAVEDAD EN ARTRITIS REUMATOIDE

Actualmente, la estrategia de manejo de la AR apunta a la detección precoz y el inicio de tratamiento con FAME tan pronto como se detecte la presencia de artritis(7). Esta recomendación parte del concepto de enfermedad reumatoide, como un proceso evolutivo que comienza años antes de que el paciente cumpla criterios de AR (Figura 2).

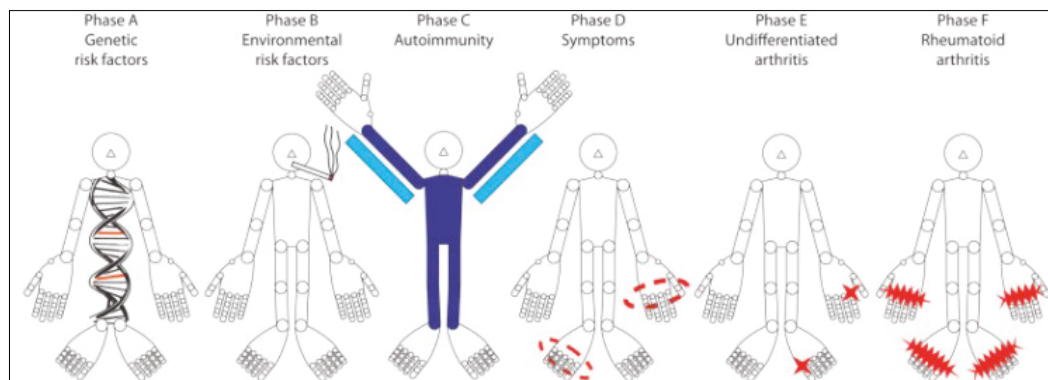


Figura 2. Proceso evolutivo de la enfermedad reumatoide (80).

En este sentido, el estudio PEARL (Princesa Early Arthritis Register Longitudinal) ha demostrado que la implementación del tratamiento con FAME aprovechando la ventana de oportunidad y adoptando las estrategias de “*tight control*” y “T2T” (“*treat to target*”) ha llevado a la prevención de enfermedad erosiva y detención de la progresión radiológica (5), tanto por un mejor control de la enfermedad como por un uso reducido de fármacos osteopenizantes a largo plazo. Sin embargo, como ya se ha mencionado previamente el curso evolutivo de la AR es muy heterogéneo desde formas muy agresivas a formas leves incluso, esporádicamente, con tendencia a la remisión espontánea. Por tanto, es importante tener biomarcadores pronósticos que nos ayuden a identificar a aquellos pacientes que necesitan tratamiento intensivo de forma precoz con el fin de evitar un mal curso evolutivo a largo plazo. Que tengan una baja DMO sugiere que la medición de la masa ósea podría ayudar a predecir el pronóstico de los pacientes con artritis temprana.

Los métodos más ampliamente utilizados para determinar la masa ósea periarticular hasta la actualidad han sido la absorciometría radiológica de fotón único y de doble fotón (DXA), la tomografía computarizada periférica (TCp) y, recientemente, la radiogrametría basada en el uso de rayos X (DXR), que mide la densidad ósea cortical de los tres metacarpianos medios de ambas manos, mediante tecnología radiológica digital. Desde su aprobación por la FDA en 1999, la tecnología DXR ha sido utilizada a nivel experimental para diferentes aplicaciones, que incluyen tanto la predicción de severidad y la monitorización de tratamientos en la AR como para valorar el riesgo de fractura en pacientes con OP.

Con respecto a este tema, hay evidencia de que la medición de la DMO por DXR en la diáfisis de metacarpianos de la mano no dominante de los pacientes con AR está asociada con la progresión de la enfermedad, aparición de erosiones óseas e incluso, en algunos estudios, con aumento de la mortalidad (79)(80)(81). Además, la DXR es un procedimiento muy sensible para detectar la pérdida de DMO en la mano y en la AR de larga duración se ha asociado con títulos elevados de autoanticuerpos, principalmente ACPA, progresión radiográfica y la aparición de erosiones (82). Sin embargo, la DXR es una técnica costosa y poco accesible. Por el contrario, la densitometría de rayos X dual convencional (DXA) es el *gold standard* para evaluar la DMO en la OP, y también es una técnica sencilla y más accesible en todo el mundo. En este sentido, en el estudio PEARL se viene realizando DXA de columna lumbar, cadera y antebrazo desde el año 2005. Además, en un proyecto previo al que ha dado lugar a esta tesis, se decidió realizar DXA de mano no dominante en todos los pacientes incluidos en dicho estudio con el fin de determinar cómo afectaba la presencia de inflamación local en la masa ósea total de la mano y, en especial, de las articulaciones metacarpofalángicas(83).

En resumen, la aparición de los tratamientos biológicos y la utilización de estrategias de tratamiento precoz e intensivo con los FAME tradicionales y la implantación progresiva de consultas monográficas de ARC está permitiendo un mejor control de los pacientes con AR.

Sin embargo, y aunque el tratamiento precoz e intensivo con las terapias biológicas avanzadas en combinación con FAME ha demostrado mejorar el curso evolutivo de la enfermedad, estos estudios también muestran que hasta el 50% de pacientes con AR de inicio puede evolucionar favorablemente con esquemas terapéuticos menos intensivos y costosos (84). Por otra parte, la aplicación indiscriminada de tratamientos biológicos a pacientes con ARC supondría un coste difícilmente sostenible para nuestro sistema sanitario, así como la exposición de una parte de pacientes a riesgos innecesarios por iatrogenia. En este sentido, sería deseable disponer de biomarcadores y de herramientas o técnicas pronósticas que nos permitieran identificar a aquellos pacientes que sufrirán una enfermedad más agresiva, para optimizar los tratamientos biotecnológicos avanzados de la manera más racional.

El abordaje de esta situación es complejo, pues la realización de estudios para determinar factores asociados a una mayor gravedad de la AR presenta una serie de limitaciones. En primer lugar, la propia definición de gravedad. Quizás la variable más determinante de gravedad y discapacidad a largo plazo sea la aparición del daño

estructural. Por el contrario, debemos mencionar que las erosiones en la AR tienen un inicio precoz. De hecho, en un 10% de pacientes se detectan erosiones a las 8-10 semanas del inicio de la sintomatología, y en un 47% se pueden ver erosiones con técnicas adecuadas a los 12 meses de evolución (85). En segundo lugar, los estudios transversales son menos sensibles para determinar gravedad que los estudios longitudinales, al disponer de mediciones aisladas de actividad. En tercer lugar, los pacientes se tratan de forma más precoz e intensiva, y como consecuencia, un subgrupo de ellos nunca llegará a cumplir criterios de clasificación de la enfermedad. No obstante, se ha demostrado que los pacientes con artritis indiferenciada siguen un curso evolutivo similar al de los pacientes que sí cumplen criterios de AR (86).

Esta tesis pretende analizar si la medición de la masa ósea cortical los metacarpianos 2° a 4° por DXA, puede sustituir a la DXR, como marcador predictivo en un registro de pacientes con ARC, de forma equiparable e independiente de los biomarcadores séricos ya conocidos. Esto nos permitirá discriminar basalmente subgrupos y perfiles de pacientes de alto riesgo para instaurar un tratamiento precoz y agresivo de una forma selectiva y coste-efectiva a los pacientes con peor pronóstico, optimizando los tratamientos costosos, y evitando iatrogenias innecesarias en aquellos pacientes con una menor pérdida ósea en un corto intervalo de tiempo.

2. HIPOTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

2.1 Hipótesis de trabajo

Teniendo en cuenta que los pacientes con AR precoz que presentan baja DMO de metacarpianos (MC) 2º a 4º evaluada mediante técnica DXR presentan una peor evolución radiológica e incluso mayor mortalidad a medio-largo plazo, y teniendo en cuenta que la medición de la DMO mediante DXA convencional es una técnica fiable que debería correlacionarse con los hallazgos obtenidos con DXR, nuestra hipótesis de trabajo se fundamenta en que la medición de la DMO de MC con DXA es un biomarcador pronóstico en pacientes con ARC.

2.2 Objetivos del estudio

Este trabajo pretende analizar los valores de DMO obtenidos mediante DXA y su correlación con factores pronósticos ya conocidos en un registro de pacientes con ARC.

Para ello se proponen los siguientes objetivos específicos:

1. Estudiar la relación entre la presencia de ACPA, como ejemplo de biomarcador de mal pronóstico, y la DMO evaluada mediante DXA tanto a nivel periarticular como sistémico.
2. Establecer un método de medición de DMO de MC diafisaria mediante DXA y validar la reproducibilidad de la medición de la DMO mediante esta técnica.
3. Evaluar la DMO cortical en MC diafisaria mediante DXR y DXA y estudiar la correlación de las medidas por ambas técnicas.
4. Analizar los resultados de DMO de MC diafisaria medidos a través de DXA con parámetros clínicos para valorar mejor las variables que pueden incidir en su utilización como marcador pronóstico.
5. Evaluar la utilidad de la medición de DMO basal en la diáfisis de metacarpianos 2º a 4º mediante DXA en pacientes con ARC como marcador pronóstico en base a diferentes variables clínicas de actividad y remisión, así como de progresión radiográfica de la enfermedad y su correlación a los 2 años de seguimiento.

3. PACIENTES Y MÉTODOS

3.1 Diseño del estudio y subpoblaciones analizadas

La mayor parte de los apartados de este trabajo se basan en el estudio PEARL que es un registro longitudinal de pacientes reclutados en la consulta monográfica de ARC del Servicio de Reumatología del Hospital Universitario de la Princesa. Las subpoblaciones de PEARL estudiadas en cada uno de los objetivos están descritas en los apartados Pacientes y Métodos de los Anexos 2 y 3. Además, se estudió a una población sin artritis para la realización del objetivo 4, que está descrita en el Anexo 3.

3.2 Estudio PEARL

Se trata de una cohorte longitudinal prospectiva que inició su reclutamiento en septiembre de 2001 y que en la actualidad incluye a más de 900 pacientes con ARC y un seguimiento de 2 años.

Los criterios de inclusión son: edad >15 años y presencia de artritis en dos o más articulaciones durante al menos una semana. Los criterios de exclusión son: enfermedad con más de 1 año de evolución, artritis sépticas, virales o microcristalinas y diagnósticos de conectivopatía y/o espondiloartritis. Para esta tesis se han incluido solo aquellos pacientes que cumplen criterios de AR [1987 (87) vs 2010 (65)] o aquellos clasificados como artritis indiferenciadas según los descrito por Verpoort et al (86).

El protocolo de seguimiento incluye 4 visitas que se realizan a los 0, 6, 12 y 24 meses de seguimiento en la consulta monográfica de ARC, por lo que existe un seguimiento a dos años de toda la cohorte. En la primera visita, el paciente es informado de los objetivos del estudio y se solicita su colaboración, firmando un consentimiento informado si el paciente accede a participar en el mismo. El estudio incluye a todos los pacientes con DXA de diferentes localizaciones que varía según los objetivos (ver Anexos 2, 3 y 4 para los objetivos 1, 2, 3; y en el caso de los objetivos 4 y 5 fue de 328 para DXA y de 129 para DXR de MC 2º a 4º para los objetivos 4 y 5).

3.3 Medidas y variables del estudio.

3.3.1 Variables generales de la población de estudio

En la consulta de ARC se recogen de manera protocolizada los siguientes parámetros:

- **Variables sociodemográficas:** género, raza, ocupación laboral, fecha de nacimiento e inicio de los síntomas.
- **Variables clínicas:** se realiza recuento de 28 articulaciones dolorosas y tumefactas, la valoración global de la enfermedad por parte del paciente y del médico en escala analógica visual (EVA) de 0 a 100, la intensidad del dolor (EVA 0-100) y se realiza un cuestionario de capacidad funcional HAQ adaptado a población española (88).
- **Variables analíticas:**
 - o Biomarcadores de inflamación como la proteína C reactiva (PCR, mg/dL) y velocidad de sedimentación globular (VSG).
 - o Parámetros analíticos para monitorización del tratamiento.
 - o FR, ACPA (UI/mL).
- **Variables terapéuticas:** Uso de FAMEs (dosis, fechas de inicio del tratamiento, la de suspensión si ocurre y su causa); dosis de glucocorticoides en cada visita y dosis acumulada durante el seguimiento, así como la necesidad o no del uso de agentes biológicos y/o terapias avanzadas

3.3.2 Variables específicas para el estudio de los ACPA y otros anticuerpos

Los ACPA se midieron utilizando un inmunoensayo enzimático de péptidos cíclicos anticitrulinados de segunda generación (EIA; Euro-Diagnostica Immunoscan RA; positivo >50 UI/ml) hasta octubre de 2010 y a partir de entonces con un EIA de tercera generación (QUANTA Lite CCP3 IgG e IgA, Inova Diagnostics; positivo >40 UI/ml). Este último EIA es de tercera generación y capaz de detectar ACPA de isotipo IgG e IgA.

Con el objeto de normalizar los datos de ambos kits, los niveles de ACPA se clasificaron como negativos si están por debajo del límite del fabricante, bajos si están por encima de este límite pero por debajo de la mediana de la población positiva (500 UI/ml para el kit Euro-diagnostica y 350 UI/ml para el kit Quanta Lite) y altos cuando

están por encima de la mediana de la población positiva.

Además, para el objetivo 1 se evaluaron los anticuerpos anti-vimentina citrulinada mutada de isotipo IgG (MCV-ACPA) a través de un análisis cuantitativo EIA (ORG548 anti-MCV, Orgentec Diagnostika GmbH, Mainz, Alemania; positivo >20 UI/ml). Los niveles de MCV-ACPA también se agruparon como se definió anteriormente para los ACPA.

3.3.3 Variables radiológicas

- **Radiografía simple:** en las visitas basal, 12 y 24 meses se realiza radiografía (Rx) convencional de manos y pies en proyección AP (General Electric, modelo DEFINIUM 8000). La lectura de las Rx fue realizada mediante el índice de Sharp con la modificación de van der Heijde (SvdH) (89), solo en manos, por un observador externo ajeno al centro que fue contratado a tal efecto. La valoración Rx fue realizada de forma ciega en bloques de radiografías anonimizadas que se le enviaraban periódicamente, sin conocimiento del momento evolutivo en el que está tomada cada exploración radiográfica.

- **Radiogrametría (DXR):** Se realizó un estudio computarizado de la masa ósea cortical del 2º al 4º metacarpianos (MC) de la mano no dominante mediante el sistema Pronosco© a partir de las radiografías digitales de ambas manos de todos los pacientes incluidos en el estudio. Para ello fue imprescindible utilizar sólo Rx digitalizadas que se enviaron de forma ciega, mediante un sistema de codificación anonimizado, para su análisis centralizado en Sectra Medical System, en Linköping, Suecia, empresa matriz que es la que ofrece mejores garantías para este tipo de análisis. La tecnología DXR, aplicada a la radiografías digitales de las manos, ha sido adaptada para localizar las diáfisis de los 3 MC medios en ambas manos, que son escaneadas y analizadas de forma independiente (Fig. 3). Una vez identificada cada diáfisis, se obtienen las regiones de interés (ROI) de los 3 MCP a analizar. En cada ROI, se localizan los bordes endostal y perióstico de forma automática fragmentando el hueso en dos regiones corticales y una endostal (Fig. 3).



Figura 3. Radiogrametría digital de rayos X (DXR). Marcado en azul las regiones de interés (ROI) de los metacarpianos centrales de la mano no dominante.

- **Densitometría dual de rayos X (DXA) (Figura 4):**

- **Medida protocolizada de la consulta de ARC en mano, cadera y columna lumbar:** Se realiza una DXA estándar de manos (visitas 0, 6, 12 y 24 meses) y de cadera y columna lumbar (visitas 0 y 24 meses), aunque los datos analizados para esta tesis son los de las visitas basales. Estas medidas se realizaron con un densitómetro HOLOGIC© 4500W serie Elite (Hologic©, Bedford, MA, EE.UU. El densitómetro se calibra diariamente utilizando un fantoma antropomorfo de columna lumbar (coeficiente de variabilidad (CV) obtenido en columna en el último año: 0,46%). Además se realizó una DXA convencional de mano no dominante con programa de subregiones para determinar la masa ósea en las articulaciones metacarpofalángicas (MCF) 2ª a 4ª, así como a nivel de las diáfisis de MC de dicha mano.

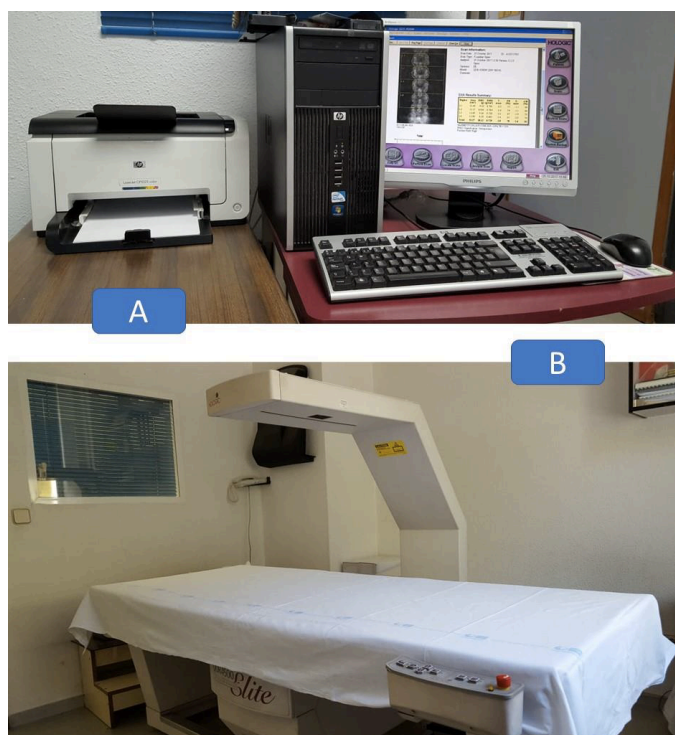


Figura 4. A) Estación de trabajo para el estudio densitométrico. B) Densitómetro Hologic© QDR-4500 convencional.

- **Nueva medida de DMO diafisaria de MC de la mano no dominante:** Para obtener una medición de la DMO de los MC centrales tal y como se realiza mediante DXR, se desarrolló una nueva medida manual mediante DXA de estas áreas. Para ello, se realizó una DXA en todos los sujetos de estudio con la mano colocada en posición neutra y los dedos extendidos con una ligera separación entre ellos (Figura 5). Las exploraciones DXA se realizaron en un densitómetro Hologic© QDR-4500 convencional (Hologic©, Bedford, MA, EE.UU.). Con el objetivo de adaptar la DXA a la técnica establecida y validada por SECTRA® para la DXR (SECTRA, Linköping, Suecia), generamos tres ROI similares a las utilizadas con DXR mediante la función de análisis subregional de Hologic © QDR-4500. Así, las ROI fueron diseñadas para ocupar el tercio medio de la diáfisis de los MC evitando las áreas cercanas a la metáfisis, dejando un espacio equidistante en el tercio superior e inferior de cada hueso MC (Figura 5). El área de ROI colocada en la descripción anterior tuvo una medida promedio “34 x 22 líneas” para MC2, “34 x 21 líneas” para MC3 y “30 x 19 líneas” para MC4. Inicialmente se colocó paralelo al eje de cada

hueso MC y luego se adaptó el ancho y la altura de cada ROI de acuerdo con el tamaño de cada MC, como se ha descrito anteriormente. Es importante dejar un espacio entre el ROI de cada dedo para evitar que se superpongan entre sí, evitando obtener una medición falsa al agregar el contenido mineral óseo de cada hueso metacarpiano contiguo.

Para evaluar la variabilidad interobservador e intraobservador, realizamos tres mediciones consecutivas de la mano no dominante mediante DXA de cada sujeto en el mismo día con reposicionamiento completo de la mano entre cada exploración. Posteriormente, cada medición de DXA fue examinada de forma ciega e independiente por tres evaluadores entrenados diferentes en diferentes días, analizando la DXA realizada a cada sujeto en los tres huesos MC medios (2° a 4°) con un total de nueve determinaciones por cada mano. Los resultados absolutos de DMO se expresan como g/cm^2 . Para una información más detallada, ver el apartado métodos del Anexo III.

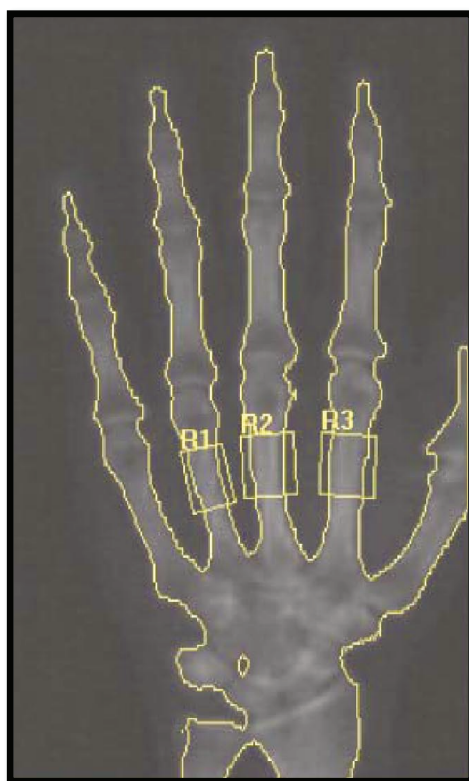


Figura 5. Densitometría dual de rayos X (DXA) de la mano no dominante. En amarillo marcado las 3 regiones de interés (ROI) de los metacarpianos (MC) centrales.

3.3.4 Variables de desenlace

- **Actividad de la artritis:** Se evaluará la condición de actividad y si existe o no remisión clínica de acuerdo al DAS28 (90), HUPI (91), SDAI y CDAI (92) y los criterios ACR/EULAR de remisión (93). Se considerará remisión un valor DAS28 < 2,56 (93), un SDAI ≤ 3,3 (93) o un HUPI < 2,5 (91).

- **Progresión radiográfica:** Esta valoración se realizó mediante la realización de una radiografía convencional seriada de manos y pies en proyección AP estándar a los 12 y 24 meses, en el seguimiento global de la cohorte. La valoración de las Rx se realizó mediante el método validado de Sharp modificado por van der Heijde (SvdH), que evalúa erosiones y/o pinzamiento del espacio articular en una escala de 0 a 448 y que fue valorada por un observador externo ajeno al centro. Se consideró progresión radiográfica la variación de > 5 unidades en dicha escala SvdH en un periodo de 12 meses (valor que representa la menor diferencia detectable, SDD) (94).

3.4 Análisis estadístico

Los métodos estadísticos relacionados con los objetivos 1 y 2 se describen en los Anexos II y III respectivamente.

A continuación se describe el análisis estadístico de los Objetivos 3, 4 y 5.

El análisis descriptivo se realizó calculando la media y desviación estándar (DE) de las variables cuantitativas con una distribución normal. La mediana y el rango intercuartílico (IQR/RIC) se calcularon para aquellas variables con distribución normal. La estimación de las proporciones se utilizó para describir variables cualitativas. La prueba t de Student se aplicó para comparar las medias de las variables con una distribución normal y la prueba de Mann-Whitney se utilizó para variables que no presentaban distribución normal. La prueba de la χ^2 se utilizó para las variables cualitativas.

Para el objetivo 2, analizar la correlación entre la DMO de diáfisis de metacarpianos 2° a 4° medida por DXA y por DXR, así como con diferentes variables cuantitativas, se utilizaron los test de Pearson o de Spearman según la distribución de las variables.

Para el objetivo 3 analizar la relación de la DMO de diáfisis de metacarpianos 2° a 4°

medida por DXA con diferentes variables se realizó un análisis multivariable con modelos lineales generalizados usando el comando glm de Stata 14.0 para Windows (Stata Corp LP, College Station, TX, USA).

Incluimos aquellas variables que consideramos relevantes en relación a la DMO (edad, IMC, tabaquismo, actividad de la enfermedad, dosis acumulada y basal de prednisona) en los modelos iniciales. Los modelos finales se obtuvieron mediante la eliminación manual por pasos hacia atrás de las variables mediante el criterio de información bayesiano, eliminando todas las variables con $p > 0,15$.

Para el objetivo 5, una vez que se obtuvo el mejor modelo en la fase anterior, se realizaron diferentes modelos para cada una de las variables de desenlace en las que cada una de ellas fue forzada en el modelo descrito previamente.

4. RESULTADOS

A continuación se exponen los resultados por objetivos desde el intento inicial de correlacionar la medición de masa ósea sistémica y local (articulaciones MCF) con la presencia de un marcador reconocido de mal pronóstico como son los ACPA, hasta el desarrollo de la medición de masa ósea de diáfisis de metacarpianos en densitometría de mano, evaluación de su reproducibilidad y finalmente aplicación como marcador pronóstico.

4.1 Relación entre la presencia de ACPA, como ejemplo de biomarcador de mal pronóstico, y DMO evaluada mediante DXA tanto a nivel local como sistémico (ANEXO II).

4.1.1 Características de la población

Para este objetivo se analizaron 578 pacientes pertenecientes al estudio PEARL, de los cuales aquellos con ACPA positivo cumplían los criterios de AR de 2010 con mayor frecuencia que los pacientes ACPA negativos. La distribución de diagnósticos entre los pacientes que no cumplían criterios de AR eran: artritis indiferenciada (AI, 65,8%), espondiloartritis (8,9%), artrosis (8,5%), trastornos del tejido conectivo (4,3%) y artritis de otras causas (gota o artritis viral) (22,5%). La presencia de FR positivo, el sexo femenino, una mayor duración de la enfermedad, un menor IMC y un mayor número de articulaciones MCP inflamadas también fueron significativamente más frecuentes en los pacientes ACPA positivos. Además, esta población mostró una mayor actividad de la enfermedad que alcanzó significación estadística mediante el índice HUPI y fue casi significativo cuando se estimó mediante el DAS28. Las diferencias en el porcentaje de pacientes tratados con glucocorticoides y la dosis acumulada de prednisona utilizada no resultó significativa. Estos datos pueden comprobarse en la tabla 1.

	Total (n= 578)	ACPA+ (n=220)	ACPA- (n=358)	p
Mujeres, n (%)	458 (79.2)	187 (85)	271 (75.7)	0.007
Edad (años; p50 [IQR])	53.6 [41.9-66.3]	52.5 [42.0-64.0]	54.1 [41.8-67.3]	0.409
Fumadores				0.272
Nunca	322 (55.7)	113 (51.4)	209 (58.3)	
Alguna vez	127 (22.0)	52 (23.6)	75 (21.0)	
Actualmente	129 (22.3)	55 (25.0)	74 (20.7)	
IMC (p50 [IQR])	26.0 [23.0-29.1]	25.0 [22.5-28.9]	26.4 [23.5-29.3]	0.005
Menopausia (%)				0.548
No/Si/ND	60.1/37.6/2.3	58.1/38.8/3.1	61.2/36.9/1.9	
Uso de prednisona; n (%)	130 (22.5)	56 (25.4)	74 (20.7)	0.193
Dosis acumulada de prednisona (mg; p50 [IQR]; media ± S	0 [0-125] 168 ±445	0 [0-125] 159 ±436	0 [0-125] 159 ± 436	0.749
Duración de la enfermedad (meses; p50 [IQR])	5.0 [2.8-8.2]	5.5 [3.1- 8.8]	4.7 [2.5-7.8]	0.017
Criterios AR 2010 (%)	316 (54.7)	196 (89.1)	120 (33.5)	<0.001
FR (%)	254 (43.9)	171 (77.7)	83 (23.2)	<0.001
DAS28 (p50 [IQR])	4.1 [3.2-5.4]	4.3 [3.3-5.6]	4.1 [3.15.1]	0.054
HUPI	6.5 [9-4]	7 [10-4]	6 [9-4]	0.0230
HAQ (p50 [IQR])	0.875 [1.5-0.375]	0.875 [1.625-0.375]	0.875 [1.5-0.375]	0.795
MCF tumefactas (2°-4°; p50 [IQR])	0 [0-1]	1 [0-2]	0 [0-1]	0.004

Tabla 1. Características de la población. N: número; RIC: rango intercuartílico; ACPA anticuerpos antipéptido citrulinados; p50: 50º percentil o mediana; IMC: índice de masa corporal; ND: no disponible; AR: artritis reumatoide; FR: factor reumatoide; DAS28: índice de actividad basado en recuento de 28 articulaciones; HUPI: Hospital Universitario de La Princesa Index; HAQ: *Health Assessment Questionnaire*; MCF: articulaciones metacarpofalángicas.

4.1.2 La masa ósea sistémica, pero no la de articulaciones MCF, es más baja en pacientes ACPA positivos.

Los pacientes con ACPA positivos mostraron significativamente menor DMO tanto en columna lumbar (CL) como en cadera total (CT) y cuello femoral (CF) (Figura 6. A-C). No se observaron diferencias significativas para las articulaciones MCF (Figura 1D). Para determinar si las diferencias observadas en la DMO entre los pacientes ACPA positivos y negativos eran un verdadero efecto de los autoanticuerpos o un sesgo relacionado con las diferencias en las características de ambas poblaciones, ajustamos con un análisis multivariable. Además, incluimos en el modelo otras variables que influyen en la DMO, como son: menopausia, edad, IMC o la dosis acumulada de glucocorticoides en el momento de la medición de la DMO.

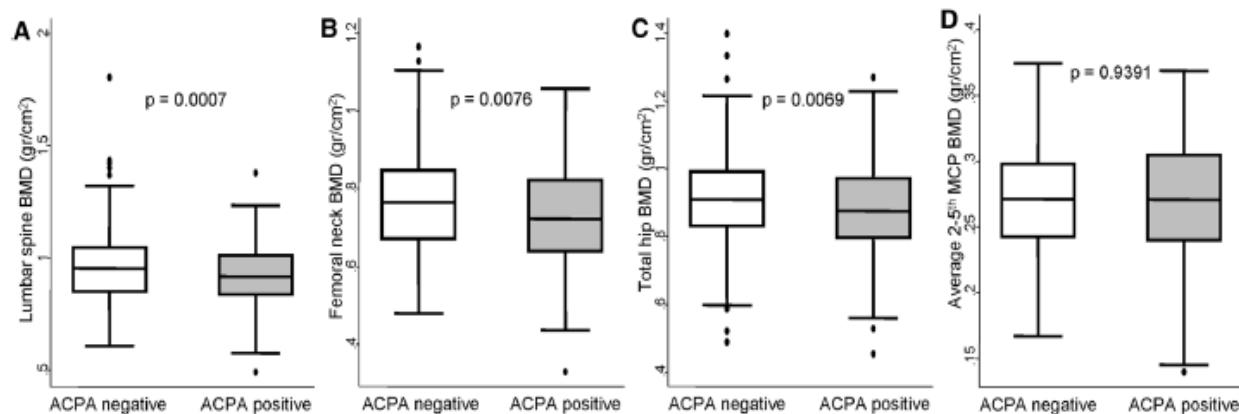


Figura 6. Densidad mineral ósea (DMO) en pacientes con anticuerpos antipéptido citrulinados (ACPA) positivos. Las figuras representan las diferentes localizaciones anatómicas incluidas en el estudio: A) Columna lumbar; B) Cuello femoral; C) Cadera total; D) Promedio 2°-5° articulación metacarpofalángica. Los datos están presentados como rango intercuartílico (p75 borde superior, p25 borde inferior, p50 línea media de cada caja). Para el estudio estadístico se ha utilizado el test de Mann-Whitney con $p < 0.0125$ para múltiples comparaciones.

Como se esperaba, la variabilidad en la DMO se asoció significativamente con el género, la edad, la menopausia y el IMC (Tabla 2). Después del ajuste por estas variables, la positividad para ACPA permaneció como variable independiente asociada de forma significativa con valores más bajos de DMO en CL, CF y CT (Tabla 2).

La duración de la enfermedad al inicio del estudio, cumplir los criterios de AR de 2010, y la actividad de la enfermedad, incluso cuando se estima mediante la escala HUPI, que es más precisa que el DAS28 (91), fueron excluidos de los modelos finales, ya que no mejoraban el modelo multivariable, ya que perdieron significación en su asociación a diferencias en la DMO.

Como en las otras localizaciones, las variaciones en la DMO en articulaciones MCF se explicaron por el sexo, edad e IMC (Tabla 2). Además, cumplir criterios de AR 2010 se asoció con tendencia a una DMO más baja en las articulaciones MCF (Tabla 2). Sorprendentemente, la inflamación de articulaciones MCF en el momento de la medición de la DMO no se asoció con menor masa ósea en esta localización. Tampoco la presencia de ACPA se asoció con menor masa ósea en articulaciones MCF, siendo esta una localización preferentemente formada por hueso trabecular.

	Columna lumbar (n=553)		Cuello femoral (n=556)		Cadera total (n=556)		MCF 2°-5° (n=389)	
	Coef. β (95% CI)	p	Coef. β (95% CI)	p	Coef. β (95% CI)	p	Coef. β (95% CI)	p
ACPA +	-36 (-59; -12)	0.003	-23 (-41; -5)	0.014	-25 (-50; -1)	0.046	2 (-6; 11)	0.572
Mujer	-32 (-64; 0) 0.053		-25 (-50; 0)	0.051	-64 (-98; -30) <0.001		-24 (-34; -13)	<0.001
Edad (años)								
<45	Ref	---	Ref	---	Ref	---	Ref	---
45-65	-44 (-75; -13)	0.005	-54 (-79; -30)		-49 (-82; -16)	0.003	-3 (-13; 7)	0.572
>65	-75 (-110; -40) <0.001		<0.001 -134 (-161; -107) <0.001		-117 (-155; -81) <0.001		-38 (-49; -27)	<0.001
Menopausia								
No	Ref	---	Ref	---	Ref	---	Ref	---
Si	-69 (-99; -39)		-53 (-77; -30)		-50 (-81; -18)		-21 (-31; -12)	
ND	<0.001 -91 (-166; -17)	0.016	<0.001 -35 (-94; 23)	0.238	0.002 -11 (-90; 69) 0.782		<0.001 -25 (-46; -5)	0.014
Criterios AR 2010	No incluido		No incluido		No incluido		-8 (-17; 0)	0.050

Tabla 2. Efecto de los ACPA y otras variables sobre la densidad mineral ósea (mg/cm^2) en la columna lumbar, cadera y articulaciones MCF

Finalmente, dado que los MCV-ACPA se han asociado con activación de osteoclastos y osteoporosis cortical en individuos sanos (63), estudiamos si estos autoanticuerpos se asociaban con una DMO más baja. Como era de esperar, los títulos de MCV-ACPA se correlacionaron significativamente con los niveles de ACPA (Fig. 7). Además, cuando dividimos nuestra población según presencia de MCV-ACPA, la DMO mostró un

patrón similar al de los ACPA (Fig. 8). La positividad de los MCV-ACPA mostró una tendencia similar hacia una DMO más baja en las mismas localizaciones que los ACPA, después de ajustar por factores de confusión (Tabla 3).

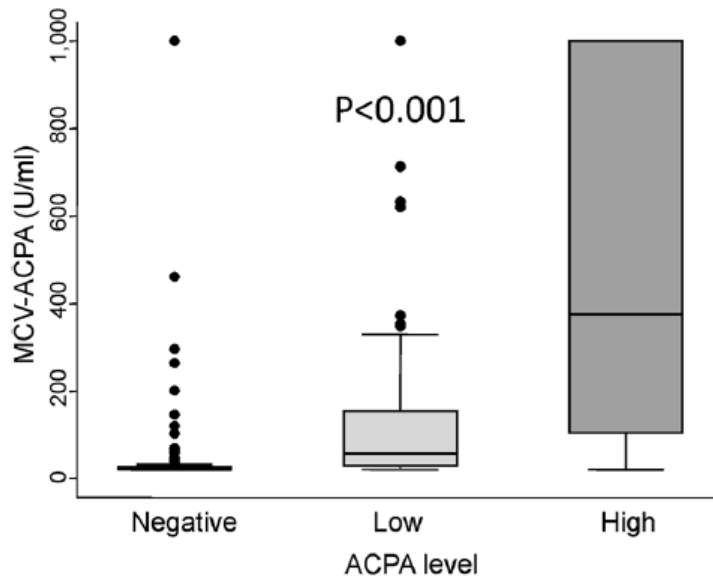


Figura 7. Correlación y efecto comparativo de MCV-ACPA y ACPA con la densidad mineral ósea (DMO) en columna lumbar. Correlación entre niveles de MCV-ACPA y ACPA.

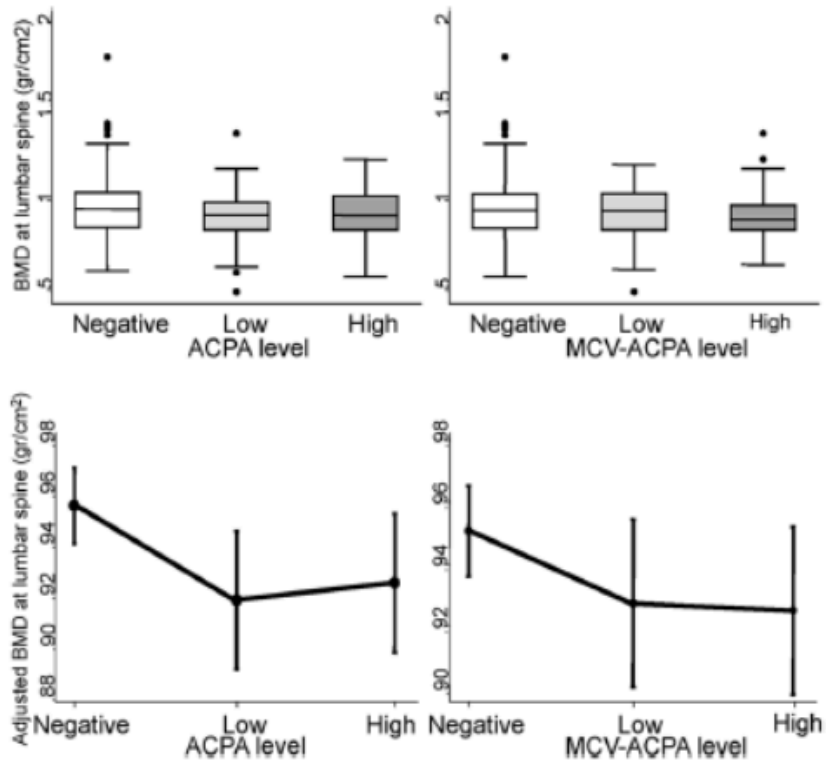


Figura 8. Correlación y efecto comparativo de MCV-ACPA y ACPA con la densidad mineral ósea (DMO) en columna lumbar. Distribución de DMO en columna lumbar de pacientes del registro PEARL acordes a niveles de ACPA (paneles izquierdos) y niveles de MCV-ACPA (paneles derechos). Los datos se muestran como rango intercuartilico (p75 borde superior, p25 borde inferior, p50 línea media), p95 (línea superior de la caja) y p5 (línea inferior de la caja). Los puntos representan los valores *outliers*. La significación estadística se estimó utilizando el test de Kruskal-Wallis con una $p < 0.05$. En los paneles inferiores de B) se muestran datos como una predicción lineal con un intervalo de confianza del 95% para la DMO de la columna lumbar acuerdo al análisis multivariable.

	Columna lumbar (n=553)		Cuello femoral (n=556)		Cadera total (n=556)		MCF 2°-5° (n=389)	
	Coef. β (95% CI)	p	Coef. β (95% CI)	p	Coef. β (95% CI)	p	Coef. β (95% CI)	p
MCV-ACPA								
Negativo	Ref	---	Ref	---	Ref	---	Ref	---
Bajo	-27 (-58;4)	0,086	-17 (-40;-7)	0,160	-30 (-54;-5)	0,018	7 (-4;18)	0,218
Alto	-30 (-61;1)	0,059	-9 (-33;14)	0,447	-2 (-27;22)	0,865	3 (-9;13)	0,712
Mujer	-30 (-65;6)	0,099	-23(-50; 4)	0,092	-48(-77;-20)	0,001	-24 (-35; -13)	<0.001
Edad (años)								
<45	Ref	---	Ref	---	Ref	---	Ref	---
45-65	-45 (-77;-12)	0,007	-55 (-80;-30)	<0.001	-31 (-57;-5)	0,021	-5 (-15;5)	0.331
>65	-68 (-106;-30)	<0,001	-134 (-163; -105)	<0.001	-105 (-135; -75)	<0.001	-40 (-51; -28)	<0.001
IMC (Kg/m³)	5 (3;8)	<0,001	9 (7;11)	<0,001	11 (9;13)	<0,001	2 (2;3)	<0,001
Menopausia								
No	Ref	---	Ref	---	Ref	---	Ref	---
Si	-75(-107;-43)	<0,001	-53 (-78;-28)	<0,001	-71 (-97;-45)	<0,001	-19 (-29;-9)	<0.001
No disponible	-72(-146;-1)	0,054	-31 (-86; 24)	0,268	-29 (-86;29)	0,329	-22 (-41;-3)	0.023
Criterios AR 2010	No incluido		No incluido		No incluido		-9 (-19; 0) 0.055	

Tabla 3. Efecto de los MCV-ACPA y otras variables sobre la densidad mineral ósea (mg/cm²) en la columna lumbar, cadera y articulaciones MCF

4.2 DESCRIPCIÓN DE UN MÉTODO DE MEDICIÓN DE MC MEDIANTE DXA Y VALIDACIÓN DE LA REPRODUCIBILIDAD DE LA MEDICIÓN DE LA DMO MEDIANTE ESTA TÉCNICA (ANEXO III).

4.2.1 Características de los sujetos de estudio

Este estudio se llevó a cabo en 27 individuos, 17 sujetos sanos, y 10 pacientes de ARC, cuyas características son resumidas en la Tabla 4. Los voluntarios sanos incluyeron trabajadores normales del hospital sin ningún tipo de enfermedad crónica inflamatoria conocida.

	Sujetos sanos	Pacientes con ARC
Numero de sujetos	17	10
Duración de la enfermedad, mediana de meses [IQR]	--	5.1 [6-8]
Mujer/Hombre	13/4	10/0
Edad, media [IQR], años	43.7 [22-62]	63.2 [48-85]
Postmenopausia (%)	23.5%	70%
IMC, media \pm DE, kg/m²	28.5	22.2
Fumadores (%)	5.8	0

Tabla 4. Características de los sujetos de estudio.

4.2.2 Resultados de las mediciones de DMO

El segundo y tercer hueso MC mostraron una mayor DMO, siendo el segundo hueso MC la localización con la mayor DMO tanto en hombres como en mujeres. El análisis bivalente mostró que las mujeres, las personas mayores, y los pacientes con ARC tenían una DMO media más baja. Sin embargo, en el análisis multivariable mostró que solo el género era significativo asociado con una menor DMO (coeficiente β 0.088; $p < 0,0001$) como ocurre en otras localizaciones del esqueleto. Es probable que la asociación inicial con pacientes ARC se debiera al alto porcentaje de mujeres en esta subpoblación.

4.2.3 Variabilidad y precisión intra e interobservador

Las mediciones de la DMO en la diáfisis MC tuvieron excelentes coeficientes de correlación intraobservador así como variabilidad interobservador (Tabla 5). La Figura 10 muestra los resultados de variabilidad interobservador con un coeficiente de correlación interobservador medio de 0,995. De hecho, el coeficiente de variación osciló entre 2,25% y 2,91% para los diferentes MC con un coeficiente de variación

medio de DMO en 2°-4° MC de 2,07% (Tabla 5). Los valores absolutos de la mínima diferencia detectable (SDD) fueron 0,028 g/cm² para el segundo MC, 0,034 g / cm² para el tercer MC y 0,028 g/cm² para el cuarto. Finalmente, los gráficos de Bland Altman (Figura 10) sugieren que la precisión de las mediciones no se correlaciona con el valor de las medidas, siendo estable tanto en valores altos como bajos.

N= 27	CC Intraobservador	CC Interobservador	CV (%)	SDD (g/cm2)
MC2				
Evaluador 1	0.989 (0.98-0.99)	0.995 (0.99-0.99)	2.25	0.028
Evaluador 2	0.991 (0.98-0.99)			
Evaluador 3	0.987 (0.97-0.99)			
MC3				
Evaluador 1	0.986 (0.97-0.99)	0.985 (0.97-0.99)	2.85	0.028
Evaluador 2	0.988 (0.98-0.99)			
Evaluador 3	0.968 (0.94-0.98)			
MC4				
Evaluador 1	0.939 (0.88-0.97)	0.985 (0.97-0.99)	2.85	0.028
Evaluador 2	0.984 (0.98-0.99)			
Evaluador 3	0.973 (0.94-0.99)			
MC 2°-4°				
Evaluador 1	0.987 (0.98-0.99)	0.995 (0.99-0.99)	2.07	0.024
Evaluador 2	0.992 (0.98-0.99)			
Evaluador 3	0.992 (0.98-0.99)			

Tabla 5. Variabilidad intra e interobservados de las medidas de 2-°4° MC en sujetos sanos y pacientes con ARC. CC: Coeficiente de correlación; IC: intervalo de confianza; CV: coeficiente de variación; CC interobservador se refiere a la media de los 3 evaluadores; MC2-4°: metacarpianos segundo a cuarto; SDD: mínima diferencia detectable.

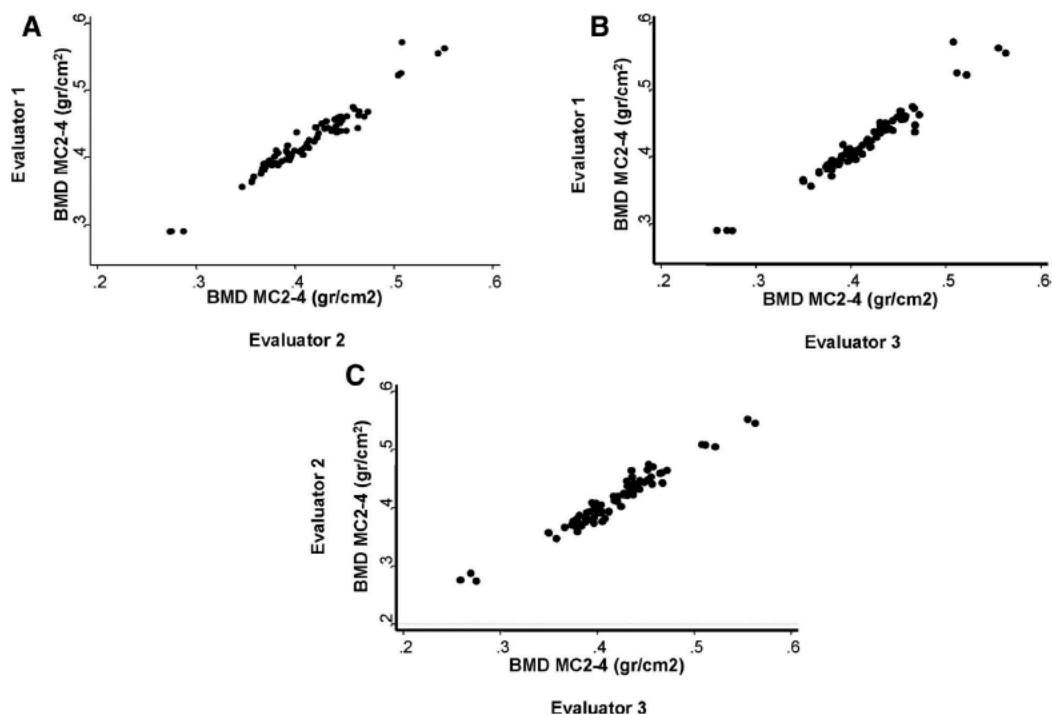


Figura 9. Variabilidad interobservador observada por cada dos evaluadores. (A) Variabilidad interobservador comparando los evaluadores 1 y 2. (B) Variabilidad interobservador comparando los evaluadores 1 y 3. (C) Variabilidad interobservador comparando los evaluadores 2 y 3. BMD (*Bone mineral density*): Densidad mineral ósea; MC: huesos metacarpianos.

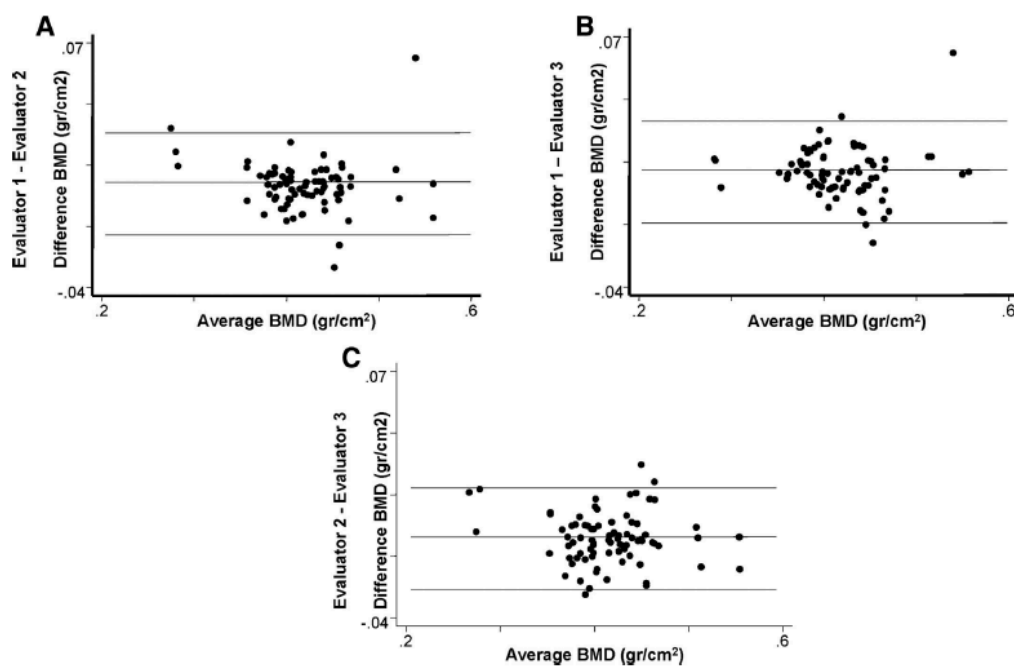


Figura 10. Gráficas de Bland-Altman de las medidas de cada DXA realizada por cada

observador. (A) Variabilidad interobservador comparando evaluador 1 y 2. (B) Variabilidad interobservador comparando evaluador 1 y 3. (C) Variabilidad interobservador comparando evaluador 2 y 3. BMD (*Bone mineral density*): Densidad mineral ósea; MC: huesos metacarpianos.

4.3. CORRELACIÓN DE LA DMO DE DIÁFISIS DE MC EVALUADA MEDIANTE DXR Y DXA (Anexo IV)

4.3.1 Características de la población

Se realizó un estudio prospectivo longitudinal de pacientes con EA. La DXR se realizó en un total de 111 pacientes (87,4% mujeres) y la DXA se implementó en un total de 378 (82% mujeres). La edad media al inicio de la enfermedad fue de 57 años [46 - 65 (p25 - p50)] en el grupo DXR y 54 años [44 - 66 (p25 - p50)] en el grupo DXA. Un 42% de los pacientes en el grupo DXR presentaron ACPA y 41,3% en el grupo DXA. En ambos, el 57% cumplió con los criterios de 2010 de AR al inicio del seguimiento (43% de artropatía indiferenciada). A cada paciente se le realizó una radiografía digital de ambas manos (GE © DX Definium 8000) a los 0, 3, 12 y 24 meses, determinando la DMO de cada mano y la media de ambas medidas mediante DXR (Sectra, Linköping, Suecia). Además, se realizó y analizó DXA de la mano global y articulaciones MCF de la mano no dominante (Hologic QDR -4500 Elite ©) a los 0, 6, 12 y 24 meses.

4.3.2 La medición de DMO mediante DXA muestra una buena correlación con los resultados medidos mediante DXR

Se analizaron un total de 378 mediciones de la DMO basal en las 3 regiones estudiadas, analizando las medidas de DMO a nivel de diáfisis de MC como se realiza mediante DXR, de las articulaciones MCF y la DMO de mano global. Para el estudio de correlación con el resultado de DXR, lógicamente solo se analizaron los casos en los que se disponía de ambas mediciones. Como se aprecia en la Figura 11A la correlación de la DMO de metacarpianos entre ambas técnicas fue excelente. Como era de esperar la correlación fue menor con la masa ósea medida por DXR en la mano contralateral

(Figura 12B).

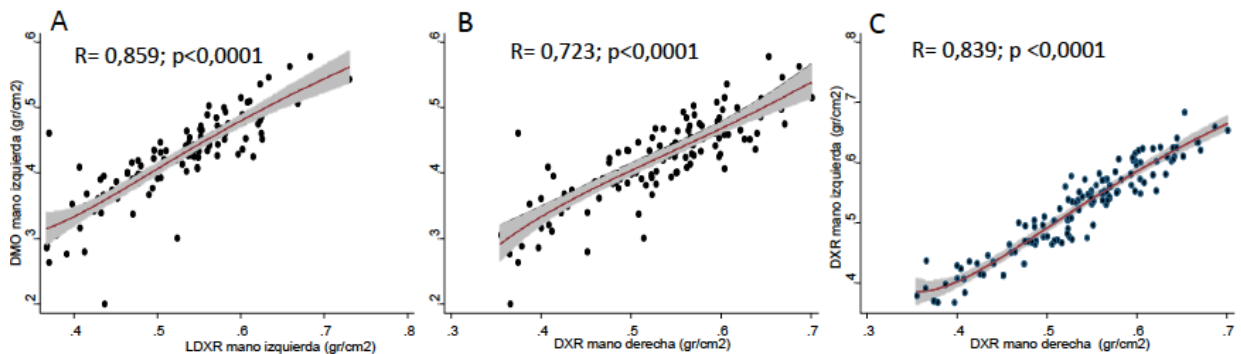


Figura 11. Correlación de la densidad mineral ósea (DMO) de cortical de metacarpianos 2º a 4º evaluada mediante radiogrametría (DXR) y densitometría (DXA). (A) Correlación DMO valorada mediante DXA y DXR de la mano no dominante (izquierda). (B) Correlación DMO estudiada mediante DXA en mano no dominante y DXR de la mano dominante (derecha). (C) Correlación DMO estudiada con DXR entre ambas manos.

4.4 EXAMINAR Y CORRELACIONAR LOS RESULTADOS DE DMO DE MC EVALUADOS MEDIANTE DXA CON PARÁMETROS CLÍNICOS PARA VALORAR MEJOR LAS VARIABLES QUE PUEDEN INCIDIR EN SU UTILIZACIÓN COMO MARCADOR PRONÓSTICO

A continuación se muestran resultados en los que se observa una influencia sobre la DMO de las principales variables que afectan al metabolismo óseo como son la edad, el sexo y el IMC. En la figura 12 (A) podemos observar que los pacientes con menor DMO son mujeres en todos los grupos de edad, siendo más relevante en el grupo mayor de 65 años en el que hay un mayor número de pacientes postmenopáusicas. En la figura 12 (B) podemos observar una menor DMO en el grupo de pacientes con un IMC por debajo de la normalidad, todos estos datos acordes a los datos ya conocidos sobre el metabolismo óseo y la relación con estas variables.

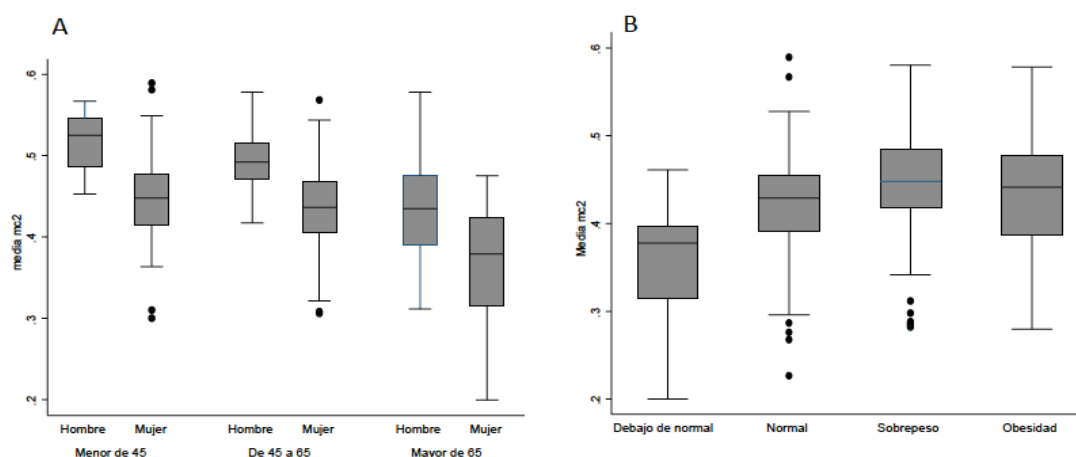


Figura 12. Correlación de la densidad mineral ósea (DMO) diafisaria de metacarpianos (MC) con las principales variables que influyen sobre la DMO. (A) DMO media de MC ajustado por sexo y grupos de edad. (B) DMO media de MC ajustado por índice de masa corporal (IMC).

Media 2-4° MC	Coficiente	D.E	Z	P	(IC 95%)
Sexo-edad inicio					
Hombre < 45					
Hombre 45-65	-0,0271	0,0195	-1,39	0,164	-0,0653;0,0111
Hombre >65	-0,0852	0,0195	-4,36	0,000	-0,1234;-0,0469
Mujer < 45	-0,0637	0,0178	-3,57	0,000	-0,1166;-0,0482
Mujer 45-65	-0,0824	0,0174	-4,73	0,000	-0,1876;-0,1170
Mujer >65	-0,1523	0,0180	-8,45	0,000	
IMC					
Normopeso	0,0445	0,1834	2,43	0,015	0,0086;0,0805
Sobrepeso	0,0743	0,0184	4,03	0,000	0,0382;0,1104
Obesidad	0,0723	0,0190	3,80	0,000	0,0350;0,1096
Nivel actividad HUPI					
Leve	0,2736	0,0104	2,63	0,009	0,0069;0,0477
Moderado	0,0206	0,0097	2,11	0,035	0,0015;0,0396
Alto	0,0205	0,0106	2,02	0,044	0,0005;0,0404

Tabla 6. Análisis multivariable de correlación de la media de la DMO de 2-4° MC con las principales variables que inciden sobre la masa ósea (edad, sexo, IMC), y el nivel de actividad de la enfermedad medido por HUPI.

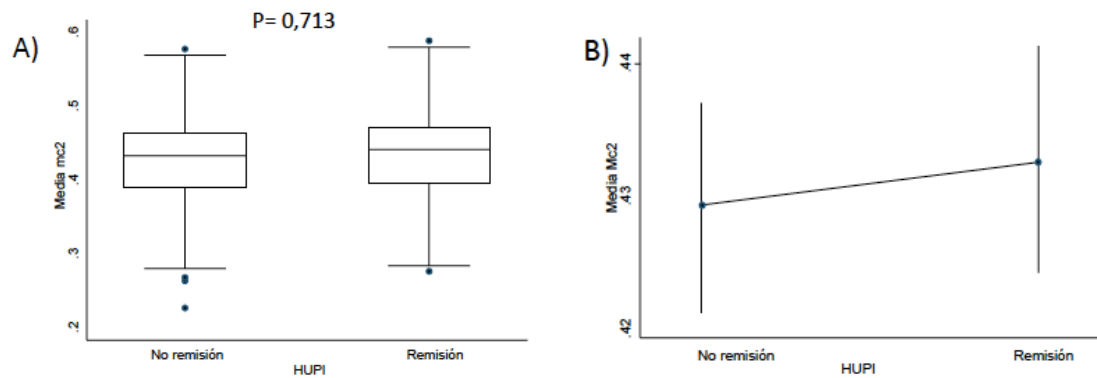


Figura 13. Los pacientes que no consiguen alcanzar la remisión (definido por HUPI < 2,5) a los dos años de seguimiento tienen una menor densidad mineral ósea (DMO) diafisaria de metacarpianos (MC). A) Datos crudos no ajustados. B) DMO de MC ajustada por edad, sexo e IMC usando el comando *margins* de Stata en base al análisis multivariable de la tabla 6. El punto central representa la media estimada y la barra el intervalo de confianza al 95 (IC95%).

Como hemos desarrollado previamente, la actividad de la enfermedad es una variable implicada en el desarrollo de OP, tanto sistémica por la producción de citocinas inflamatorias y su relación con las células óseas aumentando el catabolismo como a nivel local activando los OC en regiones yuxta-articulares promoviendo la aparición de erosiones. En los datos analizados observamos que los pacientes con una mayor actividad clínica presentan una tendencia a presentar una menor DMO en la visita basal. En la figura 13 A y B se muestran estos datos medidos mediante el índice HUPI, objetivándose esta tendencia a presentar una menor DMO basal en aquellos pacientes con mayor actividad de la enfermedad, aunque no alcanza significación estadística.

4.5 VALOR PREDICTIVO DE LA DMO EVALUADA MEDIANTE DXA CON VARIABLES DE DESENLACE EN PACIENTES CON ARC

Estudiando los datos ajustados por las principales variables que influyen sobre la DMO como hemos mostrado anteriormente (edad, sexo e IMC) y una variable generada de tratamiento acumulado en los 2 años de seguimiento se observa que hay una tendencia, aunque no significativa, a mayor actividad media (clasificados como actividad alta o actividad baja) en los que se observa una menor DMO (Figura 14).

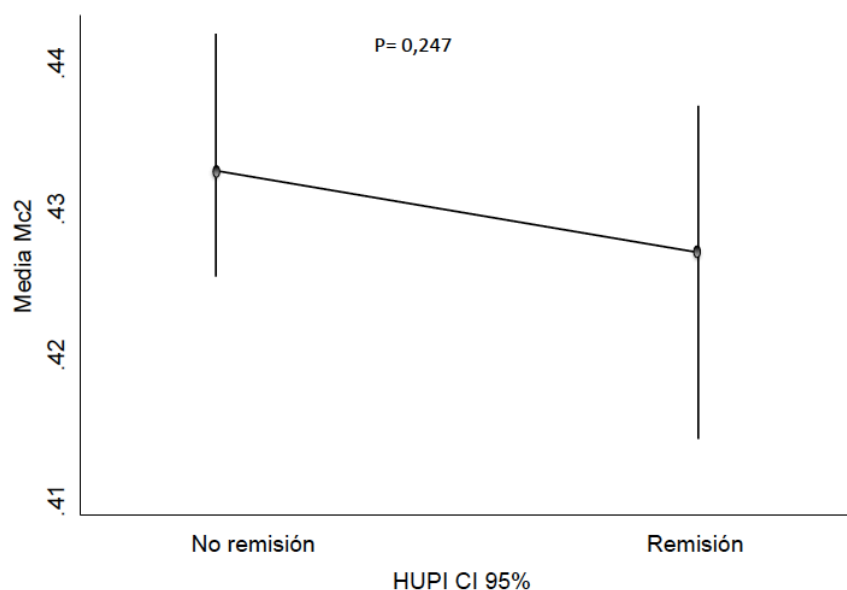


Figura 14. Los pacientes con una actividad media elevada (moderada/alta según HUPI) a lo largo del seguimiento tienen menor DMO diafisaria de MC en la visita basal. Los datos se muestran como media (puntos centrales e intervalo de confianza al 95% (IC95%) (barras) ajustados por edad, sexo e IMC calculados con el comando *margins* de Stata en base al análisis multivariable de la Tabla 7.

Media 2-4° MC	Coefficiente	D.E	Z	P	(IC 95%)
Sexo-edad inicio					
Hombre < 45					
Hombre 45-65	-0,0202	0,0226	-0,89	0,373	-0,0645 ; 0,0241
Hombre >65	-0,0909	0,0230	-3,95	0,000	-0,1359;-0,0458
Mujer < 45	-0,0569	0,0203	-2,81	0,005	-0,0967;-0,0172
Mujer 45-65	-0,0742	0,0198	-3,75	0,000	-0,1130;-0,0354
Mujer >65	-0,1321	0,0205	-6,45	0,000	-0,1722;-0,0919
IMC					
Normopeso	0,0076	0,0302	0,25	0,800	0,0667
Sobrepeso	0,0405	0,0301	1,35	0,177	0,0993
Obesidad	0,0321	0,0305	1,05	0,293	0,0919
Intensidad de tratamiento	0,0472	0,0031	1,50	0,135	-0,0015; 0,011
Nivel alto actividad HUPI	-0,0090	0,0078	-1,16	0,247	-0,0242;0,0062

Tabla 7. Análisis multivariable de correlación de la media de la DMO de 2-4° MC con las principales variables que inciden sobre la masa ósea (edad, sexo, IMC), variable generada de intensidad de tratamiento en los primeros dos años de seguimiento y el nivel de actividad de la enfermedad medido por HUPI.

Como este último objetivo intentaba valorar si la medición de la DMO de MC mediante DXA es una herramienta útil como factor pronóstico en pacientes con ARC, la tendencia no significativa de que la actividad de la enfermedad, nos llevó a estudiar si había correlación con el deterioro estructural. Como se observa en la Figura 15, se detectó una correlación estadísticamente significativa entre la progresión radiográfica a los dos años de seguimiento evaluada mediante el índice de SvDH y la DMO de MC ajustada por edad, sexo e IMC (Tabla 8).

Media 2-4° MC	Coefficiente	D.E	Z	P	(IC 95%)
Progresión radiográfica	-0,0052	0,0017	-3,25	0,001	-0,0083; -0,0020
Sexo-edad inicio					
Hombre < 45					
Hombre 45-65	-0,0198	0,0357	-0,55	0,579	-0,0897; 0,0501
Hombre >65	-0,0706	0,0334	-2,11	0,035	-0,1361; -0,0051
Mujer < 45	-0,0546	0,0318	-1,72	0,086	-0,1169; 0,0077
Mujer 45-65	-0,0555	0,0304	-1,82	0,068	-0,1151; 0,0042
Mujer >65	-0,1282	0,0312	-4,12	0,000	-0,1892; -0,0672
IMC					
Normopeso	0,0005	0,0310	0,02	0,987	-0,0603; 0,0613
Sobrepeso	0,0399	0,0310	1,29	0,198	-0,0208; 0,1007
Obesidad	0,0304	0,0313	0,97	0,331	-0,0309; 0,0917

Tabla 8. Análisis multivariable de correlación de la media de la DMO de 2-4° MC con las principales variables que inciden sobre la masa ósea (edad, sexo, IMC) y la progresión radiográfica a dos años según el índice de SvDH.

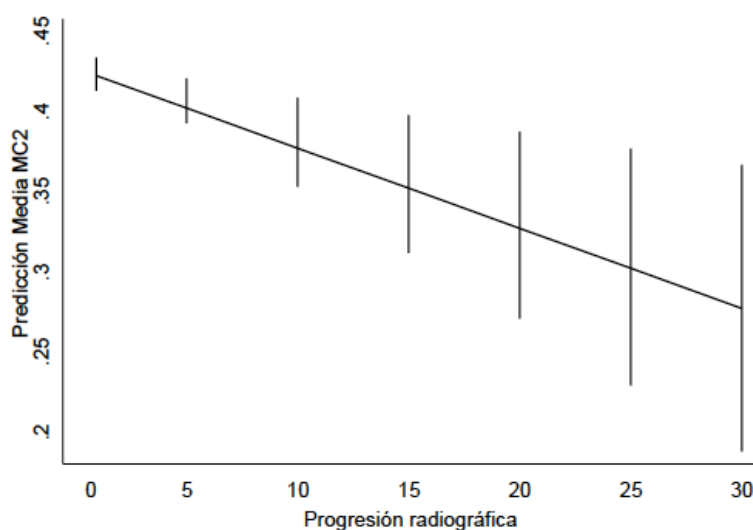


Figura 15. Correlación de la DMO media de MC con la progresión radiográfica

evaluada mediante el índice radiológico SvdH a 2 años, estimación media ajustada por edad, sexo e IMC calculada mediante el comando *margins* de Stata en base al multivariable de la tabla 8.

5. DISCUSIÓN

5.1 RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE ACPA Y LA COMO EJEMPLO DE BIOMARCADOR DE MAL PRONÓSTICO, Y LA DMO EVALUADA MEDIANTE DXA TANTO A NIVEL LOCAL COMO SISTÉMICO.

Los resultados de nuestro estudio demuestran una relación clara entre la presencia de ACPA con una menor densidad mineral ósea en pacientes con ARC. Dado que la mediana de duración de los síntomas hasta que se hizo la DXA fue de unos cinco meses y menos del 25% de los pacientes tomaban glucocorticoides, con una dosis acumulada media menor de 200 mg, es poco probable que la actividad de la enfermedad y los glucocorticoides hayan incidido en las diferencias de DMO que se detectaron entre pacientes ACPA positivos y negativos. Es más las diferencias persistían cuando el análisis se hizo ajustando por edad, sexo, índice de masa corporal, así como duración de la enfermedad y uso de corticoides. Unos resultados similares, aunque en una población mucho menor, han sido publicados por Bugatti y colaboradores en masa ósea de columna lumbar y cadera (64). En ambos estudios se observa desarrollo de OP sistémica, pero lo llamativo de nuestro estudio es que la diferencia de masa ósea entre ACPA positivo y negativo no se detectó en hueso trabecular de las articulaciones MCF, que suponíamos debería estar más afectado por ser estas articulaciones preferentemente afectadas por la AR. Los estudio que nos llevaron al desarrollo de este primer objetivo fueron los realizados por Harre y Krishnamurthy in vitro y en ratones, respectivamente (60) (59) que demostraban que los ACPA anti-vimentina citrulinada estimulaban la osteoclastogenesis ya que los precursores de estas células expresan vimentina citrulinada en su superficie que juega un papel importante en la osteoclastogenesis, pero a su vez puede verse potenciada por la unión de los anticuerpos anti vimentina citrulinada a receptores de fracción Fc de los monocitos estimulándolos. En nuestro estudio, la pérdida de DMO fue más evidente asociada con ACPA que con MCV-ACPA. Este hallazgo puede estar relacionado con problemas técnicos en la detección de los MCV-ACPA en comparación con la de ACPA, lo que podría explicar la discreta discordancia en sus niveles mostrada en la figura 7. Sin embargo, la explicación más probable es que los anticuerpos contra proteínas citrulinadas distintas de la vimentina tengan un efecto similar sobre la diferenciación y activación de los osteoclastos. Este es el caso de los anticuerpos anti-enolasa citrulinada que se han asociado recientemente con activación de los OC y pérdida de masa ósea en ratones (64). Otras especificidades de ACPA, tales como fibrinógeno citrulinado o GRP78, también inducen la activación

de monocitos o macrófagos, lo que lleva en conjunto a la noción de que los ACPA en general y no solo los anti-vimentina citrulinada tendrían un papel patógeno en la OP en pacientes con AR (95).

Por otro lado, aunque esta hipótesis también fue demostrada en una población de individuos sanos con ACPA (63) nuestro grupo, en colaboración con la Dra Regueiro y el Dr González Martínez-Pedrayo (96) ha demostrado recientemente que los anticuerpos anti-proteínas carbamiladas (aCarP) también se asocian con menor masa ósea a nivel sistémico, pero no a nivel local. Este hallazgo es independiente de la presencia de ACPA y, actualmente, se desconoce cuál es el mecanismo por el que los aCarP se asocian a menor masa ósea sistémica, ya que no se ha descrito la presencia de proteínas carbamiladas en la superficie de los precursores de osteoclastos. Es posible que los aCarP tengan reacción cruzada con los epítomos de vimentina, enolasa, fibrinógeno, etc citrulinados, aunque en la actualidad no se conocen con exactitud que proteínas carbamiladas son las específicas de AR. Afortunadamente, ya existen dos antígenos naturales, la albúmina y la alfa-1 antitripsina, que cuentan con algún apoyo experimental como objetivos anti-CarPA (97)(98).

La otra opción es que independientemente del efecto directo sobre osteoclastos, los ACPA y aCarP se asocien con un mayor grado de liberación de citoquinas relacionadas con la activación de osteoclastos durante los años de enfermedad reumatoide preclínica. En este sentido, la mayor prevalencia de osteoporosis en pacientes con AR que en la población general sana se había achacado principalmente al uso prolongado de GC y la actividad inflamatoria persistente de la enfermedad (99). Sin embargo, los datos analizados en un estudio previo realizado de nuestro grupo de trabajo sugirieron que los GC pueden incluso tener un efecto beneficioso sobre la DMO cuando se utilizan durante períodos cortos para resolver la inflamación en las primeras etapas de la enfermedad (24). En ese trabajo de Ibañez y cols. analizaron el efecto de la actividad de la enfermedad y los GC en la variación de la DMO en pacientes con AR después de 2 años de seguimiento. La actividad acumulada de la enfermedad se asoció significativamente con la pérdida de DMO en la CL y mostró una tendencia en el mismo sentido en la cadera y el antebrazo ultradistal, pero no se observó asociación en el tercio distal del antebrazo, constituido principalmente por hueso cortical. Por el contrario, la dosis acumulada de GC a los 2 años no se asoció con ningún efecto significativo sobre la masa ósea en la cadera, la columna lumbar o la mano.

En resumen, no queda claro si la presencia de ACPA y aCarP conducen a diferencias en la masa ósea sistémica a través de la activación directa de los OC o como consecuencia de una reacción inflamatoria larvada durante las fases subclínicas de la enfermedad reumatoide. Tampoco hay evidencias sólidas de si este efecto osteopenizante es más intenso en el hueso cortical (100) o trabecular (64). Nuestros datos sugieren que no hay un efecto relevante en las articulaciones MCF en las que el hueso es predominantemente trabecular y debería verse de forma más clara la acción de la inflamación local, mientras que las diferencias son más claras en localizaciones como la lumbar y cadera donde hay una combinación de hueso trabecular y cortical. Por todo ello, decidimos abandonar la medición de masa ósea en articulaciones MCF como un posible biomarcador pronóstico para artritis de reciente comienzo.

5.2/5.3 MEDICIÓN DE LA DMO DE MC MEDIANTE DXA Y VALIDACIÓN DE LA REPRODUCIBILIDAD DE LA MEDICIÓN DE LA DMO MEDIANTE ESTA TÉCNICA. EVALUACIÓN DE LA DMO CORTICAL EN MC MEDIANTE DXR Y DXA Y ESTUDIAR LA CORRELACIÓN DE MEDIDAS POR AMBAS TÉCNICAS.

En base a los resultados previos y teniendo en cuenta que la medición de la masa ósea de metacarpianos mediante DXR ha demostrado ser un buen marcador pronóstico que permite predecir desenlaces sólidos a largo plazo en la AR, como son la progresión radiográfica y mortalidad (101) decidimos abandonar el estudio de la DXA de metacarpofalángicas e intentar reproducir la medición de DMO diafisaria de MC con DXR utilizando las DXA de mano que se habían venido realizando en el estudio PEARL. El principal motivo para desarrollar esta técnica es que la radiogrametría no es una determinación disponible de forma generalizada y, además, resulta muy costosa. Por el contrario, la DXA es una técnica ampliamente validada para el diagnóstico de osteoporosis, de bajo coste y accesible en la mayoría de unidades de reumatología públicas o privadas en países desarrollados. También es una técnica simple, que utiliza una dosis de radiación muy baja y, por ello, permite repeticiones frecuentes si son necesarias. En consecuencia, desarrollamos una estrategia “artesanal” utilizando el software del densitómetro Hologic 4500 que permite diseñar regiones de interés (ROI) a medida para reproducir las mediciones de las diáfisis de los metacarpianos 2º a 4º

descritas en radiogrametría (102). Dado que el procedimiento es sencillo, como se ha descrito en Métodos (Anexo II), pero no es un proceso estandarizado, el primer paso fue determinar si estas mediciones eran homogéneas con distintos evaluadores. Como nuestro grupo demostró previamente para la reproducibilidad de mediciones de DMO en articulaciones MCF de pacientes con ARC y voluntarios sanos (102), las mediciones de DMO diafisaria de los tres huesos MC medios de la mano por DXA también son reproducibles tanto en pacientes con artritis como en voluntarios sanos. Todo ello a pesar de que los ROI los diseñamos los investigadores locales, las mediciones mostraron buenos coeficientes de correlación en la variabilidad intra e interobservador que además no se veían alterados por los niveles de masa ósea ni por el diagnóstico del individuo estudiado. Esto último era importante, ya que los pacientes con artritis en las manos podían tener dificultades para la colocación de la misma en el densitómetro, aunque el hecho de que fueran artritis de inicio minimizó la existencia de deformidades importantes, aunque no así el dolor y la limitación funcional. En nuestra experiencia, no es frecuente que la realización de esta medición sea molesta para los pacientes. Una vez establecida la fiabilidad y reproducibilidad interobservador de la medición, el siguiente paso fue determinar si proporcionaba una medición equivalente a la obtenida con DXR. Los resultados obtenidos muestran muy buena correlación entre los resultados de DMO evaluados mediante DXR como los analizados por DXA.

En conclusión, en este proyecto hemos desarrollado una nueva forma de analizar el hueso cortical en la diáfisis de los huesos MC de la mano no dominante utilizando DXA convencional. Esta técnica, a pesar de ser “artesanal” tiene una alta reproducibilidad y reproduce con alta precisión los valores que proporciona la DXR, abriendo la posibilidad de utilizar la evaluación del hueso cortical como un marcador predictivo de progresión en artritis de reciente aparición.

5.4 ANALIZAR LOS RESULTADOS DE LA DMO DE MC EVALUADOS MEDIANTE DXA CON PARÁMETROS CLÍNICOS PARA VALORAR MEJOR LAS VARIABLES QUE PUEDEN INCIDIR EN SU UTILIZACIÓN COMO MARCADOR PRONÓSTICO.

Aunque por los datos discutidos previamente, la medición de la DMO diafisaria de MC por DXA podría ayudar a identificar de manera precoz aquellos pacientes con factores

de mal pronóstico al igual que se ha demostrado con la DXR (95)(101) un paso previo a que esta determinación pueda generalizarse en todos los centros que dispongan de densitometría ósea de doble fotón, es conocer que factores generales inciden en la masa ósea de la diáfisis de los metacarpianos de mano no dominante. En este sentido, los resultados obtenidos en nuestro registro de pacientes con ARC demuestran, como era esperable, que los principales factores que influyen sobre la DMO son el género femenino, la edad y el IMC. En lo que respecta a los dos primeros es evidente que las mujeres tienen menor masa ósea que los hombres, pero en lo que respecta a la mano solo es muy marcada a partir de los 65 años, muy probablemente como consecuencia de los años tras la menopausia. En hombres, también los mayores de 65 años mostraron una masa ósea menor respecto a varones menores de 45 años, aunque la diferencia no fue tan marcada. Respecto al IMC, el efecto era el esperado, aunque lo más llamativo fue la presencia de una DMO diafisaria de MC especialmente más baja en casos de bajo peso, aunque es cierto que esta población era muy limitada en número.

Otro aspecto por el que había cierta preocupación era la posible incidencia de la sobrecarga laboral en la masa ósea de los MC. Estos datos no se mostraron, ya que no observamos que la clasificación por actividad laboral según la clasificación nacional de ocupaciones de 1994, influyese en la masa ósea de los MC. Es probable que esto sea debido a una población bastante envejecida en el estudio PEARL con un gran número de pacientes jubilados o amas de casa, que se excluyeron del análisis al no poderles asignarles grupo clasificador. Otra posibilidad es que al hacerlo en la mano no dominante el efecto de la actividad laboral no tenga ninguna o escasa repercusión.

En cualquier caso, para el futuro y con vistas a su generalización en otros centros, será necesario establecer formas de normalizar la masa ósea de MC de forma similar a como se ha realizado con las definiciones de osteopenia y osteoporosis según el índice T.

5.5 EVALUACIÓN DE LA UTILIDAD DE LA MEDICIÓN DE DMO BASAL EN MC 2º-4º MEDIANTE DXA EN PACIENTES CON ARC COMO MARCADOR PRONÓSTICO EN BASE A VARIABLES CLÍNICAS DE ACTIVIDAD Y REMISIÓN, ASÍ COMO PROGRESIÓN RADIOGRÁFICA DE LA ENFERMEDAD Y SU CORRELACIÓN A LOS 2 AÑOS DE SEGUIMIENTO.

En lo que respecta a como evaluar la gravedad de los paciente con ARC, nuestro estudio tiene un hándicap muy importante respecto a los estudios que demostraron la utilidad pronóstica de la radiogrametía. En este último caso, las herramientas terapéuticas eran menos efectivas y el porcentaje de pacientes que alcanzaban remisión y se evitaba progresión radiográfica era menor de lo que hemos observado en el estudio PEARL. De hecho, en nuestro registro, desde 2005 la progresión radiográfica es prácticamente insignificante y el número de pacientes en remisión a los dos años de seguimiento alcanzaba el 40% (5). Estas cifras contrastan con lo que ocurría en España a finales del siglo XX, con una prevalencia de remisión del 4% y una mediana del índice de Larsen de 50 (103).

Con estos antecedentes y teniendo en cuenta que un 15% de los pacientes de PEARL inician terapia biológica en los 2 primeros años del seguimiento, la tendencia no significativa a una menor DMO diafisaria de MC en la visita basal de los pacientes con mayor actividad de la enfermedad a lo largo de seguimiento es a tener en consideración. Sobre todo porque se acompaña de la misma tendencia en los pacientes que no alcanzaron la remisión en la última visita de seguimiento (2 años), independientemente de la forma por la que se definió la remisión (SDAI, HUPI o DAS28).

Por otra parte, intentamos utilizar como variable subrogada de gravedad la intensidad de tratamiento inmunomodulador acumulada durante los dos primeros años de seguimiento (datos no publicados ni mostrados), pero en este caso la variable que mejor determinaba la variabilidad en el uso del tratamiento inmunomodulador era el médico responsable del paciente, por lo que el tratamiento acumulado no nos permitía discriminar la utilidad pronóstica de la medición de DMO en MC.

Finalmente optamos por analizar la progresión de la subescala de erosiones del índice de SvdH en una subpoblación del inicio del estudio PEARL donde habíamos detectado mayor progresión radiográfica (5). Nuestros resultados indican que los pacientes con menor DMO de MC tienen una mayor progresión en el subíndice de erosiones del índice SvdH a los 2 años de seguimiento y esta asociación era muy significativa cuando se ajustaba por sexo, edad, IMC, intensidad de tratamiento y actividad de la enfermedad. Estos hallazgos son concordantes con los publicados previamente en los estudios realizados con DXR (95)(101).

Las posibles explicaciones de esta asociación es que los pacientes con baja DMO de MC, efectivamente, tengan una mayor actividad de la enfermedad a lo largo del

seguimiento y, por tanto, una mayor destrucción articular. La otra opción es que los pacientes con menor DMO diafisaria de MC tengan una mayor facilidad para hacer erosiones precisamente porque tienen baja densidad mineral ósea, aunque esta opción se ve desvirtuada por la ausencia de asociación con ACPA de la masa ósea de articulaciones MCP, que constituyen una parte importante del valor del índice SvdH. En cualquier caso nuestros hallazgos son especialmente interesantes, ya que las principales estrategias de manejo de la enfermedad reumatoide nos remarcaban la necesidad de control estricto de la enfermedad (7) (8), el inicio de un tratamiento precoz y la identificación de aquellos pacientes con factores y biomarcadores de mal pronóstico, por lo que tener una herramienta que detecte de manera precoz aquellos pacientes que puedan tener una evolución radiológica peor es importante para su seguimiento y tratamiento. Estos datos pueden ser útiles y relevantes ya que podrían identificar pacientes con mayor riesgo de progresión radiográfica y que no presenten otros factores de mal pronóstico que hagan que no reciban un seguimiento o tratamiento intensivo acorde a su riesgo individual.

5.6 FORTALEZAS Y LIMITACIONES

Nuestro estudio tiene algunas limitaciones. Para el estudio de los ACPA se han utilizado dos técnicas diferentes a lo largo del seguimiento del registro PEARL. Pensamos que considerar los ACPA de forma dicotómica, como positivos o negativos, o el método semicuantitativo utilizado para la normalización de sus títulos ha minimizado el impacto de esta limitación. Además, el método utilizado durante los últimos años ha sido capaz de detectar ACPA IgA e IgG, mientras que en la primera evaluación, el método solo detectaba IgG. No sabemos cómo podría afectar este problema a nuestros resultados. Sin embargo, la activación de los osteoclastos inducida por los ACPA se ha descrito que es inducida no solo por los ACPA completos, sino también por Fab ACPA, lo que sugiere que este fenómeno es independiente del fragmento Fc. Por tanto, es probable que el uso de dos métodos diferentes para determinar ACPA en nuestro estudio tuviera solo un pequeño impacto. La heterogeneidad de la población incluida podría ser considerada también un inconveniente de nuestro estudio. Sin embargo, hallazgos similares se observaron cuando realizamos un análisis de sensibilidad por separado, en pacientes que cumplen o no los criterios de AR de 2010.

Por el contrario, consideramos que el uso de una población tan heterogéneo refuerza el efecto de los ACPA sobre la DMO, ya que esta variable resulta significativa independientemente del diagnóstico clínico. Finalmente, carecemos de datos sobre la edad de la menopausia, una variable de gran importancia para la densidad mineral ósea, en el 2,3% de los pacientes incluido en el estudio. No hubo diferencias significativas en el porcentaje de pacientes con menopausia y aquellas sin información disponible sobre el estado de la menopausia entre pacientes ACPA positivos o ACPA negativos, por lo que consideramos que este problema no afecta significativamente nuestros hallazgos de asociación entre masa ósea baja y positividad para dichos autoanticuerpos. No obstante, se necesitan más estudios para determinar su relevancia clínica, ya que, aunque el efecto de los ACPA sobre la DMO fue significativo, el impacto clínico a largo plazo es desconocido.

Actualmente se desconoce el impacto real de estos hallazgos. Queda pendiente de estudiar si existen diferencias en la prevalencia de fracturas osteoporóticas entre ACPA positivos y negativos. Para ello, se necesitarían más pacientes para determinar el impacto real de estos hallazgos.

Nuestro estudio tiene varias limitaciones. El número de sujetos incluido es pequeño, aunque suficiente tal como se recomienda por consenso internacional para este tipo de estudios (21)(30). Asimismo, la mayoría de los casos incluidos fueron mujeres con menor DMO que los hombres e incluso menor después de la menopausia. Además, es probable que la alta precisión obtenida en este estudio podría deberse a la formación intensiva de los diferentes evaluadores que participaron, y los resultados podrían ser menos reproducibles en otros escenarios clínicos con evaluadores menos entrenados. No obstante, esto puede mejorarse fácilmente con un entrenamiento mínimo de pocas horas supervisada por un técnico experto en DXA. Como punto final, lamentablemente el tamaño de la muestra de nuestro estudio no permite llegar a ninguna conclusión fiable entre las mediciones de DMO y los parámetros clínicos como edad, sexo o diagnóstico de enfermedad.

Sin embargo, confirmar la reproducibilidad es el primer paso a profundizar en el valor clínico de esta técnica. En esta línea, tenemos en curso otro estudio mucho más amplio para determinar la relevancia clínica de nuestros hallazgos. De hecho, en el presente estamos analizando la correlación entre la masa ósea evaluada en el hueso cortical de los huesos MC como se ha mencionado previamente y también por DXR, y el daño radiológico observado por Rx convencional de la mano a los 2 años de seguimiento.

Además, esta técnica debería de validarse por otros grupos y en otras poblaciones diferentes a la nuestra.

Finalmente, queremos enfatizar que la escasa duración de la enfermedad en los pacientes de nuestro estudio (mediana de 5,1 meses) es menor que la observada en otros hospitales de nuestro entorno, lo que representa el resultado de un trabajo coordinado y continuo de muchos años de colaboración con los médicos generales de nuestro área de influencia, aunque estos datos no deben cambiar la reproducibilidad de los resultados obtenidos en este proyecto de tesis.

6. CONCLUSIONES

1. Los pacientes ACPA positivos mostraron menor DMO tanto en columna lumbar (CL) como en cadera total (CT) y cuello femoral (CF) sin observarse diferencias significativas para las articulaciones MCF.
2. Los títulos de MCV-ACPA se correlacionaron con los niveles de ACPA y su positividad mostró una tendencia similar hacia una DMO más baja en las mismas localizaciones que los ACPA.
3. La DXA es una técnica reproducible para la evaluación de la DMO de la diáfisis MC con excelentes coeficientes de correlación intraobservador así como variabilidad interobservador.
4. Se observó una buena correlación de la DMO de MC evaluada mediante DXA y DXR.
5. Los pacientes actividad persistente, no remisión en 2 años y/o alta actividad promedio muestran una tendencia a tener una menor DMO en la visita basal.
6. La progresión radiográfica a los dos años de seguimiento evaluada mediante el índice de SvdH es mayor en pacientes con baja DMO diafisaria de MC basal.
7. En conjunto, podría concluirse que una menor DMO basal en la diáfisis de los MC centrales valorada mediante DXA es un factor de mal pronóstico de curso evolutivo en pacientes con ARC.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. McInnes IB, Schett G. Pathogenetic insights from the treatment of rheumatoid arthritis. *The Lancet*. junio de 2017;389(10086):2328-37.
2. Seoane-Mato D, Sánchez-Piedra C, Silva-Fernández L, Sivera F, Blanco FJ, Pérez Ruiz F, et al. Prevalencia de enfermedades reumáticas en población adulta en España (estudio EPISER 2016). *Objetivos y metodología*. *Reumatol Clínica*. marzo de 2019;15(2):90-6.
3. Lajas C, Abasolo L, Bellajdel B, Hernández-García C, Carmona L, Vargas E, et al. Costs and predictors of costs in rheumatoid arthritis: a prevalence-based study. *Arthritis Rheum*. 15 de febrero de 2003;49(1):64-70.
4. Leon L, Abasolo L, Fernandez-Gutierrez B, Jover JA, Hernandez-Garcia C. Direct medical costs and their predictors in the EMAR-II cohort: «Variability in the management of rheumatoid arthritis and spondyloarthritis in Spain». *Reumatol Clin*. febrero de 2018;14(1):4-8.
5. Toledano E, Ortiz AM, Ivorra-Cortes J, Montes N, Beltran A, Rodríguez-Rodríguez L, et al. Are rheumatologists adhering to the concepts window of opportunity and treat-to-target? Earlier and more intense disease-modifying anti-rheumatic drug treatment over time in patients with early arthritis in the PEARL study. *Clin Exp Rheumatol*. junio de 2018;36(3):382-8.
6. van Nies J a. B, Tsonaka R, Gaujoux-Viala C, Fautrel B, van der Helm-van Mil AHM. Evaluating relationships between symptom duration and persistence of rheumatoid arthritis: does a window of opportunity exist? Results on the Leiden early arthritis clinic and ESPOIR cohorts. *Ann Rheum Dis*. mayo de 2015;74(5):806-12.
7. Smolen JS, Aletaha D, Bijlsma JWJ, Breedveld FC, Boumpas D, Burmester G, et al. Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of an international task force. *Ann Rheum Dis*. abril de 2010;69(4):631-7.
8. Smolen JS, Landewé RBM, Bijlsma JWJ, Burmester GR, Dougados M, Kerschbaumer A, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2019 update. *Ann Rheum Dis*. junio de 2020;79(6):685-99.
9. Wade SW, Strader C, Fitzpatrick LA, Anthony MS, O'Malley CD. Estimating prevalence of osteoporosis: examples from industrialized countries. *Arch Osteoporos*. 2014;9:182.
10. Kanis JA, Cooper C, Rizzoli R, Reginster J-Y, Scientific Advisory Board of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis (ESCEO) and the

Committees of Scientific Advisors and National Societies of the International Osteoporosis Foundation (IOF). European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA*. enero de 2019;30(1):3-44.

11. 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*. marzo de 2000;43(3):522-30.

12. Hauser B, Riches PL, Wilson JF, Horne AE, Ralston SH. Prevalence and clinical prediction of osteoporosis in a contemporary cohort of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Oxf Engl*. octubre de 2014;53(10):1759-66.

13. Jin S, Hsieh E, Peng L, Yu C, Wang Y, Wu C, et al. Incidence of fractures among patients with rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA*. junio de 2018;29(6):1263-75.

14. Tong J-J, Xu S-Q, Zong H-X, Pan M-J, Teng Y-Z, Xu J-H. Prevalence and risk factors associated with vertebral osteoporotic fractures in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. febrero de 2020;39(2):357-64.

15. Adami G, Saag KG. Osteoporosis Pathophysiology, Epidemiology, and Screening in Rheumatoid Arthritis. *Curr Rheumatol Rep*. 23 de mayo de 2019;21(7):34.

16. Haugeberg G, Green MJ, Quinn MA, Marzo-Ortega H, Proudman S, Karim Z, et al. Hand bone loss in early undifferentiated arthritis: evaluating bone mineral density loss before the development of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. junio de 2006;65(6):736-40.

17. Gong X, Xu S-Q, Tong H, Wang X-R, Zong H-X, Pan M-J, et al. Correlation between systemic osteoporosis and local bone erosion with rheumatoid arthritis patients in Chinese population. *Rheumatol Oxf Engl*. 7 de marzo de 2019;

18. Jin S, Hsieh E, Peng L, Yu C, Wang Y, Wu C, et al. Incidence of fractures among patients with rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA*. junio de 2018;29(6):1263-75.

19. Lindner L, Callhoff J, Alten R, Krause A, Ochs W, Zink A, et al. Osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis: trends in the German National Database 2007-2017. *Rheumatol Int*. diciembre de 2020;40(12):2005-12.

20. Cheng T-T, Yu S-F, Su F-M, Chen Y-C, Su BY-J, Chiu W-C, et al. Anti-CCP-positive patients with RA have a higher 10-year probability of fracture evaluated by FRAX®: a registry study of RA with osteoporosis/fracture. *Arthritis Res Ther.* 30 de enero de 2018;20(1):16.
21. Aeberli D, Schett G. Cortical remodeling during menopause, rheumatoid arthritis, glucocorticoid and bisphosphonate therapy. *Arthritis Res Ther.* 21 de marzo de 2013;15(2):208.
22. García-Magallón B, Silva-Fernández L, Andreu-Sánchez JL. Update on the use of steroids in rheumatoid arthritis. *Reumatol Clin.* octubre de 2013;9(5):297-302.
23. Fenton CG, Webster JM, Martin CS, Fareed S, Wehmeyer C, Mackie H, et al. Therapeutic glucocorticoids prevent bone loss but drive muscle wasting when administered in chronic polyarthritis. *Arthritis Res Ther.* 1 de agosto de 2019;21(1):182.
24. Ibañez M, Ortiz AM, Castrejón I, García-Vadillo JA, Carvajal I, Castañeda S, et al. A rational use of glucocorticoids in patients with early arthritis has a minimal impact on bone mass. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(2):R50.
25. Arboleya L, Castañeda S. Osteoimmunology: the study of the relationship between the immune system and bone tissue. *Reumatol Clin.* octubre de 2013;9(5):303-15.
26. Takayanagi H. Osteoimmunology - Bidirectional dialogue and inevitable union of the fields of bone and immunity. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 2020;96(4):159-69.
27. Arron JR, Choi Y. Bone versus immune system. *Nature.* 30 de noviembre de 2000;408(6812):535-6.
28. Komatsu N, Takayanagi H. Immune-bone interplay in the structural damage in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol.* octubre de 2018;194(1):1-8.
29. Fang Q, Zhou C, Nandakumar KS. Molecular and Cellular Pathways Contributing to Joint Damage in Rheumatoid Arthritis. *Mediators Inflamm.* 2020;2020:3830212.
30. Gravallesse EM, Harada Y, Wang JT, Gorn AH, Thornhill TS, Goldring SR. Identification of cell types responsible for bone resorption in rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis. *Am J Pathol.* abril de 1998;152(4):943-51.
31. Tanaka S, Takahashi N, Udagawa N, Tamura T, Akatsu T, Stanley ER, et al. Macrophage colony-stimulating factor is indispensable for both proliferation and differentiation of osteoclast progenitors. *J Clin Invest.* enero de 1993;91(1):257-63.

32. Guder C, Gravius S, Burger C, Wirtz DC, Schildberg FA. Osteoimmunology: A Current Update of the Interplay Between Bone and the Immune System. *Front Immunol.* 2020;11:58.
33. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Lüthy R, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell.* 18 de abril de 1997;89(2):309-19.
34. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell.* 17 de abril de 1998;93(2):165-76.
35. Gravallesse EM, Manning C, Tsay A, Naito A, Pan C, Amento E, et al. Synovial tissue in rheumatoid arthritis is a source of osteoclast differentiation factor. *Arthritis Rheum.* febrero de 2000;43(2):250-8.
36. Kotake S, Udagawa N, Hakoda M, Mogi M, Yano K, Tsuda E, et al. Activated human T cells directly induce osteoclastogenesis from human monocytes: possible role of T cells in bone destruction in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum.* mayo de 2001;44(5):1003-12.
37. Takayanagi H, Iizuka H, Juji T, Nakagawa T, Yamamoto A, Miyazaki T, et al. Involvement of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand/osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis from synoviocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* febrero de 2000;43(2):259-69.
38. Srivastava RK, Dar HY, Mishra PK. Immunoporosis: Immunology of Osteoporosis-Role of T Cells. *Front Immunol.* 2018;9:657.
39. Zaiss MM, Frey B, Hess A, Zwerina J, Luther J, Nimmerjahn F, et al. Regulatory T cells protect from local and systemic bone destruction in arthritis. *J Immunol Baltim Md 1950.* 15 de junio de 2010;184(12):7238-46.
40. Sato K, Suematsu A, Okamoto K, Yamaguchi A, Morishita Y, Kadono Y, et al. Th17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. *J Exp Med.* 27 de noviembre de 2006;203(12):2673-82.
41. Raphael I, Nalawade S, Eagar TN, Forsthuber TG. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases. *Cytokine.* julio de 2015;74(1):5-17.
42. Meednu N, Zhang H, Owen T, Sun W, Wang V, Cistrone C, et al. Production of RANKL by Memory B Cells: A Link Between B Cells and Bone Erosion in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ.* abril de 2016;68(4):805-16.

43. Osta B, Benedetti G, Miossec P. Classical and Paradoxical Effects of TNF- α on Bone Homeostasis. *Front Immunol.* 2014;5:48.
44. Gilbert L, He X, Farmer P, Boden S, Kozlowski M, Rubin J, et al. Inhibition of osteoblast differentiation by tumor necrosis factor-alpha. *Endocrinology.* noviembre de 2000;141(11):3956-64.
45. Yu R, Zeng B, Liu Y, Zhou Y. [Recombinant human tumor necrosis factor-alpha promotes human adipose-derived stromal cells transforming into osteoblast in vitro]. *Beijing Da Xue Xue Bao.* 18 de junio de 2012;44(3):475-80.
46. Houssiau FA, Devogelaer JP, Van Damme J, de Deuxchaisnes CN, Van Snick J. Interleukin-6 in synovial fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides. *Arthritis Rheum.* junio de 1988;31(6):784-8.
47. Abdel Meguid MH, Hamad YH, Swilam RS, Barakat MS. Relation of interleukin-6 in rheumatoid arthritis patients to systemic bone loss and structural bone damage. *Rheumatol Int.* marzo de 2013;33(3):697-703.
48. Hashizume M, Hayakawa N, Mihara M. IL-6 trans-signalling directly induces RANKL on fibroblast-like synovial cells and is involved in RANKL induction by TNF-alpha and IL-17. *Rheumatol Oxf Engl.* noviembre de 2008;47(11):1635-40.
49. Taguchi Y, Yamamoto M, Yamate T, Lin SC, Mocharla H, DeTogni P, et al. Interleukin-6-type cytokines stimulate mesenchymal progenitor differentiation toward the osteoblastic lineage. *Proc Assoc Am Physicians.* diciembre de 1998;110(6):559-74.
50. Malaval L, Liu F, Vernallis AB, Aubin JE. GP130/OSMR is the only LIF/IL-6 family receptor complex to promote osteoblast differentiation of calvaria progenitors. *J Cell Physiol.* agosto de 2005;204(2):585-93.
51. Skoumal M, Haberhauer G, Kolarz G, Hawa G, Woloszczuk W, Klingler A. Serum cathepsin K levels of patients with longstanding rheumatoid arthritis: correlation with radiological destruction. *Arthritis Res Ther.* 2005;7(1):R65-70.
52. Hao L, Zhu G, Lu Y, Wang M, Jules J, Zhou X, et al. Deficiency of cathepsin K prevents inflammation and bone erosion in rheumatoid arthritis and periodontitis and reveals its shared osteoimmune role. *FEBS Lett.* 22 de mayo de 2015;589(12):1331-9.
53. Bafico A, Liu G, Yaniv A, Gazit A, Aaronson SA. Novel mechanism of Wnt signalling inhibition mediated by Dickkopf-1 interaction with LRP6/Arrow. *Nat Cell Biol.* julio de 2001;3(7):683-6.
54. Miao C, Yang Y, He X, Li X, Huang C, Huang Y, et al. Wnt signaling pathway in rheumatoid arthritis, with special emphasis on the different roles in synovial

inflammation and bone remodeling. *Cell Signal*. octubre de 2013;25(10):2069-78.

55. Garnero P, Tabassi NC-B, Voorzanger-Rousselot N. Circulating dickkopf-1 and radiological progression in patients with early rheumatoid arthritis treated with etanercept. *J Rheumatol*. diciembre de 2008;35(12):2313-5.

56. van der Heijde DM. Radiographic imaging: the «gold standard» for assessment of disease progression in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Oxf Engl*. junio de 2000;39 Suppl 1:9-16.

57. Rossini M, Bagnato G, Frediani B, Iagnocco A, LA Montagna G, Minisola G, et al. Relationship of focal erosions, bone mineral density, and parathyroid hormone in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. junio de 2011;38(6):997-1002.

58. Kokkonen H, Mullazehi M, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Rönnelid J, et al. Antibodies of IgG, IgA and IgM isotypes against cyclic citrullinated peptide precede the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 3 de febrero de 2011;13(1):R13.

59. Harre U, Georgess D, Bang H, Bozec A, Axmann R, Ossipova E, et al. Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin. *J Clin Invest*. mayo de 2012;122(5):1791-802.

60. Krishnamurthy A, Joshua V, Haj Hensvold A, Jin T, Sun M, Vivar N, et al. Identification of a novel chemokine-dependent molecular mechanism underlying rheumatoid arthritis-associated autoantibody-mediated bone loss. *Ann Rheum Dis*. abril de 2016;75(4):721-9.

61. Steffen U, Schett G, Bozec A. How Autoantibodies Regulate Osteoclast Induced Bone Loss in Rheumatoid Arthritis. *Front Immunol*. 2019;10:1483.

62. Malmström V, Catrina AI, Klareskog L. The immunopathogenesis of seropositive rheumatoid arthritis: from triggering to targeting. *Nat Rev Immunol*. enero de 2017;17(1):60-75.

63. Kleyer A, Finzel S, Rech J, Manger B, Krieter M, Faustini F, et al. Bone loss before the clinical onset of rheumatoid arthritis in subjects with anticitrullinated protein antibodies. *Ann Rheum Dis*. mayo de 2014;73(5):854-60.

64. Bugatti S, Bogliolo L, Vitolo B, Manzo A, Montecucco C, Caporali R. Anti-citrullinated protein antibodies and high levels of rheumatoid factor are associated with systemic bone loss in patients with early untreated rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 6 de octubre de 2016;18(1):226.

65. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, et al.

2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* septiembre de 2010;62(9):2569-81.

66. Shi J, Knevel R, Suwannalai P, van der Linden MP, Janssen GMC, van Veelen PA, et al. Autoantibodies recognizing carbamylated proteins are present in sera of patients with rheumatoid arthritis and predict joint damage. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 18 de octubre de 2011;108(42):17372-7.

67. Lange U, Teichmann J, Müller-Ladner U, Strunk J. Increase in bone mineral density of patients with rheumatoid arthritis treated with anti-TNF-alpha antibody: a prospective open-label pilot study. *Rheumatol Oxf Engl.* diciembre de 2005;44(12):1546-8.

68. Orsolini G, Fassio A, Rossini M, Adami G, Giollo A, Caimmi C, et al. Effects of biological and targeted synthetic DMARDs on bone loss in rheumatoid arthritis. *Pharmacol Res.* septiembre de 2019;147:104354.

69. Seriola B, Paolino S, Sulli A, Ferretti V, Cutolo M. Bone metabolism changes during anti-TNF-alpha therapy in patients with active rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci.* junio de 2006;1069:420-7.

70. Fassio A, Adami G, Gatti D, Orsolini G, Giollo A, Idolazzi L, et al. Inhibition of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in patients with early rheumatoid arthritis results in acute changes of bone modulators. *Int Immunopharmacol.* febrero de 2019;67:487-9.

71. 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.* septiembre de 2014;32(5):593-600.

72. Torikai E, Kageyama Y, Takahashi M, Suzuki M, Ichikawa T, Nagafusa T, et al. The effect of infliximab on bone metabolism markers in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Oxf Engl.* junio de 2006;45(6):761-4.

73. Szentpetery A, McKenna MJ, Murray BF, Ng CT, Brady JJ, Morrin M, et al. Periarticular bone gain at proximal interphalangeal joints and changes in bone turnover markers in response to tumor necrosis factor inhibitors in rheumatoid and psoriatic arthritis. *J Rheumatol.* mayo de 2013;40(5):653-62.

74. Gengenbacher M, Sebald H-J, Villiger PM, Hofstetter W, Seitz M. Infliximab inhibits bone resorption by circulating osteoclast precursor cells in patients with

rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* mayo de 2008;67(5):620-4.

75. Chen Y-M, Chen H-H, Huang W-N, Liao T-L, Chen J-P, Chao W-C, et al. Tocilizumab potentially prevents bone loss in patients with anticitrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis. *PloS One.* 2017;12(11):e0188454.

76. Tada M, Inui K, Sugioka Y, Mamoto K, Okano T, Koike T. Abatacept might increase bone mineral density at femoral neck for patients with rheumatoid arthritis in clinical practice: AIRTIGHT study. *Rheumatol Int.* mayo de 2018;38(5):777-84.

77. Tascioglu F, Oner C, Armagan O. The effect of low-dose methotrexate on bone mineral density in patients with early rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* septiembre de 2003;23(5):231-5.

78. Kwon OC, Oh JS, Hong S, Lee C-K, Yoo B, Kim Y-G. Conventional synthetic disease-modifying antirheumatic drugs and bone mineral density in rheumatoid arthritis patients with osteoporosis: possible beneficial effect of leflunomide. *Clin Exp Rheumatol.* octubre de 2019;37(5):813-9.

79. Haugeberg G, Lodder MC, Lems WF, Uhlig T, Ørstavik RE, Dijkmans B a. C, et al. Hand cortical bone mass and its associations with radiographic joint damage and fractures in 50-70 year old female patients with rheumatoid arthritis: cross sectional Oslo-Truro-Amsterdam (OSTRA) collaborative study. *Ann Rheum Dis.* octubre de 2004;63(10):1331-4.

80. van Steenberg HW, Huizinga TWJ, van der Helm-van Mil AHM. The preclinical phase of rheumatoid arthritis: what is acknowledged and what needs to be assessed? *Arthritis Rheum.* septiembre de 2013;65(9):2219-32.

81. Book C, Algulin J, Nilsson J-A, Saxne T, Jacobsson L. Bone mineral density in the hand as a predictor for mortality in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Oxf Engl.* septiembre de 2009;48(9):1088-91.

82. Ahmad HA, Alemao E, Guo Z, Iannaccone CK, Frits ML, Weinblatt M, et al. Association of Low Bone Mineral Density with Anti-Citrullinated Protein Antibody Positivity and Disease Activity in Established Rheumatoid Arthritis: Findings from a US Observational Cohort. *Adv Ther.* febrero de 2018;35(2):232-42.

83. Castañeda S, González-Alvaro I, Rodríguez-Salvanés F, Quintana ML, Laffon A, García-Vadillo JA. Reproducibility of metacarpophalangeal bone mass measurements obtained by dual-energy X-ray absorptiometry in healthy volunteers and patients with early arthritis. *J Clin Densitom Off J Int Soc Clin Densitom.* septiembre de

2007;10(3):298-305.

84. Castañeda S, Navarro F, Fernández-Carballido C, Tornero C, Marced E, Corteguera M. [Differences in the management of early and established rheumatoid arthritis]. *Reumatol Clin.* junio de 2011;7(3):172-8.

85. Machold KP, Stamm TA, Nell VPK, Pflugbeil S, Aletaha D, Steiner G, et al. Very recent onset rheumatoid arthritis: clinical and serological patient characteristics associated with radiographic progression over the first years of disease. *Rheumatol Oxf Engl.* febrero de 2007;46(2):342-9.

86. Verpoort KN, van Dongen H, Allaart CF, Toes REM, Breedveld FC, Huizinga TWJ. Undifferentiated arthritis--disease course assessed in several inception cohorts. *Clin Exp Rheumatol.* octubre de 2004;22(5 Suppl 35):S12-17.

87. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* marzo de 1988;31(3):315-24.

88. Esteve-Vives J, Batlle-Gualda E, Reig A. Spanish version of the Health Assessment Questionnaire: reliability, validity and transcultural equivalency. Grupo para la Adaptación del HAQ a la Población Española. *J Rheumatol.* diciembre de 1993;20(12):2116-22.

89. van der Heijde D. How to read radiographs according to the Sharp/van der Heijde method. *J Rheumatol.* marzo de 1999;26(3):743-5.

90. van Riel PLCM, Renskers L. The Disease Activity Score (DAS) and the Disease Activity Score using 28 joint counts (DAS28) in the management of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* octubre de 2016;34(5 Suppl 101):S40-4.

91. González-Álvaro I, Castrejón I, Ortiz AM, Toledano E, Castañeda S, García-Vadillo A, et al. Cut-Offs and Response Criteria for the Hospital Universitario La Princesa Index (HUPI) and Their Comparison to Widely-Used Indices of Disease Activity in Rheumatoid Arthritis. *PloS One.* 2016;11(9):e0161727.

92. Smolen JS, Aletaha D. Scores for all seasons: SDAI and CDAI. *Clin Exp Rheumatol.* octubre de 2014;32(5 Suppl 85):S-75-79.

93. Felson DT, Smolen JS, Wells G, Zhang B, van Tuyl LHD, Funovits J, et al. American College of Rheumatology/European League against Rheumatism provisional definition of remission in rheumatoid arthritis for clinical trials. *Ann Rheum Dis.* marzo de 2011;70(3):404-13.

94. Bruynesteyn K, van der Heijde D, Boers M, Saudan A, Peloso P, Paulus H, et al.

Determination of the minimal clinically important difference in rheumatoid arthritis joint damage of the Sharp/van der Heijde and Larsen/Scott scoring methods by clinical experts and comparison with the smallest detectable difference. *Arthritis Rheum.* abril de 2002;46(4):913-20.

95. Pfeil A, Oelzner P, Renz DM, Hansch A, Wolf G, Böttcher J. Is there a role for Digital X-ray Radiogrammetry as surrogate marker for radiological progression and imaging of structural integrity in rheumatoid arthritis? *BMC Musculoskelet Disord.* 23 de junio de 2015;16:155.

96. Regueiro C, Ortiz AM, Boveda MD, Castañeda S, Gonzalez-Alvaro I, Gonzalez A. Association of high titers of anti-carbamylated protein antibodies with decreased bone mineral density in early arthritis patients. *PloS One.* 2018;13(8):e0202583.

97. Nakabo S, Hashimoto M, Ito S, Furu M, Ito H, Fujii T, et al. Carbamylated albumin is one of the target antigens of anti-carbamylated protein antibodies. *Rheumatol Oxf Engl.* 1 de julio de 2017;56(7):1217-26.

98. Verheul MK, Yee A, Seaman A, Janssen GM, van Veelen PA, Drijfhout JW, et al. Identification of carbamylated alpha 1 anti-trypsin (A1AT) as an antigenic target of anti-CarP antibodies in patients with rheumatoid arthritis. *J Autoimmun.* junio de 2017;80:77-84.

99. Sokolove J, Pisetsky D. Bone loss, pain and inflammation: three faces of ACPA in RA pathogenesis. *Ann Rheum Dis.* abril de 2016;75(4):637-9.

100. Moon S-J, Ahn IE, Kwok S-K, Park K-S, Min J-K, Park S-H, et al. Periarticular osteoporosis is a prominent feature in early rheumatoid arthritis: estimation using shaft to periarticular bone mineral density ratio. *J Korean Med Sci.* febrero de 2013;28(2):287-94.

101. Pfeil A, Haugeberg G, Hansch A, Renz DM, Lehmann G, Malich A, et al. Value of digital X-ray radiogrammetry in the assessment of inflammatory bone loss in rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res.* mayo de 2011;63(5):666-74.

102. Llorente I, Merino L, Escolano E, Quintanilla DM, García-Vadillo JA, González-Álvaro I, et al. Reproducibility of Metacarpal Bone Mineral Density Measurements Obtained by Dual-Energy X-Ray Absorptiometry in Healthy Volunteers and Patients With Early Arthritis. *J Clin Densitom Off J Int Soc Clin Densitom.* diciembre de 2020;23(4):678-84.

103. Carmona L, González-Alvaro I, Balsa A, Angel Belmonte M, Tena X, Sanmartí R. Rheumatoid arthritis in Spain: occurrence of extra-articular manifestations and

estimates of disease severity. *Ann Rheum Dis.* septiembre de 2003;62(9):897-900.

8. ANEXOS

ANEXOS

I. Osteoporosis in Rheumatoid Arthritis: Dangerous Liaisons. **Llorente I**, García-Castañeda N, Valero C, González-Álvaro I, Castañeda S.. *Front Med (Lausanne)*. 2020 Nov 23;7:601618. doi: 10.3389/fmed.2020.601618. PMID: 33330566; PMCID: PMC7719815.

II. Anti-citrullinated protein antibodies are associated with decreased bone mineral density: baseline data from a register of early arthritis patients. **Llorente I**, Merino L, Ortiz AM, et al. *Rheumatol Int*. 2017;37(5):799-806. doi:10.1007/s00296-017-3674-9

- Premio SER mejor artículo publicado categoría osteoporosis en 2017. Otorgado en el Congreso Nacional de la Sociedad Española de Reumatología en mayo 2018 (La Coruña).

Anti-citrullinated protein antibodies and bone loss in patients with early arthritis: comment on the article “Anti-citrullinated protein antibodies and high levels of rheumatoid factor are associated with systemic bone loss in patients with early untreated rheumatoid arthritis” by Bugatti et al. Letter to editor. Santos Castañeda* , **Irene Llorente**, Rosario García-Vicuña and Isidoro González-Álvaro. Castañeda et al. *Arthritis Research & Therapy* (2017) 19:152. DOI 10.1186/s13075-017-1362-5

III. Reproducibility of Metacarpal Bone Mineral Density Measurements Obtained by Dual-Energy X-Ray Absorptiometry in Healthy Volunteers and Patients With Early Arthritis. **Llorente I**, Merino L, Escolano E, Quintanilla DM, García-Vadillo JA, González-Álvaro I, Castañeda S. *J Clin Densitom*. 2020 Oct-Dec;23(4):678-684. doi: 10.1016/j.jocd.2019.02.006. Epub 2019 Feb 27. PMID: 30910402.

IV. Analysis of Bone Mineral Density at the Hand by Radiogrammetry and Dual X-RAY Absorptiometry as A Predictor of Severity in Early Rheumatoid

Arthritis Patients.. **Llorente Cubas I**, Merino L. AB0248 Comparative Study *Annals of the Rheumatic Diseases* 2014;**73**:885-886.

V. Comunicaciones a congresos derivadas del tema de la tesis.



Osteoporosis in Rheumatoid Arthritis: Dangerous Liaisons

Irene Llorente¹, Noelia García-Castañeda¹, Cristina Valero¹, Isidoro González-Álvarez^{1*†} and Santos Castañeda^{1,2*†}

¹ Rheumatology Division, Hospital Universitario de La Princesa, IIS-IP, Madrid, Spain, ² Cátedra UAM-Roche, EPID-Future, Department of Medicine, Universidad Autónoma de Madrid (UAM), Madrid, Spain

OPEN ACCESS

Edited by:

Barbara Ruaro,
University of Trieste, Italy

Reviewed by:

Willem Lems,
VU University Medical
Center, Netherlands
Javier Del Pino,
University of Salamanca, Spain

*Correspondence:

Isidoro González-Álvarez
isidoro.ga@ser.es
Santos Castañeda
scastas@gmail.com

[†]These authors have contributed
equally to this work

Specialty section:

This article was submitted to
Rheumatology,
a section of the journal
Frontiers in Medicine

Received: 01 September 2020

Accepted: 19 October 2020

Published: 23 November 2020

Citation:

Llorente I, García-Castañeda N,
Valero C, González-Álvarez I and
Castañeda S (2020) Osteoporosis in
Rheumatoid Arthritis: Dangerous
Liaisons. *Front. Med.* 7:601618.
doi: 10.3389/fmed.2020.601618

Osteoporosis has been classically considered a comorbidity of rheumatoid arthritis (RA). However, recent advances in the pathogenesis of osteoporosis in RA have shown a close interplay between cells of the immune system and those involved in bone remodeling, introducing new actors into the classic route in which osteoclast activation is related to the RANK/RANKL/OPG pathway. In fact, the inflammatory state in early stages of RA, mediated by interleukin (IL)-1, IL-6, IL-8 and tumor necrosis factor (TNF)- α has the ability to activate and differentiate osteoclasts not only through their relationship with RANKL, but also through the Wnt/DKK1/sclerostin pathway, leading to bone loss. The role of synovial fibroblasts and activated T lymphocytes in the expression of the RANKL system and its connection to bone destruction is also depicted. In addition, autoantibodies such as rheumatoid factor and anti-citrullinated protein antibodies are other pathogenic mechanisms for the development of bone erosions and systemic osteoporosis in RA, even before the onset of arthritis. The aim of this review is to unravel the relationship between different factors involved in the development of osteoporosis in RA patients, both the classic factors and the most novel, based on the relationship of autoantibodies with bone remodeling. Furthermore, we propose that bone mineral density measured by different techniques may be helpful as a biomarker of severity in early arthritis patients.

Keywords: rheumatoid arthritis, bone erosions, inflammation, osteoimmunology, osteoporosis, RANKL/RANK/OPG, Wnt signaling

INTRODUCTION

Rheumatoid arthritis (RA) is a systemic chronic inflammatory disease that primarily affects diarthrodial joints and is associated with disability, the presence of multiple comorbidities and decreased life expectancy (1). A recent cross-sectional epidemiological study estimates that the prevalence of RA in Spain is 1.07% [95% confidence interval (CI): 0.70–1.44] (2), similar to that described in western countries (1).

Osteoporosis (OP) is a frequent systemic skeletal disorder characterized by low bone mass and microarchitectural deterioration of bone tissue, resulting in bone fragility and susceptibility to fracture. Fragility fracture is defined as a spontaneous fracture that results from minimal or no identifiable trauma and represents a sign of OP (3).

The prevalence of OP in the general population ranges from 9 to 38% for women and 1 to 8% for men depending on the countries (3). In the European Union, it was estimated that 22 million women and 5.5 million men had osteoporosis in 2010 (4). A study calculated that the prevalence of global OP at the lumbar spine or femoral neck in Spanish female population was 12.7% according

to densitometric criteria (5). More specifically, in women older than 50 years, prevalence was 22.8% at lumbar spine and 9.1% at femoral neck (5).

On the other hand, the prevalence of OP in RA is around 30% (up to 50% in post-menopausal women), which might be a two-fold increase over the general population (6, 7). Furthermore, RA patients can experience fractures with higher bone mineral density (BMD) compared to patients without RA (8). In a meta-analysis, the incidence of fragility fractures in RA and general population were 33.00 and 15.31 per 1,000 person-years, respectively (9). The spine is often the most commonly affected site and the incidence of vertebral fractures in RA might be up to 5 times the rate of healthy controls (9, 10). Interestingly, the prevalence of osteopenia and osteoporosis in a large cohort of patients with RA using Vertebral Fracture Assessment (VFA) technique is around 40–60%, while the prevalence of vertebral fractures through VFA images in the same cohort was 13% (11). Paradoxically, in the Princessa Early Arthritis Register Longitudinal (PEARL) study, we observed that cortical bone in mid-forearm seemed to be more susceptible to bone loss than trabecular bone in ultra-distal forearm when disease activity was not adequately controlled (**Figure 1**).

OSTEOPOROSIS RISK FACTORS IN RA

OP and RA share some common risk factors such as female gender (female: male ratio in RA: 3–4:1) and smoking. Other general OP risk factors such as age, low body mass index (BMI), menopause, diabetes or thyroid disorders (6, 13–15) are equally applicable to patients with RA and to the general population.

Other risk factors that can account for OP in RA include systemic inflammation associated with disease activity, local effect of immune cells leading to bone erosions, glucocorticoid (GC) therapy and impairment of physical activity (14). Therefore, OP and fractures are more frequent in patients with high disease activity (according to DAS28), presence of periarticular bone erosions and cumulative structural damage, RA disease duration ≥ 10 years, high HAQ score or high titers of anti-citrullinated protein antibodies (ACPA) and rheumatoid factor (RF) positivity (6, 9, 10, 14–16). In one study, vertebral fracture risk in RA patients was related to longer disease duration, dose and duration

of GC treatment, higher HAQ, Sharp score (cumulative structural damage), ACPA and older age (10). Indeed, ACPA positivity is independently associated with severe trabecular bone loss (13). Furthermore, previous studies have described that the risk of fracture in the next 10 years measured by FRAX is increased in ACPA positive patients (17). By contrast, recent publications show that patients achieving early RA remission have a similar OP risk profile than the general population (15).

Regarding therapeutic agents for RA, GC therapy deserves a special mention. Indeed, GCs suppress osteoblast bone formation, which is associated with a rapid suppression of procollagen type 1 N-terminal pro-peptide (PINP, a biomarker of bone formation), leading to an early reduction in trabecular bone (18). Interestingly, GCs also suppress osteoclast activity, certainly increased in active arthritis patients, which might have a protective effect in some cases (19). In fact, some studies show that GC use in RA could even be beneficial, with a low impact on BMD due to their anti-inflammatory and suppressive effect on arthritis activity (13, 14, 16, 20). Therefore, low doses of GCs could provide protection from inflammatory bone loss during polyarthritis flares and might counteract their unfavorable effects on bone resorption leading to neutral or even positive net skeletal balance (20, 21). The cumulative GC dose (long-term or high dose) as well as the continuous vs. alternative GC dosage strategy are correlated with an increased risk of fracture or a reduced BMD in juxta-articular bone, spine and femoral neck (10, 14, 22, 23). In addition, GCs induce muscle wasting which secondarily increases the risk of falls and fractures (20). However, a daily dose below 5 mg may have a relatively small impact on BMD in RA patients (23).

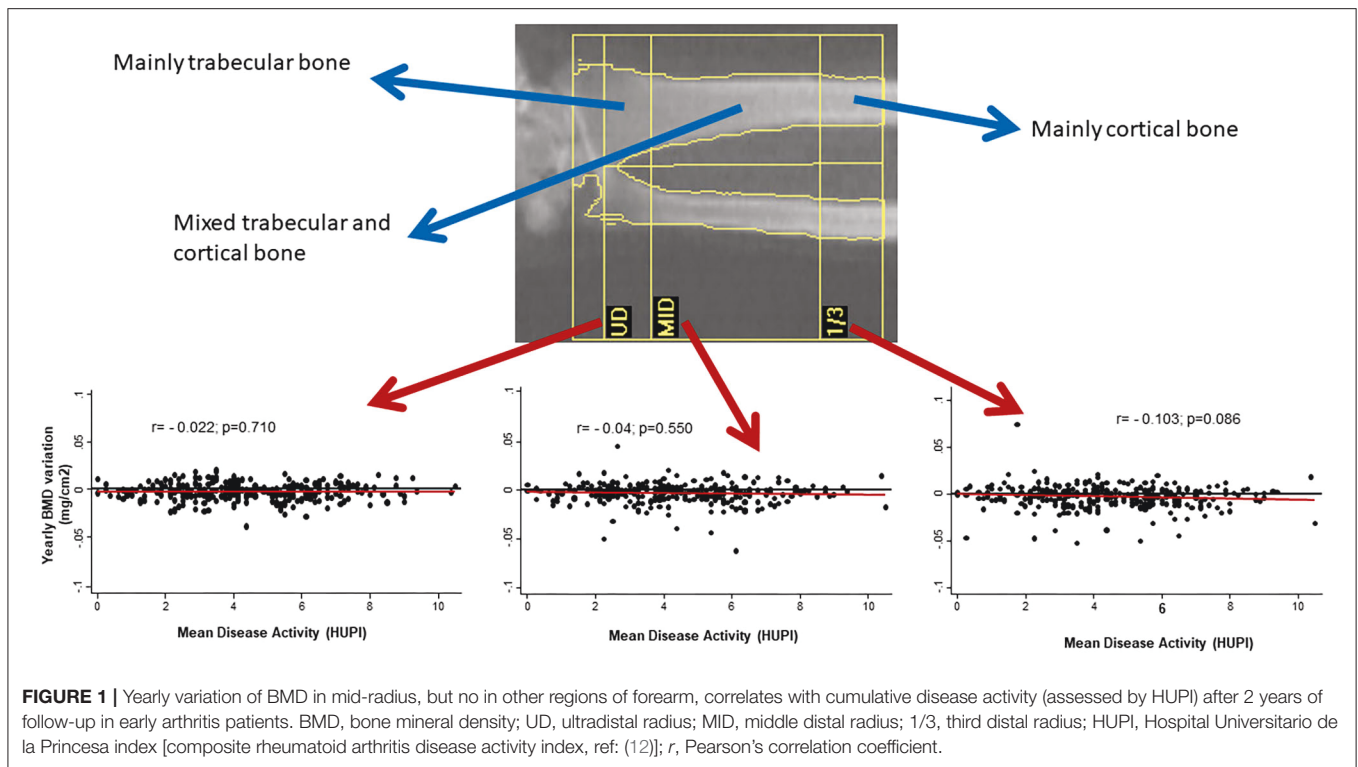
Besides, the effect of GC therapy is controversial due to limitations in the studies such as concomitant use of anti-resorptive treatment, indication bias of GCs in patients with high disease activity or chronic use of GCs in patients with low disease activity.

Other pharmacological agents involved in fracture risk are opioids, some anti-depressants such as selective serotonin reuptake inhibitors, anti-psychotics, benzodiazepines and proton pump inhibitors (24). The risk related with opioids, higher for vertebral fractures than for non-vertebral fractures, and selective serotonin reuptake inhibitors might be mainly associated with falls (22).

BONE HOMEOSTASIS AND BONE REMODELING AND THE IMMUNE SYSTEM

In the past, the bone seemed to be a static structure, but nowadays is considered a dynamic tissue in constant activity, being the entire skeleton renewed around every 10 years. The dynamic process of bone formation and resorption is known as bone remodeling. This process has a complex regulation, determined by mechanical, molecular and cellular factors. Indeed, osteoclasts, osteoblasts and osteocytes are the main cellular actors involved in bone remodeling. Different signaling pathways of these and other cells of the immune system regulate their function and bone remodeling (25–29) (**Figure 2**). Indeed, the bone and the

Abbreviations: ACPA, anti-citrullinated protein antibodies; ACR, American College of Rheumatology; Anti-CarPA, anti-carbamylated protein antibodies; BMD, bone mineral density; BMI, body mass index; CI, confidence interval; CTX-I, carboxy-terminal telopeptide of type 1 collagen; CXCL8, C-X-C motif chemokine ligand 8; DAS28, disease activity score counted over 28 joints; DDK-1, Dickkopf-1 protein; DMARD(s), disease modifying anti-rheumatic drug(s); DXA, dual X-ray densitometry; DXR, dual X-ray radiogrammetry; EULAR, European league against Rheumatism; FRAX, fracture risk assessment tool; GC(s), glucocorticoid(s); HAQ, health assessment questionnaire; hTNF-tg, human tumor necrosis factor transgenic; Ig, immunoglobulins; IL, interleukin; IFN- γ , interferon gamma; M-CSF, macrophage colony-stimulating factor; OP, osteoporosis; OPG, osteoprotegerin; PEARL, Princessa early arthritis register longitudinal; PINP, procollagen type 1 N-terminal propeptide; RA, rheumatoid arthritis; RANK/RANK-L, receptor activator of nuclear factor (NF)- κ B (RANK) and its ligand; RF, rheumatoid factor; TNF- α , tumor necrosis factor; TNFi, TNF- α inhibitors; Th, T helper lymphocytes; Treg, regulatory T cells; uNTx, cross-linked N-telopeptide of type I collagen; Wnt, drosophila segment polarity gene *wingless* and *integrated* or *int-1* of the vertebrate homologue.



immune system maintain a close relationship both anatomical - since the bone houses the bone marrow- and functional through different molecular and cellular signaling pathways and a myriad of cytokines (25, 26, 28, 29). Accordingly, osteoimmunology is a discipline that attempts to address all these interrelations (30) and has undergone a great development in recent years.

RA is the prototype of osteoimmunologic disease where bone loss is one of the most characteristic findings. In RA, there are three kind of bone loss: local, juxta-articular and systemic, causing periarticular osteopenia, bone erosions and generalized osteopenia and/or osteoporosis far from inflamed joints, respectively (25–27). The misbalance in bone remodeling that occurs in RA causes an increase in bone resorption that leads to a reduction of bone mass and a decrease in bone formation that inhibits bone repair. Different cells, cytokines and signaling pathways are involved in both processes and could be potential therapeutic targets to prevent radiographic progression and osteopenia/osteoporosis associated with RA.

Increased Bone Resorption in RA

Osteoclasts are the main cell population responsible for bone loss in RA patients. These multinucleated large cells are involved in bone resorption through degradation of the bone matrix by acidic and catalytic enzymes, leading to bone erosions in RA (31). They originate from hematopoietic stem cells of the macrophage/monocyte lineage. For their differentiation they require the intervention of the macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) (32). In addition, numerous molecules and signaling pathways are involved in the processes of osteoclast differentiation and activation. Among them, the receptor

activator of nuclear factor (NF)- κ B (RANK) and its ligand (RANKL) are the most important (Figure 2). They are proteins belonging to the TNF superfamily. RANKL is expressed, both soluble and membrane-bound forms, in different bone cells (osteoblasts and osteoclasts) and also in different cell subsets of the immune system (25, 28, 29). By contrast, RANK is mainly expressed in osteoclasts. Osteoprotegerin (OPG) is another protein of the TNF superfamily, which has a regulatory role in bone remodeling (33), working as a RANKL decoy receptor, blocking its effect through its interaction and therefore inhibiting osteoclastogenesis. In fact, RANKL was initially known as the OPG-ligand (34). Therefore, the RANK/RANKL/OPG axis is an essential pathway in the regulation of bone remodeling.

Synovial tissue in RA is the main source of RANKL (35), being synovial fibroblasts and activated T cells the main cells involved in its production (36). Danks et al. found that fibroblasts are the main source of RANKL in synovium, and therefore one of the main responsible for osteoclastogenesis rather than T cells. In fact, in an animal experimental model, the absence of RANKL expression in fibroblasts of mice with collagen-induced arthritis appears to have a protective effect on the appearance of bone erosions. This is not the case for RANKL deficiency in T cells. Therefore, the production of RANKL by fibroblasts could be a possible therapeutic target for the prevention of erosions in RA (37). In addition to RANKL expression, fibroblasts induce osteoclastogenesis through decreasing OPG (38).

T cells also play a crucial role in bone metabolism in RA. As shown in Figure 2, there are different phenotypes of T cells (Th1, Th2, Th17, and Treg), showing patterns of expression of different molecules and of release of distinct cytokines that play different

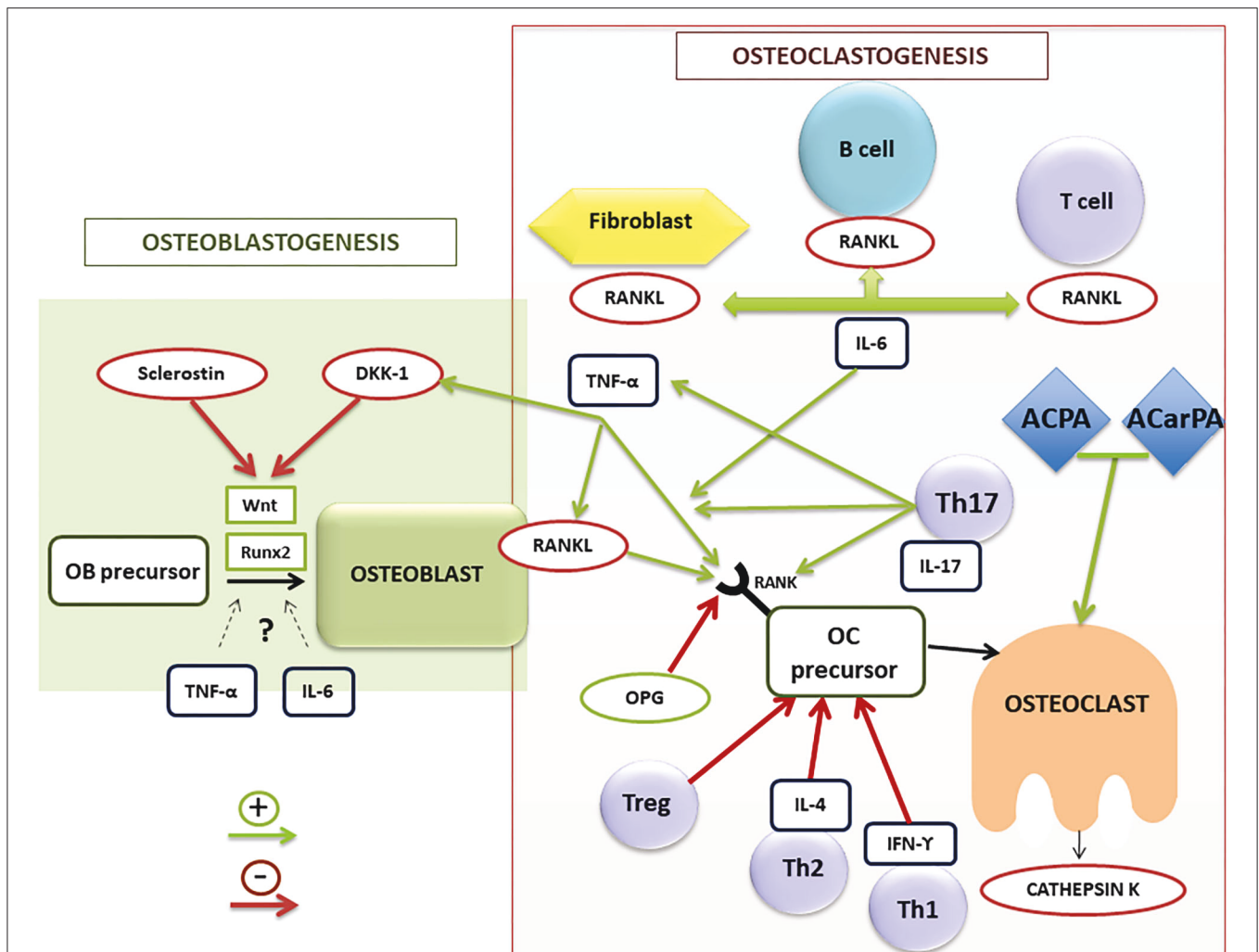


FIGURE 2 | Schematic illustration of osteoblastogenesis and osteoclastogenesis regulation in RA patients. ACPA, anti-citrullinated protein antibodies; ACarPA, anti-carbamylated protein antibodies; DKK-1, dickkopf-1 protein; IL, interleukin family; IFN, interferon; OB, osteoblast; OC, osteoclast; OPG, osteoprotegerin; RA, rheumatoid arthritis; RANK/RANK-L, receptor activator of nuclear factor (NF)- κ B (RANK) and its ligand; Runx2, transcription factor involved in the osteoblastogenesis; TNF- α , tumor necrosis factor alpha; Th, T helper lymphocytes; Treg, T regulators lymphocytes.

roles in the regulation of bone remodeling. The first two subsets play a negative regulatory role on osteoclastogenesis, secreting inhibitory cytokines such as interferon gamma (IFN- γ) and IL-4 (39). Regulatory T cells (Treg) also work as negative regulators of osteoclastogenesis, being responsible for regulating tolerance and self-reactivity, while Th17 cells are critical stimulators of osteoclastogenesis in RA. Treg cells appear to have an anti-inflammatory action in animal models of TNF-induced arthritis, inhibiting osteoclast differentiation and promoting osteoblast activity (40).

By contrast, Th17 cells have been described as a subtype of Th cells inducing osteoclastogenesis by various mechanisms (41). These cells produce RANKL and IL-17, a cytokine that in turn stimulates RANKL production by fibroblasts and osteoblasts. Furthermore, they stimulate the production of M-CSF and RANKL by osteoblasts and stromal cells,

produce TNF- α and increase RANK expression in osteoclast precursors (42). However, although an important role of IL-17, both proinflammatory and osteoclastogenic (43), has been described in RA, treatment with IL-17 inhibitory drugs has not demonstrated clear efficacy in RA patients (44). Therefore, further studies in RA patients are necessary to better define the real role of this cytokine and the profile of patients who could benefit from this targeted therapy. Thus, the balance between Tregs and Th17 cells is crucial for the pathogenesis and the onset of low bone mass and erosions in RA (39, 42).

Finally, B cells, in addition to being antibody-producing cells, also appear to play a role in bone resorption in RA, since they are able to produce RANKL under stimulation. In RA, activated B cells of synovial fluid and peripheral blood have been found to secrete high RANKL levels, thus participating in osteoclastogenesis and bone resorption (45).

In addition to cell subsets, numerous cytokines involved in the pathogenesis of RA have been described, among which TNF- α and IL-6 stand out, because they not only play a role in inflammation, but also seem to have a direct effect on bone remodeling in RA (25–27). In fact, they are two of the main therapeutic targets of the novel RA therapies. **Table 1** shows the main cytokines involved in bone destruction and formation in patients with inflammatory diseases.

TNF- α has a net osteoclastogenic effect. It stimulates bone resorption by promoting osteoclast differentiation, increasing RANKL expression in T and B lymphocytes and osteoclasts, as well as promoting RANK expression in osteoclast precursors (46). TNF- α also contributes to inhibition of bone formation through stimulation of Dickkopf-1 (DKK-1) production (**Figure 2**). *In vitro* and *in vivo* studies have described a controversial role of TNF- α in osteoblastogenesis, describing both inhibitory (47) and potential promoter effects (48), depending on the stage of the osteoblast differentiation. Accordingly, therapy with TNF- α inhibitors (TNFi) has proven effective not only on inflammation in RA, but also on bone balance, both at the level of systemic bone mass and prevention of radiographic progression (49).

IL-6 is another key cytokine in the pathogenesis of RA (50). In addition to its clear role on inflammation, a direct effect on general and local bone loss has been described in RA (51). IL-6 promotes bone resorption by enhancing the expression of RANKL by osteoblasts, fibroblasts and T cells (52) and is involved in the differentiation of Th17 cells (53). However, IL-6

has a controversial role on bone formation, since both pro-osteoclastogenic (54) and inhibitory (55) roles have been found in *in vitro* studies, depending on the stage of osteoblast precursors. Indeed, therapy with IL-6 inhibitors is effective in controlling inflammation and the radiological progression of RA (56).

Since RANK/RANKL/OPG pathway is crucial in osteoclastogenesis, inhibition of RANKL is a possible therapeutic target to prevent erosions and bone mass loss in RA. In a T cell-dependent animal model of arthritis, blocking RANKL by OPG prevents bone destruction, but not inflammation (57). Furthermore, in a phase II trial to assess the efficacy of denosumab, a RANKL inhibitor human antibody, on several bone parameters in patients with RA, they found that the association of denosumab with methotrexate and other therapies for controlling RA reduces bone erosions, increases BMD and decreases biomarkers of bone resorption, so it could be a potential treatment for erosive RA (58). However, as denosumab has neither an effect on inflammation nor over joint space narrowing, it has not been approved for RA treatment.

Another interesting molecule involved in bone resorption is cathepsin K, a lysosomal cysteine protease expressed predominantly in osteoclasts (59). It is overexpressed in synovial tissue, fibroblasts and serum in RA patients (60). In an animal model of arthritis using human TNF-transgenic mice (hTNF-tg), cathepsin K deficiency inhibits osteoclast activation, preventing joint erosion and presenting a regulatory role on the immune system. Therefore, inhibition of cathepsin K could be a potential adjuvant therapeutic target against bone destruction associated with an inflammatory response (61) if safety issues are finally elucidated.

TABLE 1 | Main mediators involved in bone remodeling.

Pro-bone resorption factors	Main effects in bone
TNF- α	Osteoclast activation. Osteoblast inhibition
IL-6	Osteoclast activation. Osteoblast inhibition
IL-1	Osteoclastogenesis stimulation
IL-8	Osteoclastogenesis stimulation
IL-11	Osteoclastogenesis stimulation
RANKL	Osteoclast activation
IL-17	Osteoclast activation
IL-23	Osteoclast activation
Cathepsin K	Osteoclast activation
M-CSF	Osteoclastogenesis stimulation
Anti-bone resorption factors	
IFN- γ	Osteoclast inhibition
IL-2	Osteoclast inhibition
IL-4	Osteoclast inhibition
OPG	Osteoclast inhibition
Anti-bone formation factors	
DKK-1	Osteoblast inhibition
Sclerostin	Osteoblast inhibition
TNF- α	Osteoblast inhibition (dual effect)
IL-6	Osteoblast inhibition (dual effect)

DKK-1, Dickkopf-1; IFN, interferon; IL, interleukin family; M-CSF, macrophage colony-stimulating factor; OPG, osteoprotegerin; RANKL, receptor activator of nuclear factor (NF)- κ B ligand; TNF, tumor necrosis factor.

Reduced Bone Formation in RA

In the process of bone formation by osteoblasts, cells of mesenchymal origin, different molecules and cell signaling pathways contribute in different ways. One of the most important signaling routes is the Wnt pathway. The name Wnt results from a fusion of the name of the *Drosophila* segment polarity gene *wingless* and the name of the vertebrate homolog, *integrated* or *int-1*. Wnt signaling pathways are a group of signal transduction pathways which begin with proteins that transduce signals into the cell through cell surface receptors, activating the transcription of genetic factors that regulate osteoblast maturation and therefore bone formation, among other important functions in embryogenesis and organogenesis. There are also different endogenous inhibitors of this pathway, among which DKK-1 and sclerostin are the most important and best known (62). In RA, there is an increase in the expression of these inhibitory factors of the Wnt pathway and therefore a reduction in bone formation. Consequently, this pathway could be involved in the repair of bone erosions in RA (63) (**Table 1**).

Similarly, an increase in DKK-1 has been reported in patients with RA in inflamed synovium and serum. DKK-1 elevation is associated with an increased risk of erosions in RA patients (64). Its levels seem to depend on the pro-inflammatory state, while inhibiting TNF- α reduces them. Blocking DKK-1 by monoclonal antibodies reduces the occurrence of bone erosions regardless of the inflammatory state in arthritis animal models (65). Therefore,

DKK-1 plays an important role in the development of erosions in a pro-inflammatory environment such as RA, and could be a therapeutic target for reducing such erosions.

Sclerostin is another inhibitor of the Wnt pathway, mainly secreted by osteocytes. Blocking sclerostin by a monoclonal antibody in human tumor necrosis factor transgenic (hTNFtg) mice model of arthritis reduces loss of systemic bone mass, periarticular bone destruction and cartilage damage, without any effect on inflammation. The combination of sclerostin and TNF- α inhibition produces normalization of systemic bone mass, inhibits and repairs bone erosions and cartilage damage, thus protecting from structural joint damage (66). However, other studies in animal models of arthritis have not found that sclerostin inhibition decreases or repairs bone erosions or reduces bone loss (67). Therefore, further studies are needed to clarify the role of sclerostin inhibition in RA patients.

ROLE OF AUTOANTIBODIES IN OSTEOPOROSIS ASSOCIATED TO RA

RA is a systemic inflammatory disease in which the development of different autoantibodies is an early pathogenic event that is associated with structural joint damage, the appearance of erosions and juxta-articular osteopenia (68, 69). The most frequent autoantibodies associated with RA are RF and ACPA. RF is directed against the Fc region of IgG and it mainly appears as an IgM isoform. Although RF is present in a high percentage of RA patients, it is not very specific, since it can appear in other autoimmune diseases and even in healthy population, especially in elderly people. On the contrary, ACPA are more specific of RA and very rare in general population, having demonstrated evidence of their prognostic role on radiological progression and the appearance of erosions. At present, it is well-established that ACPA can be detected in human sera during the pre-RA stage, even 10 years before the onset of symptoms (70).

RA-Related Autoantibodies as Drivers of Bone Resorption

As already mentioned, the mechanisms by which systemic osteoporosis appears in RA are complex including sustained inflammation, GC use, decrease of physical activity and as a consequence of some disease modifying anti-rheumatic drugs (DMARDs). At present, there is enough evidence to support that autoantibodies play also a role in the pathogenesis of bone loss, either systemic or local, in RA. Different animal models have demonstrated that ACPA can induce osteoclasts differentiation and activation even before arthritis onset (71, 72). During osteoclasts differentiation, the myeloid precursors express citrullinated vimentin in their membrane that can be the target for their specific ACPA. These kind of ACPA attach to Fc-gamma receptor which induces the production of CXCL8 promoting the proliferation and maturation of osteoclasts (71, 72). The presence of immune complexes of ACPA and their targets can also induce this process (73, 74).

Furthermore, Kleyer et al. have demonstrated a decrease in systemic cortical bone mass in a limited population of healthy

ACPA-positive subjects without arthritis (75). In this regard, our group has described in patients of an early arthritis cohort with a median symptom duration about 5 months that the ACPA positive subjects showed a significantly lower systemic bone mass at hip and lumbar spine, but not at periarticular level in metacarpophalangeal joints. This effect was independent of the effect of classical risk factors for low bone mass, such as female gender, menopause or BMI (76, 77). Similar data have been described by Bugatti et al. in an untreated early arthritis cohort (78).

In both cohorts, patients had a very short disease duration, with low/no treatment exposure of either GCs or DMARDs, suggesting that ACPA probably have an initial role in the mechanism of BMD loss in these patients. On the other hand, the perpetuation of inflammation and the use of osteoporosis-inducing drugs may collaborate in peripheral BMD loss.

Although the strongest evidence on the role of antibodies as diagnostic and prognostic biomarkers in RA is for ACPA, included as a highly weighted item in the ACR/EULAR criteria for RA classification (79), this role has also been identified for other autoantibodies that recognize post-translational modification of proteins. Among them, anti-carbamylated proteins antibodies (anti-CarPA) have the strongest evidence regarding their role in the pathogenesis of RA compared to anti-acetylated proteins or other modifications. Interestingly, many of these modifications (citrullination, acetylation or carbamylation) include vimentin, pointing to this protein as an important target in RA pathogenesis. Anti-CarPA have shown a clear overlap with ACPA, but some studies have identified them as an independent prognostic biomarker, especially regarding the appearance of erosions (80).

The role of anti-CarPA in BMD has also been studied in early arthritis cohorts. Regueiro et al. described that high titers of anti-CarPA were associated with lower systemic BMD, either at lumbar spine or hip, in these patients, but not at local level in metacarpophalangeal joints, and this association was independent of ACPA titers (81).

As mentioned above, the sustained presence of inflammatory cytokines in RA plays an important role in regulating osteoclast activation. But there is also evidence of the importance of autoantibodies and immune complexes for the production of these inflammatory cytokines by macrophages, showing in an indirect way how these immune complexes contribute to bone mass loss through regulation of osteoclasts.

All together, these data suggest that ACPA probably have an initial role in systemic osteoporosis in the earliest moments of the disease, and lead to local BMD loss in later stages through the perpetuation of inflammation and the progressive increase in their titers.

BONE MINERAL DENSITY AS POSSIBLE SEVERITY MARKER IN RA

Currently, the diagnostic and therapeutic strategies aim at the early detection and treatment of the disease (82). Indeed, in the PEARL study the implementation of early DMARD treatment in

tight control and treat to target strategies have led to prevention of erosive disease and arrest of radiological progression (83), both due to a better control of the disease and a reduced use of long-term osteopenizing drugs. Furthermore, the decrease of autoantibody titers has probably also contributed to a lower loss of both systemic and local BMD. Therefore, it is important to have prognostic biomarkers that help us better understand disease evolution and detect and treat these patients early and correctly to avoid long-term comorbidities.

The association of RA-related autoantibodies with worse BMD suggests that measurement of bone mass could help to predict prognosis of patients with early arthritis. Regarding this topic, there is evidence that measurement of BMD by dual X-ray radiogrammetry (DXR) at metacarpal diaphysis in the non-dominant hand of RA patients is associated with disease progression, appearance of bone erosions and even, in some studies, with increased mortality (84, 85). In addition, DXR is a very sensitive procedure to detect loss of BMD in the hand, which in long-standing RA has been associated with high titers of autoantibodies, mainly ACPA, radiographic progression and the appearance of erosions (86).

However, DXR is a poorly accessible and expensive technique. On the contrary, conventional dual X-ray densitometry (DXA) is the gold standard for assessing BMD in OP, and is also a simple and more accessible technique all over the world. Of note, our group has recently proved that measurement of BMD at metacarpal diaphysis with conventional DXA is reproducible and closely correlates with DXR measurements (87, 88).

SOMETHING IS CHANGING IN OSTEOPOROSIS ASSOCIATED WITH RA

Interestingly, a decrease in the prevalence of OP and fractures has been described in the last 10 years, likely due to improved therapeutic options that have allowed rheumatologists to lead more RA patients to remission (15).

Most of the information comes from TNFi, which have been associated with a reduced number of fractures and improvement of BMD in both vertebral and non-vertebral anatomical locations (22, 89, 90). Regarding bone turnover markers, the results of the studies were quite consistent, often showing an increase in bone formation markers along with a decrease in bone resorption ones (89–92). Less often, they showed either a decrease in bone resorption with stabilization of bone formation (93, 94), or stabilization of bone resorption and increased formation (95, 96). A recent paper showed, in patients with early RA treated with TNFi (certolizumab pegol), that bone turnover markers and Wnt/B-catenin pathway inhibitors may change quickly after starting therapy, with a decrease in carboxy-terminal telopeptide of type 1 collagen (CTX-1), an increase in PINP and the decrease in DKK-1 and sclerostin, already evident from the first week of therapy (92).

Other biological agents such as tocilizumab, rituximab, and abatacept have shown a significant decrease in bone resorption markers and RANKL expression, which provides evidence of a beneficial effect on bone remodeling process slowing down bone

loss (15). In a study, a 2-year treatment with tocilizumab showed improvement in BMD and significantly decreased levels of β -CTX in ACPA positive patients (97). Another study disclosed the efficacy of abatacept for increasing BMD at the femoral neck without differences in urinary levels of cross-linked N-telopeptide of type I collagen (uNTx) and bone-specific alkaline phosphatase (98).

Finally, most information about DMARDs reflects a non-deleterious effect on BMD, especially with methotrexate (99), although in another study, leflunomide was the only DMARD associated with significant increase in lumbar spine BMD without differences in femoral neck (100).

All together, this evidence suggests that the relationship between RA disease activity, systemic inflammation and OP is mediated by pro-inflammatory cytokines (mainly M-CSF, IL-17, TNF- α , IL-1, and IL-6) that regulate osteoclastogenesis and are important stimulators of RANKL synthesis. During the inflammatory process, their production exceeds the synthesis of their physiologic inhibitors and decoy receptor OPG. Therefore, the imbalance between osteoblast and osteoclast activity is directly responsible for bone loss and local erosions in RA (15, 16). Nevertheless, this imbalance can also occur at systemic level. This fact posits that BMD loss in RA may be an early predictor of erosive disease (16), as suggested by a study in which BMD loss at the metacarpal site was the main independent predictor of subsequent articular radiographic progression (14).

CONCLUSIONS

OP is a common complication of RA patients, mainly due to shared demographic characteristics as well as common pathogenic pathways to both entities. The mechanisms involved in the pathogenesis of RA-associated OP are complex. It is evident that the RANK/RANKL/OPG and the Wnt/DKK-1/sclerostin pathways play a crucial role in the development of systemic and local OP as well as bone erosions. Furthermore, different pro-inflammatory cytokines involved in RA pathogenesis such as TNF- α , IL-6 and IL-17, among others, have a relevant role in the regulation of bone homeostasis. Despite these mechanisms are complex and controversial, targeting these molecules clearly provides a drastic arrest of radiographic progression as well as an improvement of disability and quality of life of RA patients. Recently, some studies suggest that this strategy also reduces OP and fractures, further improving the clinical outcome of these patients, especially in long-term disease.

Regarding the role of autoantibodies, both ACPA and anti-CarPA have shown a pathogenic role affecting bone homeostasis through their involvement in the development of systemic OP and bone erosions. These autoantibodies also allow classifying different phenotypes of RA patients regarding evolution and prognosis. Some doubts that need to be clarified still remain, such as the duality of some inflammatory molecules and their involvement in bone homeostasis in RA. There are also unmet needs like clinical studies that correlate these findings and identify prognostic factors capable of helping

in decision-making and in the monitoring and treatment of these patients.

Finally, we must be optimistic as biological therapies developed in recent years make it possible to reverse part of the negative effects of RA on bone and even seem to reduce the risk of osteoporotic fractures.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

All the authors have contributed to the design, interpretation of data, writing, and supervision of the final version of this manuscript.

FUNDING

This work was supported by Grant Nos. FIS-PII2-01578 and RD16/0012/0011, from the Ministerio de Economía y

Competitividad (Instituto de Salud Carlos III, ISCIII) and cofinanced by funding from the Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER). As well, the manuscript has been partially funded by an unrestricted grant from PFIZER, Spain, which has not participated in the analysis nor interpretation of the data here presented or in the other referenced works related to this topic.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank Teresa Velasco, nurse of the early arthritis clinic, Ana Triguero Martínez and Nuria Montes for her technical support, and Dr. Esther F. Vicente-Rabaneda and Manuel Gómez (PhD) for her valuable comments and constructive criticism.

REFERENCES

- McInnes IB, Schett G. Pathogenetic insights from the treatment of rheumatoid arthritis. *Lancet*. (2017) 389:2328–37. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31472-1
- Seoane-Mato D, Sánchez-Piedra C, Silva-Fernández L, Sivera F, Blanco FJ, Pérez Ruiz F, et al. Prevalence of rheumatic diseases in adult population in Spain (EPISER 2016 study): aims and methodology. Prevalencia de enfermedades reumáticas en población adulta en España (estudio EPISER 2016). *Objetivos y metodología*. *Reumatol Clin*. (2019) 15:90–6. doi: 10.1016/j.reuma.2017.06.009
- Wade SW, Strader C, Fitzpatrick LA, Anthony MS, O'Malley CD. Estimating prevalence of osteoporosis: examples from industrialized countries. *Arch Osteoporos*. (2014) 9:182. doi: 10.1007/s11657-014-0182
- Kanis JA, Cooper C, Rizzoli R, Reginster J-Y, Scientific Advisory Board of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis (ESCEO) and the Committees of Scientific Advisors and National Societies of the International Osteoporosis Foundation (IOF) Osteoporosis International. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int*. (2019) 30:3–44. doi: 10.1007/s00198-018-4704-5
- Díaz Curiel M, García JJ, Carrasco JL, Honorato J, Pérez Cano R, Rapado A, et al. Prevalencia de osteoporosis determinada por densitometría en la población femenina española [Prevalence of osteoporosis assessed by densitometry in the Spanish female population]. *Med Clin*. (2001) 116:86–8. doi: 10.1016/s0025-7753(01)71732-0
- Haugeberg G, Uhlig T, Falch JA, Halse JL, 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. doi: 10.1002/1529-013120000343:3<522::AID-ANR7>3.0.CO;2-Y
- Hauser B, Riches PL, Wilson JF, Horne AE, Ralston SH. Prevalence and clinical prediction of osteoporosis in a contemporary cohort of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. (2014) 53:1759–66. doi: 10.1093/rheumatology/keu162
- Raterman HG, Lems WF. Pharmacological management of osteoporosis in rheumatoid arthritis patients: a review of the literature and practical guide. *Drugs Aging*. (2019) 36:1061–72. doi: 10.1007/s40266-019-00714-4
- Jin S, Hsieh E, Peng L, Yu C, Wang Y, Wu C, et al. Incidence of fractures among patients with rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int*. (2018) 29:1263–75. doi: 10.1007/s00198-018-4473-1
- Tong J, Xu S, Zong H, Pan MJ, Teng YZ, Xu JH. Prevalence and risk factors associated with vertebral osteoporotic fractures in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. (2020) 39:357–64. doi: 10.1007/s10067-019-04787-9
- Mohammad A, Lohan D, Bergin D, Mooney S, Newell J, O'Donnell M, et al. The prevalence of vertebral fracture on vertebral fracture assessment imaging in a large cohort of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. (2014) 53:821–7. doi: 10.1093/rheumatology/ket353
- Carmona L, Ortiz AM, Belmonte MA, Martínez-López JA, González-Álvaro I. Development and validation of a new disease activity index as a numerical sum of four variables in patients with early arthritis. *Arthritis Care Res*. (2013) 65:518–25. doi: 10.1002/acr.21854
- Adami G, Saag KG. Osteoporosis pathophysiology, epidemiology, and screening in rheumatoid arthritis. *Curr Rheumatol Rep*. (2019) 21:34. doi: 10.1007/s11926-019-0836-7
- Haugeberg G, Green MJ, Quinn MA, Marzo-Ortega H, Proudman S, Karim Z, et al. Hand bone loss in early undifferentiated arthritis: evaluating bone mineral density loss before the development of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. (2006) 65:736–40. doi: 10.1136/ard.2005.043869
- Lindner L, Callhoff J, Alten R, Krause A, Ochs W, Zink A, et al. Osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis: trends in the German National Database 2007–2017. *Rheumatol Int*. (2020) 12:2005–12. doi: 10.1007/s00296-020-04593-6
- Gong X, Xu SQ, Tong H, Wang XR, Zong HX, Pan MJ, et al. Correlation between systemic osteoporosis and local bone erosion with rheumatoid arthritis patients in Chinese population. *Rheumatology*. (2019) 58:1443–52. doi: 10.1093/rheumatology/kez042
- Cheng TT, Yu SF, Su FM, Chen YC, Su BY, Chiu WC, et al. Anti-CCP-positive patients with RA have a higher 10-year probability of fracture evaluated by FRAX®: a registry study of RA with osteoporosis/fracture. *Arthritis Res Ther*. (2018) 20:16. doi: 10.1186/s13075-018-1515-1
- Aeberli D, Schett G. Cortical remodeling during menopause, rheumatoid arthritis, glucocorticoid and bisphosphonate therapy. *Arthritis Res Ther*. (2013) 15:208. doi: 10.1186/ar4180
- García-Magallón B, Silva-Fernández L, Andreu-Sánchez JL. Update on the use of steroids in rheumatoid arthritis. *Reumatol Clin*. (2013) 9:297–302. doi: 10.1016/j.reuma.2013.01.010
- Fenton CG, Webster JM, Martin CS, Fareed S, Wehmeyer C, Mackie H, et al. Therapeutic glucocorticoids prevent bone loss but drive muscle wasting when administered in chronic polyarthritis. *Arthritis Res Ther*. (2019) 21:182. doi: 10.1186/s13075-019-1962-3
- Ibañez M, Ortiz AM, Castrejón I, García-Vadillo JA, Carvajal I, Castañeda S, et al. A rational use of glucocorticoids in patients with early arthritis has a minimal impact on bone mass. *Arthritis Res Ther*. (2010) 12:R50. doi: 10.1186/ar2961
- Ozen G, Pedro S, Wolfe F, Michaud K. Medications associated with fracture risk in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. (2019) 78:1041–7. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-215328

23. Wang Y, Zhao R, Gu Z, Dong C, Guo G, Li L. Effects of glucocorticoids on osteoporosis in rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int.* (2020) 31:1401–9. doi: 10.1007/s00198-020-05360-w
24. Kendler DL, Marin F, Geusens P, López-Romero P, Lespessailles E, Body JJ, et al. Psychotropic medications and proton pump inhibitors and the risk of fractures in the teriparatide versus risedronate VERO clinical trial. *Bone.* (2020) 130:115113. doi: 10.1016/j.bone.2019.115113
25. Arboleya L, Castañeda S. Osteoimmunology: the study of the relationship between the immune system and bone tissue. *Reumatol Clin.* (2013) 9:303–15. doi: 10.1016/j.reuma.2013.02.008
26. Komatsu N, Takayanagi H. Immune-bone interplay in the structural damage in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol.* (2018) 194:1–8. doi: 10.1111/cei.13188
27. Fang Q, Zhou C, Nandakumar KS. Molecular and cellular pathways contributing to joint damage in rheumatoid arthritis. *Mediators Inflamm.* (2020) 2020:3830212. doi: 10.1155/2020/3830212
28. Takayanagi H. Osteoimmunology – Bidirectional dialogue and inevitable union of the fields of bone and immunity. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* (2020) 96:159–69. doi: 10.2183/pjab.96.013
29. Guder C, Gravius S, Burger C, Wirtz DC, Schildberg FA. Osteoimmunology: a current update of the interplay between bone and the immune system. *Front Immunol.* (2020) 11:58. doi: 10.3389/fimmu.2020.00058
30. Arron JR, Choi Y. Bone versus immune system. *Nature.* (2000) 408:535–6. doi: 10.1038/35046196
31. Gravalles EM, Harada Y, Wang JT, Gorn AH, Thornhill TS, Goldring SR. Identification of cell types responsible for bone resorption in rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis. *Am J Pathol.* (1998) 152:943–51.
32. Tanaka S, Takahashi N, Udagawa N, Tamura T, Akatsu T, Stanley ER, et al. M-CSF is indispensable for both proliferation and differentiation of osteoclast progenitors. *J Clin Invest.* (1993) 91:257–63.
33. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Lüthy R, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell.* (1997) 89:309–19. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80209-3
34. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell.* (1998) 93:165–76. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81569-x
35. Gravalles EM, Manning C, Tsay A, Naito A, Pan C, Amento E, et al. Synovial tissue in rheumatoid arthritis is a source of osteoclast differentiation factor. *Arthritis Rheum.* (2000) 43:250–8. doi: 10.1002/1529-013120000243:2<250::AID-ANR3>3.0.CO;2-P
36. Kotake S, Udagawa N, Hakoda M, Mogi M, Yano K, Tsuda E, et al. Activated human T cells directly induce osteoclastogenesis from human monocytes: possible role of T cells in bone destruction in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum.* (2001) 44:1003–12. doi: 10.1002/1529-013120010544:5<1003::AID-ANR179>3.0.CO;2-#
37. Danks L, Komatsu N, Guerrini MM, Sawa S, Armaka M, Kollias G, et al. RANKL expressed on synovial fibroblasts is primarily responsible for bone erosions during joint inflammation. *Ann Rheum Dis.* (2014) 75:1187–95. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-207137
38. Takayanagi H, Iizuka H, Juji T, Nakagawa T, Yamamoto A, Miyazaki T, et al. Involvement of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand/osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis from synoviocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* (2000) 43:259–69. doi: 10.1002/1529-013120000243:2<259::AID-ANR4>3.0.CO;2-W
39. Srivastava RK, Dar HY, Mishra PK. Immunoporosis: immunology of osteoporosis-role of T cells. *Front Immunol.* (2018) 9:657. doi: 10.3389/fimmu.2018.00657
40. Zaiss MM, Frey B, Hess A, Zwerina J, Luther J, Nimmerjahn F, et al. Regulatory T cells protect from local and systemic bone destruction in arthritis. *J Immunol.* (2010) 184:7238–46. doi: 10.4049/jimmunol.0903841
41. Sato K, Suematsu A, Okamoto K, Yamaguchi A, Morishita Y, Kadono Y, et al. Th17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. *J Exp Med.* (2006) 203:2673–82. doi: 10.1084/jem.20061775
42. Raphael I, Nalawade S, Eagar TN, Forsthuber TG. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases. *Cytokine.* (2015) 74:5–17. doi: 10.1016/j.cyto.2014.09.011
43. Kotake S, Udagawa N, Takahashi N, Matsuzaki K, Itoh K, Ishiyama S, et al. IL-17 in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis is a potent stimulator of osteoclastogenesis. *J Clin Invest.* (1999) 103:1345–52. doi: 10.1172/JCI5703
44. Dokoupilová E, Aelion J, Takeuchi T, Malavolta N, Sfrikakis PP, Wang Y, et al. Secukinumab after anti-tumour necrosis factor- α therapy: a phase III study in active rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* (2018) 47:276–81. doi: 10.1080/03009742.2017.1390605
45. Meednu N, Zhang H, Owen T, Sun W, Wang V, Cistrone C, et al. Production of RANKL by memory B cells: a link between B Cells and bone erosion in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatol.* (2016) 68:805–16. doi: 10.1002/art.39489
46. Osta B, Benedetti G, Miossec P. Classical and paradoxical effects of TNF- α on bone homeostasis. *Front Immunol.* (2014) 5:48. doi: 10.3389/fimmu.2014.00048
47. Gilbert L, He X, Farmer P, Boden S, Kozlowski M, Rubin J, et al. Inhibition of osteoblast differentiation by tumor necrosis factor- α . *Endocrinology.* (2000) 141:3956–64. doi: 10.1210/endo.141.11.7739
48. Yu RY, Zeng BJ, Liu YS, Zhou YS. Recombinant human tumor necrosis factor- α promotes human adipose-derived stromal cells transforming into osteoblast in vitro. *Beijing Da Xue Xue Bao.* (2012) 44:475–80. doi: 10.3969/j.issn
49. Marotte H, Pallot-Prades B, Grange L, Gaudin P, Alexandre C, Miossec P. A 1-year case-control study in patients with rheumatoid arthritis indicates prevention of loss of bone mineral density in both responders and nonresponders to infliximab. *Arthritis Res Ther.* (2007) 9:R61. doi: 10.1186/ar2219
50. Houssiau FA, Devogelaer JP, Van Damme J, De Deuxchaisnes CN, Van Snick J. Interleukin-6 in synovial fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides. *Arthritis Rheum.* (1988) 31:784–8. doi: 10.1002/art.1780310614
51. Abdel Meguid MH, Hamad YH, Swilam RS, Barakat MS. Relation of interleukin-6 in rheumatoid arthritis patients to systemic bone loss and structural bone damage. *Rheumatol Int.* (2013) 33:697–703. doi: 10.1007/s00296-012-2375-7
52. Hashizume M, Hayakawa N, Mihara M. IL-6 trans-signalling directly induces RANKL on fibroblast-like synovial cells and is involved in RANKL induction by TNF- α and IL-17. *Rheumatology.* (2008) 47:1635–40. doi: 10.1093/rheumatology/ken363
53. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature.* (2006) 441:235–8. doi: 10.1038/nature04753
54. Taguchi Y, Yamamoto M, Yamate T, Lin SC, Mocharla H, DeTogni P, et al. Interleukin-6-type cytokines stimulate mesenchymal progenitor differentiation toward the osteoblastic lineage. *Proc Assoc Am Physicians.* (1998) 110:559–74.
55. Malaval L, Liu F, Vernallis AB, Aubin JE. GP130/OSMR is the only LIF/IL-6 family receptor complex to promote osteoblast differentiation of calvaria progenitors. *J Cell Physiol.* (2005) 204:585–93. doi: 10.1002/jcp.20312
56. Nishimoto N, Hashimoto J, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, et al. Study of active controlled monotherapy used for rheumatoid arthritis, an IL-6 inhibitor (SAMURAI): evidence of clinical and radiographic benefit from an x ray reader-blinded randomised controlled trial of tocilizumab. *Ann Rheum Dis.* (2007) 66:1162–7. doi: 10.1136/ard.2006.068064
57. Kong YY, Feige U, Sarosi I, Bolon B, Tafuri A, Morony S, et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature.* (1999) 402:304–9. doi: 10.1038/46303
58. Cohen SB, Dore RK, Lane NE, Ory PA, Peterfy CG, Sharp JT, et al. Denosumab treatment effects on structural damage, bone mineral density, and bone turnover in rheumatoid arthritis: a twelve-month, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, phase II clinical trial. *Arthritis Rheum.* (2008) 58:1299–309. doi: 10.1002/art.23417
59. Dodds RA, James IE, Rieman D, Ahern R, Hwang SM, Connor JR, et al. Human osteoclast cathepsin K is processed intracellularly prior to attachment and bone resorption. *J Bone Miner Res.* (2001) 16:478–86. doi: 10.1359/jbmr.2001.16.3.478
60. Skoumal M, Haberhauer G, Kolarz G, Hawa G, Woloszczuk W, Klingler A. Serum cathepsin K levels of patients with longstanding rheumatoid

- arthritis: correlation with radiological destruction. *Arthritis Res Ther.* (2005) 7:R65–70. doi: 10.1186/ar1461
61. Hao L, Zhu G, Lu Y, Wang M, Jules J, Zhou X, et al. Deficiency of cathepsin K prevents inflammation and bone erosion in rheumatoid arthritis and periodontitis and reveals its shared osteoimmune role. *FEBS Lett.* (2015) 589:1331–9. doi: 10.1016/j.febslet.2015.04.008
 62. Bafico A, Liu G, Yaniv A, Gazit A, Aaronson SA. Novel mechanism of Wnt signalling inhibition mediated by Dickkopf-1 interaction with LRP6/Arrow. *Nat Cell Biol.* (2001) 3:683–6. doi: 10.1038/35083081
 63. Miao CG, Yang YY, He X, Li XF, Huang C, Huang Y, et al. Wnt signaling pathway in rheumatoid arthritis, with special emphasis on the different roles in synovial inflammation and bone remodeling. *Cell Signal.* (2013) 25:2069–78. doi: 10.1016/j.cellsig.2013.04.002
 64. Garnero P, Tabassi NC-B, Voorzanger-Rousselot N. Circulating dickkopf-1 and radiological progression in patients with early rheumatoid arthritis treated with etanercept. *J Rheumatol.* (2008) 35:2313–5. doi: 10.3899/jrheum.080356
 65. 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. doi: 10.1038/nm1538
 66. Chen XX, Baum W, Dwyer D, Stock M, Schwabe K, Ke H-Z, et al. Sclerostin inhibition reverses systemic, periarticular and local bone loss in arthritis. *Ann Rheum Dis.* (2013) 72:1732–6. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-203345
 67. Wehmeyer C, Frank S, Beckmann D, Böttcher M, Cromme C, König U, et al. Sclerostin inhibition promotes TNF-dependent inflammatory joint destruction. *Sci Transl Med.* (2016) 8:330ra35. doi: 10.1126/scitranslmed.aac4351
 68. Van der Heijde DM. Radiographic imaging: the ‘gold standard’ for assessment of disease progression in rheumatoid arthritis. *Rheumatology.* (2000) 39(Suppl. 1):9–16. doi: 10.1093/oxfordjournals.rheumatology.a031496
 69. Rossini M, Bagnato G, Frediani B, Iagnocco A, Montagna GLA, Minisola G, et al. Relationship of focal erosions, bone mineral density, and parathyroid hormone in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* (2011) 38:997–1002. doi: 10.3899/jrheum.100829
 70. Kokkonen H, Mullazehi M, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Ronnelid J, et al. Antibodies of IgG, IgA and IgM isotypes against cyclic citrullinated peptide precede the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* (2011) 13:R13. doi: 10.1186/ar3237
 71. Harre U, Georgess D, Bang H, Bozec A, Axmann R, Ossipova E, et al. Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin. *J Clin Invest.* (2012) 122:1791–802. doi: 10.1172/JCI60975
 72. Krishnamurthy A, Joshua V, Haj HA, Jin T, Sun M, Vivar N, et al. Identification of a novel chemokine-dependent molecular mechanism underlying rheumatoid arthritis associated autoantibody-mediated bone loss. *Ann Rheum Dis.* (2016) 75:721–9. doi: 10.1136/annrheumdis-2015-208093
 73. Steffen U, Schett G, Bozec A. How autoantibodies regulate osteoclast induced bone loss in rheumatoid arthritis. *Front Immunol.* (2019) 10:1483. doi: 10.3389/fimmu.2019.01483
 74. Malmstrom V, Catrina AI, Klareskog L. The immunopathogenesis of seropositive rheumatoid arthritis: from triggering to targeting. *Nat Rev Immunol.* (2017) 17:60–75. doi: 10.1038/nri.2016.124
 75. Kleyer A, Finzel S, Rech J, Manger B, Krieter M, Faustini F, et al. Bone loss before the clinical onset of rheumatoid arthritis in subjects with anticitrullinated protein antibodies. *Ann Rheum Dis.* (2014) 73:854–60. doi: 10.1136/annrheumdis-2012-202958
 76. Llorente I, Merino L, Ortiz AM, Escolano E, González-Ortega S, García-Vicuña R, et al. Anti-citrullinated protein antibodies are associated with decreased bone mineral density: baseline data from a register of early arthritis patients. *Rheumatol Int.* (2017) 37:799–806. doi: 10.1007/s00296-017-3674-9
 77. Castañeda S, Llorente I, García-Vicuña R, González-Álvaro I. Anti-citrullinated protein antibodies and bone loss in patients with early arthritis: comment on the article “Anti-citrullinated protein antibodies and high levels of rheumatoid factor are associated with systemic bone loss in patients with early untreated rheumatoid arthritis” by Bugatti et al. *Arthritis Res Ther.* (2017) 19:152. doi: 10.1186/s13075-017-1362-5
 78. Bugatti S, Bogliolo L, Vitolo B, Manzo A, Montecucco C, Caporali R. Anti-citrullinated protein antibodies and high levels of rheumatoid factor are associated with systemic bone loss in patients with early untreated rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* (2016) 18:226. doi: 10.1186/s13075-016-1116-9
 79. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO 3rd, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* (2010) 62:2569–581. doi: 10.1002/art.27584
 80. Shi J, Knevel R, Suwannaalai P, van der Linden MP, Janssen GM, van Veelen PA, et al. Autoantibodies recognizing carbamylated proteins are present in sera of patients with rheumatoid arthritis and predict joint damage. *Proc Natl Acad Sci USA.* (2011) 108:17372–7. doi: 10.1073/pnas.1114465108
 81. Regueiro C, Ortiz AM, Boveda MD, Castañeda S, González-Alvaro I, Gonzalez A. Association of high titers of anti-carbamylated protein antibodies with decreased bone mineral density in early arthritis patients. *PLoS ONE.* (2018) 13:e0202583. doi: 10.1371/journal.pone.0202583
 82. Smolen JS, Landewé RBM, Bijlsma JWJ, Burmester GR, Dougados M, Kerschbaumer A, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2019 update *Annals of the Rheumatic Diseases.* *Ann Rheum Dis.* (2020) 79:685–99. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-216655
 83. Toledano E, Ortiz AM, Ivorra-Cortes J, Montes N, Beltran A, Rodriguez-Rodriguez L, et al. Are rheumatologists adhering to the concepts window of opportunity and treat-to-target? Earlier and more intense disease-modifying anti-rheumatic drug treatment over time in patients with early arthritis in the PEARL study. *Clin Exp Rheumatol.* (2018) 36:382–8.
 84. Haugeberg G, Lodder MC, Lems WF, Uhlig T, Ørstavik RE, Dijkmans BA, et al. Hand cortical bone mass and its associations with radiographic joint damage and fractures in 50–70 year old female patients with rheumatoid arthritis: cross sectional Oslo–Truro–Amsterdam (OSTRA) collaborative study. *Ann Rheum Dis.* (2004) 63:1331–4. doi: 10.1136/ard.2003.015065
 85. Book C, Algulini J, Nilsson JA, Saxne T, Jacobsson L. Bone mineral density in the hand as a predictor for mortality in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology.* (2017) 48:1088–91. doi: 10.1093/rheumatology/kep169
 86. Ahmad HA, Alemao E, Guo Z, Iannaccone CK, Frits ML, Weinblatt M, et al. Association of low bone mineral density with anti-citrullinated protein antibody positivity and disease activity in established rheumatoid arthritis: findings from a US observational cohort. *Adv Ther.* (2018) 35:232–42. doi: 10.1007/s12325-017-0657-x
 87. Llorente I, Merino L, Escolano E, Quintanilla DM, García-Vadillo JA, González-Alvaro I, et al. Reproducibility of metacarpal bone mineral density measurements obtained by dual-energy x-ray absorptiometry in healthy volunteers and patients with early arthritis. *J Clin Densitom.* (2019). doi: 10.1016/j.jocd.2019.02.006
 88. Llorente I, González S, Escolano E, Ortiz A, García-Vadillo A, González-Álvaro I, et al. FRI0494 correlation of metacarpal bone mass measured either by dual X-Ray densitometry or digital X-Ray radiogrammetry with severity outcomes in patients with early arthritis. *Ann Rheum Dis.* (2019) 78(Suppl. 2):A942. doi: 10.1136/annrheumdis-2019-eular.6271
 89. Lange U, Teichmann J, Müller-Ladner U, Strunk J. Increase in bone mineral density of patients with rheumatoid arthritis treated with anti-TNF- α antibody: a prospective open-label pilot study. *Rheumatology.* (2005) 44:1546–8. doi: 10.1093/rheumatology/kei082
 90. Orsolini G, Fassio A, Rossini M, Adami G, Giollo A, Caimmi C, et al. Effects of biological and targeted synthetic DMARDs on bone loss in rheumatoid arthritis. *Pharmacol Res.* (2019) 147:104354. doi: 10.1016/j.phrs.2019.104354
 91. Seriole B, Paolino S, Sulli A, Ferretti V, Cutolo M. Bone metabolism changes during anti-TNF-alpha therapy in patients with active rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci.* (2006) 1069:420–7. doi: 10.1196/annals.1351.040
 92. Fassio A, Adami G, Gatti D, Orsolini G, Giollo A, Idolazzi L, et al. Inhibition of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in patients with early rheumatoid arthritis results in acute changes of bone modulators. *Int Immunopharmacol.* (2019) 67:487–9. doi: 10.1016/j.intimp.2018.12.050
 93. 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) 32:593–600. doi: 10.1007/s00774-013-0535-9

94. Torikai E, Kageyama Y, Takahashi M, Suzuki M, Ichikawa T, Nagafusa T, et al. The effect of infliximab on bone metabolism markers in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. (2006) 45:761–4. doi: 10.1093/rheumatology/kei280
95. Szentpetery A, McKenna MJ, Murray BF, Ng CT, Brady JJ, Morrin M, et al. Periarticular bone gain at proximal interphalangeal joints and changes in bone turnover markers in response to tumor necrosis factor inhibitors in rheumatoid and psoriatic arthritis. *J Rheumatol*. (2013) 40:653–62. doi: 10.3899/jrheum.120397
96. Gengenbacher M, Sebald HJ, Villiger PM, Hofstetter W, Seitz M. Infliximab inhibits bone resorption by circulating osteoclast precursor cells in patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. (2008) 67:620–4. doi: 10.1136/ard.2007.076711
97. Chen YM, Chen HH, Huang WN, Liao TL, Chen JP, Chao WC, et al. Tocilizumab potentially prevents bone loss in patients with anticitrullinated protein antibody-positive rheumatoid arthritis. *PLoS ONE*. (2017) 12:e0188454. doi: 10.1371/journal.pone.0188454
98. Tada M, Inui K, Sugioka Y, Mamoto K, Okano T, Koike T. Abatacept might increase bone mineral density at femoral neck for patients with rheumatoid arthritis in clinical practice: airtight study. *Rheumatol Int*. (2018) 38:777–84. doi: 10.1007/s00296-017-3922-z
99. Tascioglu F, Oner C, Armagan O. The effect of low-dose methotrexate on bone mineral density in patients with early rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*. (2003) 23:231–5. doi: 10.1007/s00296-003-0298-z
100. Kwon OC, Oh JS, Hong S, Lee CK, Yoo B, Kim YG. Conventional synthetic disease-modifying antirheumatic drugs and bone mineral density in rheumatoid arthritis patients with osteoporosis: possible beneficial effect of leflunomide. *Clin Exp Rheumatol*. (2019) 37:813–9.

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2020 Llorente, García-Castañeda, Valero, González-Álvaro and Castañeda. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Anti-citrullinated protein antibodies are associated with decreased bone mineral density: baseline data from a register of early arthritis patients

Irene Llorente¹ · Leticia Merino^{1,3} · Ana M. Ortiz¹ · Eugenio Escolano² · Saturnino González-Ortega² · Rosario García-Vicuña¹ · Jesús A. García-Vadillo¹ · Santos Castañeda¹ · Isidoro González-Álvaro¹

Received: 25 October 2016 / Accepted: 3 February 2017 / Published online: 27 February 2017
© The Author(s) 2017. This article is published with open access at Springerlink.com

Abstract Since the previous studies showed that anti-citrullinated protein antibodies (ACPA) can induce osteoclasts differentiation and activation, even before arthritis onset, the aim of our study was to determine whether ACPA-positivity is associated with lower bone mineral density (BMD) at baseline visit of a register of early arthritis (EA) patients. The study population comprised 578 patients (80% females) from our EA clinic with a median disease duration, 5.1 months (p25–p75: 6–8); median age, 53.6 years (41.9–66.1), 38% ACPA-positive, and 55% fulfilling 2010 criteria for rheumatoid arthritis. BMD was measured using dual X-ray absorptiometry at lumbar spine, hip, and metacarpophalangeal (MCP) joints of the non-dominant hand to evaluate both systemic and juxta-articular bone mass. ACPA titers were determined through enzyme immunoassay. The effect of ACPA on BMD was analyzed using multivariable analysis based on generalized linear models adjusted for various confounders. ACPA-positive patients showed lower bone mass at lumbar spine and

hip, but no differences were observed at MCP joints compared to ACPA-negative patients. However, ACPA-positive patients displayed higher disease activity and disability than ACPA-negative patients. After adjustment for gender, age, body mass index, and other bone-related variables, the presence of ACPA remained significantly associated with lower BMD at the lumbar spine, femoral neck, and hip but not at MCP joints. Disease activity was not associated with baseline bone mass. Our data reinforce the previous preclinical findings suggesting that the systemic bone loss detected at the initial phases of early ACPA-positive arthritis is independent of inflammatory status and, therefore, could be mediated by ACPA.

Keywords Rheumatoid arthritis · Bone mineral density · Autoantibodies · Autoimmunity

Introduction

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic inflammatory disease characterized by persistent inflammation of the synovial membrane and joint destruction, bone loss, and systemic complications. Skeletal changes in RA include juxta-articular bone erosions, periarticular bone loss, and systemic osteoporosis [1, 2]. Until a few years ago, rheumatologists assumed that osteoporosis in RA was mainly derived from chronic inflammation, use of glucocorticoids or some disease-modifying anti-rheumatic drugs (DMARDs), and immobilization. However, in the light of current knowledge, bone destruction in arthritis seems to be caused by two main mechanisms: inflammation and autoimmunity [2, 3].

Pro-inflammatory cytokines such as TNF- α , IL-1, IL-6, and IL-8 enhance the proliferation and differentiation of the

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s00296-017-3674-9) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Santos Castañeda
scastas@gmail.com

✉ Isidoro González-Álvaro
isidoro.ga@ser.es

¹ Rheumatology Department, Hospital Universitario de La Princesa, IIS-Princesa, C/ Diego de León 62, 28006 Madrid, Spain

² Radiology Department, Hospital Universitario de La Princesa, IIS-Princesa, Madrid, Spain

³ Present Address: Rheumatology Department, Hospital San Pedro, Logroño, Spain

monocyte-macrophage lineage, increasing the population of mature osteoclasts [2, 4, 5]. Indeed, the existence of an inflammatory microenvironment from the earliest stages of RA had been proposed to be responsible for the appearance of bone erosions and systemic osteoporosis in these phases of the disease [1, 6].

On the other hand, the presence of rheumatoid factor (RF) and, especially, anti-citrullinated protein autoantibodies (ACPA) is another important risk factor for the development of bone erosions and osteoporosis in RA [2, 3, 7]. In this regard, ACPA can be detected up to 5–10 years before clinical synovitis develops and, especially those with anti-citrullinated vimentin and enolase specificities, have been described to induce formation and activation of osteoclasts *in vitro* and in a mouse model [5, 8]. In fact, Kleyer et al. have recently demonstrated a decrease in cortical bone mass in a limited population of healthy ACPA-positive subjects without any joint symptom [9].

These interesting data suggest that the presence of ACPA could partially explain the bone loss detected in the initial phases of chronic inflammatory arthritis. Thus, in this work, we analyzed whether the presence of ACPA is associated with differences in bone mineral density (BMD) at hip and lumbar spine to assess systemic bone density and at metacarpophalangeal (MCP) joints to measure juxta-articular bone mass in patients referred to our Early Arthritis Clinic.

Methods

Patients

A cross-sectional study was performed in 578 patients with suspected early arthritis submitted to the Princesa Early Arthritis Register Longitudinal (PEARL) study, which started in 2001 and in which data are recorded by protocol at five structured visits (baseline, 6, 12, 24, and 60 months). The information registered includes, age, gender, race, disease duration at the beginning of follow-up, smoking status, menopause, family history of RA; therapies received and cumulative prednisone dose at recruitment; global disease activity on a 100-mm visual analogue scale assessed by both the patient and the physician; number of swollen and tender joints (28-joint count), and the score of the Spanish version of the Health Assessment Questionnaire [10]. Laboratory tests include blood cell counts, general biochemistry, erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP), rheumatoid factor (RF; measured by nephelometry, positive >20 IU/ml), and anti-citrullinated peptide antibodies (ACPA; assessed by enzyme immunoassay, see below). For this study, disease activity was estimated using the 28-joint disease activity score (DAS28)

calculated with the ESR [11] and the Hospital Universitario de La Princesa Index (HUPI) [12], that is an index for the assessment of disease activity in chronic polyarthritis that includes the same domains as DAS28 and SDAI but corrected by gender when considering tender joint count and erythrocyte sedimentation rate (ESR). HUPI is calculated as the sum of four variables (graded 0–3): 28 tender and swollen joint counts, global disease assessment by physician and acute phase reactants. The score of these variables was based in their quartile distribution in the population used to describe this index [12, 13]. A more detailed description of the PEARL study has been previously published [14].

For this work, we used only information from the baseline visit of patients included in the register from February 2002, when we included BMD measurements in the register protocol, until January 2016.

BMD measurements

BMD was assessed using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) on a Hologic©QDR-4500 Elite (Bedford, MA, USA) at lumbar spine (LS) and hip. Furthermore, in 2004, we started to scan BMD at non-dominant hand to study the effect of joint swelling on juxta-articular bone mass.

Specifically, we analyzed BMD from L2 to L4, total hip (TH) and femoral neck (FN), and at hand, we assessed BMD from second to fifth MCP joints, as previously described [15]. BMD is expressed in g/cm^2 , except for the β coefficients in the multivariable analysis that are expressed in mg/cm^2 to obtain more affordable values.

ACPA and anti-mutated citrullinated vimentin antibodies

ACPA were measured using a second-generation anti-citrullinated cyclic peptide enzyme immunoassay (EIA; Euro-Diagnostica Immunoscans RA; positive >50 U/ml) until October 2010 and then using a third-generation EIA (QUANTA Lite CCP3 IgG and IgA, Inova Diagnostics; positive >40 U/ml). Both methods are EIA, but the third-generation analysis is able to detect IgA ACPA in addition to IgG antibodies, with no other important differences between them. For this study, ACPA levels were classified as negative if below the manufacturer's limit, low if above this limit but below the median of the positive population (500 U/ml for the Euro-diagnostica kit and 350 U/ml for the Quanta Lite Kit) and high when above the median of the positive population.

In addition, we assessed anti-mutated citrullinated vimentin IgG antibodies (MCV-ACPA) through a quantitative EIA (ORG548 anti-MCV, Orgentec Diagnostika GmbH, Mainz, Germany; positive >20 U/ml). MCV-ACPA levels were also clustered as defined above for ACPA.

Ethical statements

PEARL study is conducted according to the principles expressed in the Helsinki Declaration of 1983 and it was approved by the Research Ethics Committee of Hospital Universitario La Princesa. All patients signed a written consent at study entry.

Statistical analysis

The descriptive analysis was performed by calculating the mean and standard deviation (SD) of quantitative variables with a normal distribution. The median and the interquartile range (IQR) were calculated for those variables with no normal distribution. Estimation of the proportions was used to describe qualitative variables. Student's *t* test was applied to compare the means of variables with a normal distribution and Mann–Whitney test used for variables that did not present normal distribution. The χ^2 test was used for qualitative variables.

We first used the *t* test to determine whether the differences in BMD at the different anatomic sites between ACPA-positive and ACPA-negative patients were statistically significant. However, since there were significant differences between ACPA-positive and ACPA-negative populations in variables that can influence BMD (Table 1), we performed a multivariable analysis through generalized linear models using the *glm* command of Stata 12.1

for Windows (Stata Corp LP, College Station, TX, USA) for each location. Variables that were different between the two populations (Table 1) as well as those considered relevant to explain BMD (age, body mass index [BMI], smoking, disease activity, and cumulative prednisone dose at baseline) were included in the initial models. The final models were obtained through manual stepwise backward elimination of variables by means of the Bayesian information criterion, removing all variables with $p > 0.15$. The only exception was ACPA status, which was maintained in all the models, even though it did not reach a $p \leq 0.15$. We also performed a sensitivity analysis by repeating the multivariable analysis both in the population fulfilling the 2010 RA criteria and in patients who did not meet these criteria separately [16].

Significance was set to $p < 0.0125$ due to multiple comparisons in the bivariate analysis and to $p < 0.05$ in the multivariable analysis, since the latter approach ensures enough adjustment to avoid associations by chance.

Results

Differences between ACPA-positive and ACPA-negative patients

More ACPA-positive than ACPA-negative patients fulfilled the 2010 RA criteria [16] (Table 1). Patients not fulfilling

Table 1 Characteristics of the population

	Total (<i>n</i> = 578)	ACPA+ (<i>n</i> = 220)	ACPA− (<i>n</i> = 358)	<i>p</i>
Female, <i>n</i> (%)	458 (79.2)	187 (85.0)	271 (75.7)	0.007
Age (years; p50 [IQR])	53.6 [41.9–66.3]	52.5 [42.0–64.0]	54.1 [41.8–67.3]	0.409
Smoking, <i>n</i> (%)				
Never	322 (55.7)	113 (51.4)	209 (58.3)	0.272
Ever	127 (22.0)	52 (23.6)	75 (21.0)	
Current	129 (22.3)	55 (25.0)	74 (20.7)	
BMI (p50 [IQR])	26.0 [23.0–29.1]	25.0 [22.5–28.9]	26.4 [23.5–29.3]	0.005
Menopause (%) no/yes/NA	60.1/37.6/2.3	58.1/38.8/3.1	61.2/36.9/1.9	0.548
Prednisone use, <i>n</i> (%)	130 (22.5)	56 (25.4)	74 (20.7)	0.193
Cumulative prednisone dose (mg; p50 [IQR]; mean ± SD)	0 [0–125] 168 ± 445	0 [0–125] 159 ± 436	0 [0–125] 174 ± 451	0.749
Disease duration (months; p50 [IQR])	5.0 [2.8–8.2]	5.5 [3.1–8.8]	4.7 [2.5–7.8]	0.017
2010 RA criteria, <i>n</i> (%)	316 (54.7)	196 (89.1)	120 (33.5)	<0.001
RF, <i>n</i> (%)	254 (43.9)	171 (77.7)	83 (23.2)	<0.001
DAS28(p50 [IQR])	4.1 [3.2–5.4]	4.3 [3.3–5.6]	4.1 [3.1–5.1]	0.054
HUPI	6.5 [9–4]	7 [10–4]	6 [9–4]	0.0230
HAQ(p50 [IQR])	0.875 [1.5–0.375]	0.875 [1.625–0.375]	0.875 [1.5–0.375]	0.795
Swollen MCP (2nd to 4th; p50 [IQR])	0 [0–1]	1 [0–2]	0 [0–1]	0.004

n number, *IQR* interquartile range, *ACPA* anti-citrullinated protein antibodies, *p50* 50th percentile or median, *SD* standard deviation, *BMI* body mass index, *NA* not available, *RA* rheumatoid arthritis, *RF* rheumatoid factor, *DAS28* disease activity score based on a 28-joint count, *HUPI* Hospital Universitario La Princesa Index, *HAQ* Health Assessment Questionnaire, *MCP* metacarpophalangeal joints

these criteria suffered from undifferentiated arthritis (UA, 65.8%), spondyloarthropathies (8.9%), osteoarthritis (8.5%), connective tissue disorders (4.3%), and miscellaneous conditions (e.g., gout or viral arthritis) (22.5%). RF positivity, female gender, longer disease duration, lower BMI, and swollen MCP joints were also significantly more frequent in ACPA-positive patients (Table 1). In addition, this population showed a higher disease activity that reached statistical significance with HUPI and was almost significant when estimated by DAS28 (Table 1). Differences in the percentage of patients treated with glucocorticoids and the cumulative prednisone dose used were not significant (Table 1).

ACPA-positive patients show lower systemic BMD than ACPA-negative

ACPA-positive patients showed significantly lower unadjusted BMD at LS as well as at TH and FN (Fig. 1a–c). No significant differences were observed for the MCP joints (Fig. 1d). To determine whether differences in BMD between ACPA-positive and negative patients were a true effect of the autoantibodies or a bias related to differences in the characteristics of both populations, we fitted a multivariable analysis. In addition, we included in the model other variables that are known to have an influence on BMD, such as menopausal status, age, BMI, or cumulative glucocorticoid dose at the time of BMD measurement.

As expected, variability in BMD was significantly associated with gender, age, menopause, and BMI (Table 2). After adjustment for these variables, ACPA-positivity remained as an independent variable associated with lower values of BMD at LS, FN, and TH (Table 2).

Disease duration at baseline, fulfillment of 2010 RA criteria, and disease activity, even when estimated with HUPI, that is more accurate than DAS28 [13], were excluded from the final models, since they did not significantly associate with differences in BMD at these locations and did not improve the models (data not shown).

As at the other locations, variations in BMD at MCP joints were explained by gender, age, and BMI (Table 2). Furthermore, fulfillment of 2010 RA criteria was associated with a tendency toward lower BMD at MCP joints (Table 2). Surprisingly, the number of swollen MCP joints at the time of BMD measurement was not associated with lower bone mass at this location (data not shown).

A sensitivity analysis performed separately with the patients fulfilling 2010 RA criteria reproduced the findings described above (Supplementary data).

MCV-ACPA-positivity is associated with lower systemic BMD

Finally, since MCV-ACPA have been associated with activation of osteoclasts and cortical osteoporosis in healthy individuals [9], we tested whether these antibodies were associated with lower BMD. The MCV-ACPA titers correlated significantly with ACPA levels (Fig. 2a). In addition, when we split our population according to MCV-ACPA status, BMD showed a pattern similar to that of ACPA (Fig. 2b). After adjustment for confounders, MCV-ACPA-positivity showed a similar tendency toward lower BMD at the same locations as total ACPA (Table 3).

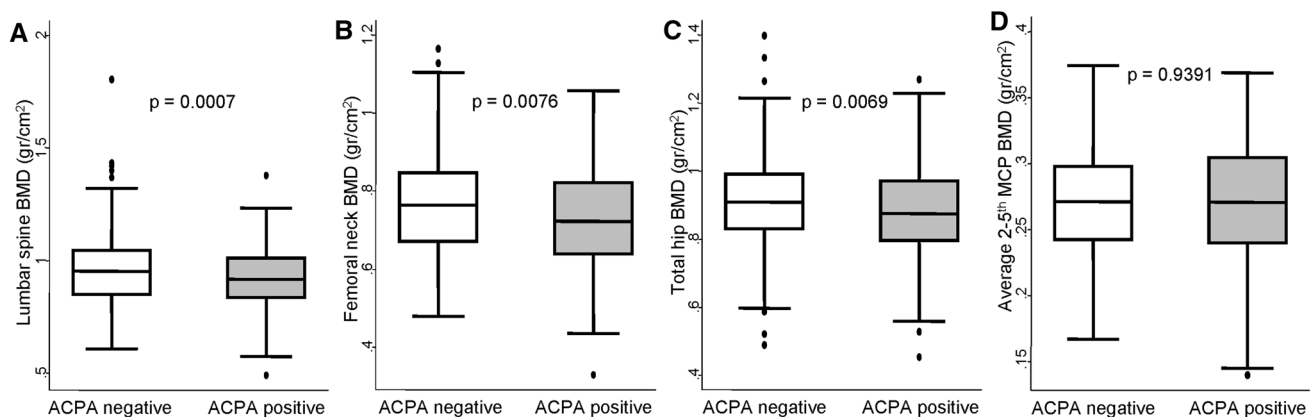


Fig. 1 Systemic bone mineral density in anti-citrullinated protein antibodies (ACPA) positive patients. Panels represent distribution of bone mineral density (BMD) at different locations in patients included in this study: lumbar spine (a), femoral neck (b), total hip (c), and average of second to fifth metacarpophalangeal (MCP) joints

(d). Data are presented as interquartile range (p75 upper edge, p25 lower edge, p50 midline in the box), p95 (line above the box) and p5 (line below the box). Dots represent outliers. Statistical significance was determined using the Mann–Whitney test and set at $p < 0.0125$ for multiple comparisons

Table 2 Effect of ACPA and other variables on bone mineral density (mg/cm²) at lumbar spine, hip, and MCP joints

	Lumbar spine (n = 553)		Femoral neck (n = 566)		Total hip (n = 566)		MCP 2nd–5th (n = 389)	
	β coef. (95% CI)	p	β coef. (95% CI)	p	β coef. (95% CI)	p	β coef. (95% CI)	p
ACPA-positive	-36 (-59; -12)	0.003	-23 (-41; -5)	0.014	-25 (-50; -1)	0.046	2 (-6; 11)	0.572
Female	-32 (-64; 0)	0.053	-25 (-50; 0)	0.051	-64 (-98; -30)	<0.001	-24 (-34; -13)	<0.001
Age (years)								
<45	Ref	–	Ref	–	Ref	–	Ref	–
45–65	-44 (-75; -13)	0.005	-54 (-79; -30)	<0.001	-49 (-82; -16)	0.003	-3 (-13; 7)	0.572
>65	-75 (-110; -40)	<0.001	-134 (-161; -107)	<0.001	-117 (-155; -81)	<0.001	-38 (-49; -27)	<0.001
BMI (kg/m ²)	5 (3; 8)	<0.001	8 (6; 10)	<0.001	10 (8; 13)	<0.001	2 (2; 3)	<0.001
Menopause								
No	Ref	–	Ref	–	Ref	–	Ref	–
Yes	-69 (-99; -39)	<0.001	-53 (-77; -30)	<0.001	-50 (-81; -18)	0.002	-21 (-31; -12)	<0.001
Not available	-91 (-166; -17)	0.016	-35 (-94; 23)	0.238	-11 (-90; 69)	0.782	-25 (-46; -5)	0.014
2010 ACR/ EULAR RA criteria	N.I		N.I		N.I		-8 (-17; 0)	0.050

n number, *coef.* coefficient, *CI* confidence interval, *ACPA* anti-citrullinated protein antibodies, *MCP* metacarpophalangeal joints, *BMI* body mass index, *RA* rheumatoid arthritis, *N.I.* not included

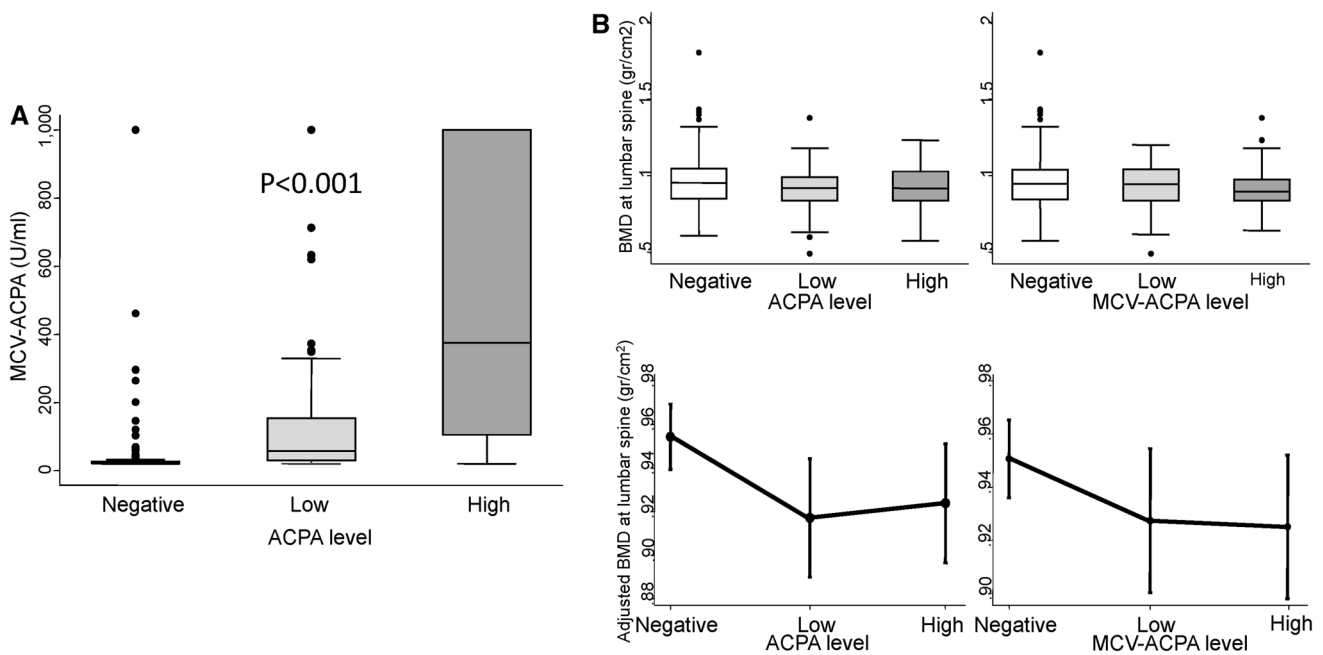


Fig. 2 Correlation and comparative effect of anti-mutated citrullinated vimentin (MCV-ACPA) and anti-citrullinated proteins antibodies (ACPA) on lumbar spine bone mineral density. **a** Correlation between ACPA and MCV-ACPA levels. **b** Distribution of BMD at lumbar spine of patients from the Princessa Early Arthritis Register Longitudinal study according to ACPA levels (*left panels*) or MCV-ACPA levels (*right panels*). Data are presented as interquartile range

(p75 *upper edge*, p25 *lower edge*, p50 *midline*), p95 (*line above the box*), and p5 (*line below the box*) in **a** and upper panels of **b**. *Dots* represent the outliers. Statistical significance was estimated using the Kruskal–Wallis test and was set at $p < 0.05$. In the lower panels of **b**, data are shown as the linear prediction with 95% confidence intervals for BMD at the lumbar spine according to the multivariable analysis (Tables 2, 3)

Table 3 Effect of MCV-ACPA and other variables on bone mineral density (mg/cm²) at lumbar spine, hip, and MCP joints

	Lumbar spine (<i>n</i> = 523)		Femoral neck (<i>n</i> = 537)		Total hip (<i>n</i> = 537)		MCP 2nd–5th (<i>n</i> = 372)	
	β coef. (95% CI)	<i>p</i>	β coef. (95% CI)	<i>p</i>	β coef. (95% CI)	<i>p</i>	β coef. (95% CI)	<i>p</i>
MCV-ACPA level								
Negative	Ref	–	Ref	–	Ref	–	Ref	–
Low	–27 (–58; 4)	0.086	–17 (–40; 7)	0.160	–30 (–54; –5)	0.018	7 (–4; 18)	0.218
High	–30 (–61; 1)	0.059	–9 (–33; 14)	0.447	–2 (–27; 22)	0.865	3 (–9; 13)	0.712
Female	–30 (–65; 6)	0.099	–23 (–50; 4)	0.092	–48 (–77; –20)	0.001	–24 (–35; –13)	<0.001
Age (years)								
<45	Ref	–	Ref	–	Ref	–	Ref	–
45–65	–45 (–77; –12)	0.007	–55 (–80; –30)	<0.001	–31 (–57; –5)	0.021	–5 (–15; 5)	0.331
>65	–68 (–106; –30)	<0.001	–134 (–163; –105)	<0.001	–105 (–135; –75)	<0.001	–40 (–51; –28)	<0.001
BMI (kg/m ²)	5 (3; 8)	<0.001	9 (7; 11)	<0.001	11 (9; 13)	<0.001	2 (2; 3)	<0.001
Menopause								
No	Ref	–	Ref	–	Ref	–	Ref	–
Yes	–75 (–107; –43)	<0.001	–53 (–78; –28)	<0.001	–71 (–97; –45)	<0.001	–19 (–29; –9)	<0.001
Not available	–72 (–146; 1)	0.054	–31 (–86; 24)	0.268	–29 (–86; 29)	0.329	–22 (–41; –3)	0.023
2010 ACR/ EULAR RA criteria	N.I		N.I		N.I		–9 (–19; 0)	0.055

coef coefficient, *CI* confidence interval, *MCV-ACPA* anti-mutated citrullinated vimentin antibodies, *ref.* reference, *BMI* body mass index, *RA* rheumatoid arthritis, *N.I.* not included, *MCP* metacarpophalangeal joints

Discussion

Our results are important, since the previous studies that demonstrated this association were performed in vitro, in mice [5, 8] or in a small population of healthy individuals [9] where the influence of confounders could not be excluded. Recently, Bugatti et al. have published a study performed in a clinical setting demonstrating that the presence of ACPA and high RF levels is associated with lower systemic BMD, but not at juxta-articular bone level, in an early untreated RA population [17].

The higher prevalence of osteoporosis in RA patients than in the healthy general population remains common in the long-term disease [18]. The main explanations for this finding were thought to be the prolonged use of glucocorticoids and the persistent inflammatory activity during follow-up [19]. However, our previous data suggested that glucocorticoids may even have a beneficial effect on BMD when they are used over short periods to resolve inflammation in the early stages of the disease [20]. In that work, we analyzed the effect of disease activity and glucocorticoids in the variation of BMD in patients with RA after 2 years of follow-up. Cumulative disease activity was significantly associated with bone loss at lumbar spine and it showed a trend to significance at hip and ultradistal forearm, but no association was observed at mid forearm which is mainly cortical bone [20]. By contrast, 2 year cumulative dose of glucocorticoids was not associated with any significant

effect on bone mass at hip, lumbar spine or hand [20]. In the present work, we did not observe any association between BMD and glucocorticoid use or disease activity. It is likely that the short disease duration avoids the detection of the deleterious effect of these variables on bone mass.

The presence of ACPA is thought to lead to local and systemic osteoporosis through osteoclasts activation even in the absence of chronic inflammation, although whether this effect is more intense in cortical [21] or trabecular [5] bone remains unclear. Our data support an inflammation-independent effect of ACPA based on the following reasons: (a) BMD measurements were performed early after the onset of arthritis; (b) The variation in BMD was not explained by the intensity of disease activity or disease duration. Nonetheless, this work does not clarify whether ACPA affect mainly cortical or trabecular bone, since the effect observed in our patients was most significant at the hip and LS, where bone mineral content is a mixture of cortical and trabecular bone.

Interestingly, Bugatti et al. found an association between the presence of ACPA and low BMD, defined as Z score ≤ -1 SD, at lumbar spine and total hip, an effect that was reinforced by the presence of high levels of RF [17].

Curiously, in our study, bone loss was more evidently associated with total ACPA than with MCV-ACPA. It may be related to technical issues in detection of MCV-ACPA compared with ACPA, leading to some discordance in their titers (Fig. 2a). However, the most likely explanation is that

antibodies against citrullinated proteins other than vimentin have a similar effect on osteoclasts differentiation and activation. This is the case of anti-citrullinated enolase antibodies that have recently been associated with osteoclasts activation and bone loss in mice [5]. Other ACPA specificities, such as citrullinated fibrinogen or GRP78, induce monocyte or macrophage activation, leading altogether to the notion that ACPA have a pathogenic role in osteoporosis seen in patients with rheumatoid arthritis [22].

In addition, to autoimmunity-induced mechanisms, differences in bone microenvironment between anatomic sites cannot be ruled out. The ability of precursor cells to become mature osteoclasts may be affected by variations in the availability of osteoclasts precursors, the cytokine milieu, and cell–cell interactions [23]. Furthermore, heterogeneity in the phenotype of the resultant osteoclasts can also determine osteoclastogenic pathways with differences in bone resorption [23].

Our study has some limitations. Two different methods have been used to assess ACPA along the 14 years of the PEARL study. We think that considering ACPA as positive or negative or the semi-quantitative method used for normalization of their titers has minimized the impact of this issue. In addition, the method used during the last years was able to detect IgA and IgG ACPAs, whereas the first method only detected IgG. We do not know how this issue could affect our findings; nevertheless, osteoclast activation induced by ACPA has been described to be induced by complete ACPA but also by Fab ACPA, suggesting that this phenomenon is independent of the Fc fragment [8]. Therefore, it is likely that the use of two different methods to determine ACPA in our study had a little impact.

The heterogeneity of the population included could be considered a drawback of our study. However, similar findings were observed when we performed a sensitivity analysis separately in patients fulfilling or not the 2010 RA criteria. On the contrary, we consider that using a mixed population reinforces the effect of ACPA on BMD, since this variable proves to be significant in such a heterogeneous population independently of the clinical diagnosis.

Finally, we lack data on the age of menopause, a relevant variable for bone mineral density, in 2.3% of patients included in the study. There were no significant differences in the percentage of patients with menopause and those with no available information on menopause status between ACPA-positive or ACPA-negative patients, so we consider that this issue does not affect significantly our findings of association between low bone mass and ACPA-positivity.

In conclusion, our data support the previous observations, suggesting that ACPA are associated with bone loss in patients submitted by suspicion of arthritis, independently of the etiology. Further studies are necessary to determine their clinical relevance, since, although the effect

of ACPA on BMD was significant, the long-term clinical impact of these findings is currently unknown. Studies exploring whether there are differences in the prevalence of osteoporotic fractures between ACPA-positive and negative patients would be needed to determine the real impact of these findings.

Acknowledgements We would like to thank Teresa Velasco for her invaluable help in the early arthritis clinic and Vanessa Centeno Talayero for technical support. We thank AMBAR facilities for measurement of MCV-ACPA in patients' samples. Special thanks to Tom O'Boyle and Manuel Gomez-Gutierrez for writing assistance.

Compliance with ethical standards

PEARL study is conducted according to the principles expressed in the Helsinki Declaration of 1983 and it was approved by the Research Ethics Committee of Hospital Universitario La Princesa. All patients signed a written consent at study entry.

Funding Our manuscript was supported by grants RD12/0009/0017, PI12/01578, PIE13/00041, and PI14/00442 from the Ministerio de Economía y Competitividad (Instituto de Salud Carlos III) and co-funded by Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER). The manuscript was partially funded by an unrestricted grant from PFIZER España.

Conflict of interest Dr. LLORENTE has nothing to disclose. Dr. Merino has nothing to disclose. Mr. Escolano has nothing to disclose. Dr. Ortiz reports personal fees and non-financial support from Abbvie, personal fees and non-financial support from UCB, personal fees from Pfizer, personal fees from Roche, personal fees from Lilly, outside the submitted work; In addition, Dr. Ortiz has a patent PCT/ES2015/070182 issued. Dr. González-Ortega has nothing to disclose. Dr. García-Vicuña reports grants, personal fees, and non-financial support from Pfizer, personal fees and non-financial support from UCB, grants and personal fees from BMS, grants and personal fees from MSD, non-financial support from Abbvie, grants and personal fees from Roche, grants and personal fees from Spanish Rheumatology Society, personal fees from Sandoz, personal fees from Biogen, personal fees from Sanofi, personal fees from Janssen, and grants and personal fees from Novartis, outside the submitted work. Dr. Garcia-Vadillo reports personal non-financial support from Lilly and Pfizer. Dr. Castañeda reports grants from Ministerio de Economía y Competitividad (Instituto de Salud Carlos III), grants from Ministerio de Economía y Competitividad (Instituto de Salud Carlos III), grants from Ministerio de Economía y Competitividad (Instituto de Salud Carlos III), grants from PFIZER España, during the conduct of the study; personal fees from Abbvie, personal fees from Amgen, personal fees from Gebro Pharma, personal fees from Lilly, personal fees from MSD, personal fees from Pfizer, personal fees from Roche, outside the submitted work. Dr. Gonzalez-Alvaro reports grants from Instituto de Salud Carlos III, during the conduct of the study; personal fees from Lilly, grants, personal fees and non-financial support from UCB, personal fees and non-financial support from BMS, personal fees and non-financial support from Pfizer, grants from Roche, personal fees and non-financial support from Abbvie, and non-financial support from MSD, outside the submitted work; In addition, Dr. Gonzalez-Alvaro has a patent PCT/ES2015/070182 issued.

Open Access This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give

appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made.

References

1. Goldring SR, Gravalles EM (2000) Mechanisms of bone loss in inflammatory arthritis: diagnosis and therapeutic implications. *Arthritis Res* 2(1):33–37
2. Schett G, Gravalles E (2012) Bone erosion in rheumatoid arthritis: mechanisms, diagnosis and treatment. *Nat Rev Rheumatol* 8(11):656–664
3. Kocijan R, Harre U, Schett G (2013) ACPA and bone loss in rheumatoid arthritis. *Curr Rheumatol Rep* 15(10):366
4. Schett G, Teitelbaum SL (2009) Osteoclasts and Arthritis. *J Bone Min Res* 24(7):1142–1146
5. Krishnamurthy A, Joshua V, Haj Hensvold A et al (2016) Identification of a novel chemokine-dependent molecular mechanism underlying rheumatoid arthritis-associated autoantibody-mediated bone loss. *Ann Rheum Dis* 75(4):721–729
6. Walsh NC, Crotti TN, Goldring SR, Gravalles EM (2005) Rheumatic diseases: the effects of inflammation on bone. *Immunol Rev* 208:228–251
7. Boyesen P, Hoff M, Odegard S et al (2009) Antibodies to cyclic citrullinated protein and erythrocyte sedimentation rate predict hand bone loss in patients with rheumatoid arthritis of short duration: a longitudinal study. *Arthritis Res Ther* 11(4):R103
8. Harre U, Georgess D, Bang H et al (2012) Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin. *J Clin Invest* 122(5):1791–1802
9. Kleyer A, Finzel S, Rech J et al (2014) Bone loss before the clinical onset of rheumatoid arthritis in subjects with anticitrullinated protein antibodies. *Ann Rheum Dis* 73(5):854–860
10. Esteve-Vives J, Batlle-Gualda E, Reig A (1993) Spanish version of the Health Assessment Questionnaire: reliability, validity and transcultural equivalency. Grupo para la Adaptacion del HAQ a la Poblacion Espanola. *J Rheumatol* 20(12):2116–2122
11. Prevoo ML, van 't Hof MA, Kuper HH, van Leeuwen MA, van de Putte LB, van Riel PL (1995) Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 38(1):44–48
12. Castrejon I, Carmona L, Ortiz AM, Belmonte MA, Martinez-Lopez JA, Gonzalez-Alvaro I (2013) Development and validation of a new disease activity index as a numerical sum of four variables in patients with early arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 65(4):518–525
13. Gonzalez-Alvaro I, Castrejon I, Ortiz AM et al (2016) Cutoffs and response criteria for the hospital Universitario La Princesa Index (HUPI) and their comparison to widely-used indices of disease activity in rheumatoid arthritis. *PLoS One* 11(9):e0161727
14. Gonzalez-Alvaro I, Ortiz AM, Alvaro-Gracia JM et al (2011) Interleukin 15 levels in serum may predict a severe disease course in patients with early arthritis. *PLoS One* 6(12):e29492
15. Castaneda S, Gonzalez-Alvaro I, Rodriguez-Salvanes F, Quintana ML, Laffon A, Garcia-Vadillo JA (2007) Reproducibility of metacarpophalangeal bone mass measurements obtained by dual-energy X-ray absorptiometry in healthy volunteers and patients with early arthritis. *J Clin Densitom* 10(3):298–305
16. Felson DT, Smolen JS, Wells G et al (2011) American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism provisional definition of remission in rheumatoid arthritis for clinical trials. *Arthritis Rheum* 63(3):573–586
17. Bugatti S, Bogliolo L, Vitolo B, Manzo A, Montecucco C, Caporali R (2016) Anti-citrullinated protein antibodies and high levels of rheumatoid factor are associated with systemic bone loss in patients with early untreated rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 18(1):226
18. Haugeberg G, Uhlig T, Falch JA, Halse JI, Kvien TK (2000) 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* 43(3):522–530
19. Solomon DH, Kuntz KM (2000) Should postmenopausal women with rheumatoid arthritis who are starting corticosteroid treatment be screened for osteoporosis? A cost-effectiveness analysis. *Arthritis Rheum* 43(9):1967–1975
20. Ibanez M, Ortiz AM, Castrejon I et al (2010) A rational use of glucocorticoids in patients with early arthritis has a minimal impact on bone mass. *Arthritis Res Ther* 12(2):R50
21. Kleyer A, Schett G (2014) Arthritis and bone loss: a hen and egg story. *Curr Opin Rheumatol* 26(1):80–84
22. Sokolove J, Pisetsky D (2016) Bone loss, pain and inflammation: three faces of ACPA in RA pathogenesis. *Ann Rheum Dis* 75(4):637–639
23. Adamopoulos IE, Mellins ED (2015) Alternative pathways of osteoclastogenesis in inflammatory arthritis. *Nat Rev Rheumatol* 11(3):189–194

LETTER

Open Access



Anti-citrullinated protein antibodies and bone loss in patients with early arthritis: comment on the article “Anti-citrullinated protein antibodies and high levels of rheumatoid factor are associated with systemic bone loss in patients with early untreated rheumatoid arthritis” by Bugatti et al.

Santos Castañeda* , Irene Llorente, Rosario García-Vicuña and Isidoro González-Álvarez

See related Research by Bugatti et al. <https://arthritisresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13075-016-1116-9>

We read with great interest the article about the relationship between anti-citrullinated protein antibodies (ACPA), rheumatoid factor (RF) and systemic bone loss in 155 patients with early untreated rheumatoid arthritis (RA), published recently in *Arthritis Research & Therapy* [1]. The work is really interesting since it shows the association of ACPA with low bone mass in both lumbar spine and total hip in patients with early RA [1]. These findings are supported by recent investigations demonstrating the expression of citrullinated antigens on the surface of osteoclastic lineage cells, which converts these cells into prime targets for circulating ACPA [2, 3].

In this regard, we want to reinforce these findings with data from the baseline visit of 578 patients from our early arthritis (EA) register, the “Princesa Early Arthritis Register Longitudinal (PEARL)”. Briefly, our data show similar results to those described in Bugatti et al.’s work [1], with the difference that we didn’t find any association with RF although our population is larger than theirs and includes early RA and undifferentiated arthritis, strengthening the importance of ACPA in the pathogenesis of bone destruction in inflammatory processes [4]. It is important to emphasize that our series is probably very similar

genetically to Bugatti et al.’s [1], with comparable demographic and intrinsic characteristics of the disease [4].

Furthermore, in our work there were no differences in juxtaarticular bone mineral density (BMD) at the metacarpophalangeal joints between ACPA-positive and ACPA-negative patients, suggesting that active inflammation was not the main mechanism of systemic bone loss in early stages of the disease [4].

Additionally, we also analyzed the levels of anti-mutated citrullinated vimentin IgG antibodies, as they could develop a greater pathogenic role [2]. However, their predictive value for bone loss did not improve the results obtained with ACPA, despite the good correlation between the serum levels of both autoantibodies [4].

At the time we submitted our data for publication, no previous publications had described the association of ACPA and BMD in patients with EA. In addition, considering the scarce current evidence of the effect of ACPA on systemic BMD, we believe that the fact that two independent groups report similar findings in such a close time frame make these results more reliable and challenging.

Recently, Orsolini et al. [5] published similar data in a cohort of patients with established RA, demonstrating a titer-dependent effect of ACPA on systemic bone mass, especially at femoral sites (cortical bone), supporting the above-mentioned findings.

* Correspondence: santos.castaneda@salud.madrid.org; scastas@gmail.com
Rheumatology Division, Hospital de La Princesa, IIS-IP, Universidad Autónoma, c/Diego de León 62, 28006 Madrid, Spain

Authors' response

Serena Bugatti and Carlomaurizio Montecucco

We are grateful to Castañeda and colleagues for their interest in our paper recently published in *Arthritis Research & Therapy* [1]. Increasing evidence links the presence and the characteristic of autoantibodies to relevant pathophysiological processes in rheumatoid arthritis (RA), also offering a causal explanation of the long-known epidemiological association between seropositivity and worse outcomes [6]. In this direction, the discovery of a direct pro-osteoclastic effect of anti-citrullinated peptide antibodies (ACPA) [2] has revolutionized the assumption that tissue damage in RA depends exclusively on the action of pro-inflammatory cytokines. Following that publication, clinical scientists have put great effort into exploring the early effects of autoantibodies on bone. Individuals with ACPA but no evidence of synovitis show cortical bone changes at the metacarpophalangeal joints [7], and, similarly, we have found that patients with a very short history of RA present reduced systemic bone mineral density only in association with RA-specific autoantibodies [1]. Nicely, in their letter Castañeda and colleagues report similar findings obtained in a large cohort of patients with early arthritis, reinforcing the concept that local and generalized bone remodeling in RA may be at least in part disconnected from classic inflammatory pathways, and that strategies aimed at halting/preventing bone loss should include close monitoring of autoantibody-positive subjects beyond the control of disease activity.

Research on the causal relationship between autoantibodies and RA pathology is in its infancy, and many aspects need further clarification. Among these, the role of rheumatoid factor (RF) remains debated. Whilst we and others have reported a potential additive effect of RF on the background of ACPA-positivity, Castañeda et al. failed to find an association between RF and systemic bone loss. Compared to ACPA, RF testing shows much higher variability in the clinical setting due to greater fluctuations in levels in the same patient over time and to larger differences in test characteristics among different laboratories. These issues, along with the inclusion of non-RA patients in Castañeda et al.'s series, may partially explain the conflicting results. However, the pentameric IgM RF activates complement and enhances, in a dose-dependent way, the pro-inflammatory effect of ACPA on macrophages *in vitro*, and several clinical observations link high RF levels with more active and more destructive disease [6]. Further research in this field is welcome, as it would translate into better knowledge on the role of autoantibodies as biomarkers and possible therapeutic targets in RA.

Abbreviations

ACPA: Anti-citrullinated protein antibodies; BMD: Bone mineral density; EA: Early arthritis; PEARL: Princesa Early Arthritis Register Longitudinal; RA: Rheumatoid arthritis; RF: Rheumatoid factor

Acknowledgements

We would like to thank Teresa Velasco for her invaluable help in the Early Arthritis Clinic and Vanessa Centeno Talayero for technical support.

Funding

Ministerio de Economía and Competitividad (Instituto de Salud Carlos III, SPAIN) and Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) (grant number: PI12/01578).

Availability of data and materials

The datasets belonging to our original research are available from the corresponding author on reasonable request.

Authors' contributions

SC, IL, RG-V and IG-G have equally contributed to the preparation, writing and revision of this Letter. All authors read and approved the final manuscript.

Authors' information

Not applicable.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Consent for publication

Not applicable.

Ethics approval and consent to participate

The PEARL study is conducted according to the principles expressed in the Helsinki Declaration of 1983 and was approved by the Research Ethics Committee of Hospital Universitario de La Princesa. All patients signed a written consent at study entry.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Published online: 03 July 2017

References

1. Bugatti S, Bogliolo L, Vitolo B, Manzo A, Montecucco C, Caporali R. Anti-citrullinated protein antibodies and high levels of rheumatoid factor are associated with systemic bone loss in patients with early untreated rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2016;18:226.
2. Harre U, Georgess D, Bang H, Bozec A, Axmann R, Ossipova E, et al. Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin. *J Clin Invest*. 2012;122:1791–802.
3. Malmström V, Catrina AI, Klareskog L. The immunopathogenesis of seropositive rheumatoid arthritis: from triggering to targeting. *Nat Rev Immunol*. 2017;17:60–75.
4. Llorente I, Merino L, Ortiz AM, Escolano E, González-Ortega S, García-Vicuña R, et al. Anti-citrullinated protein antibodies are associated with decreased bone mineral density: baseline data from a register of early arthritis patients. *Rheumatol Int*. 2017;37:799–806. doi: 10.1007/s00296-017-3674-9 [Epub ahead of print].
5. Orsolini G, Caimmi C, Viapiana O, Idolazzi L, Fracassi E, Gatti D, et al. Titer-dependent effect of anti-citrullinated protein antibodies on systemic bone mass in rheumatoid arthritis patients. *Calcif Tissue Int*. 2017;101:17–23. doi: 10.1007/s00223-017-0253-8 [Epub ahead of print].
6. Bugatti S, Bogliolo L, Montecucco C, Manzo A. B cell autoimmunity and bone damage in rheumatoid arthritis. *Reumatismo*. 2016;68:117–25.
7. Kleyer A, Finzel S, Rech J, Manger B, Krieter M, Faustini F, et al. Bone loss before the clinical onset of rheumatoid arthritis in subjects with anti citrullinated protein antibodies. *Ann Rheum Dis*. 2014;73:854–60.

Reproducibility of Metacarpal Bone Mineral Density Measurements Obtained by Dual-Energy X-Ray Absorptiometry in Healthy Volunteers and Patients With Early Arthritis

*Irene Llorente,¹ Leticia Merino,² Eugenio Escolano,³
 Dolores Martínez Quintanilla,¹ Jesús A García-Vadillo,¹
 Isidoro González-Álvaro,^{1,†,*} and Santos Castañeda^{1,†,*}*

¹ Rheumatology Department, Hospital Universitario de La Princesa, IIS-IP, Madrid, Spain; ² Rheumatology Department, Hospital Universitario de San Pedro, Logroño, Rioja, Spain; and ³ Radiology Department, Hospital Universitario de La Princesa, Madrid, Spain

Abstract

Reduction in cortical bone mineral density at diaphysis of metacarpal bones of the hand, evaluated by dual X-ray radiogrammetry, has a bad prognostic value in patients with early arthritis. Nevertheless, this technique is hardly accessible in clinical practice. By contrast, evaluation of cortical bone mineral density at that location has not been previously assessed by conventional dual X-ray absorptiometry. The aim of this study is to evaluate the reproducibility of bone mineral density measurements at diaphysis of metacarpal bones using conventional dual X-ray densitometry in a population of healthy volunteers and patients with early arthritis. Nondominant hand dual X-ray densitometry was performed at three consecutive times with complete hand replacement in 27 subjects: 10 early arthritis and 17 healthy volunteers. Three different evaluators analyzed the 3 measurements of second to fourth metacarpal bones. To assess the reproducibility and accuracy of the measurements, intra- and interobserver agreement degrees, intra- and interclass correlation coefficients, smallest difference detectable assessment, and Bland Altman graphs were calculated. The coefficients of variation obtained for the different metacarpal evaluations were 2.25%, 2.91%, 2.85%, and 2.07% for metacarpal-2, metacarpal-3, metacarpal-4, and mean metacarpal-second to fourth, respectively, with a smallest difference detectable of 0.028, 0.034, 0.028, and 0.03 g/cm², respectively. The mean intra- and interobserver correlation coefficients between of metacarpal second to fourth were 0.990 (95% confidence interval [CI]: 0.982–0.995) and 0.995 (95% CI: 0.991–0.997), respectively. As expected, women had lower bone mineral density at metacarpal bones, especially after menopause. The results obtained in this study show an excellent reproducibility of bone mineral density measurements at diaphysis of metacarpal bones of the hand, measured by conventional dual X-ray densitometry, in a mixed population of healthy subjects and patients with early arthritis. This is of great interest for longitudinal studies in patients with early arthritis.

Key Words: Cortical BMD; DXA; DXR; Early arthritis; Metacarpal bones; Reproducibility.

[†]I. González-Álvaro and S. Castañeda share senior authorship.

Received 12/06/18; Revised 02/19/19; Accepted 02/20/19.

Conflicts of interest: The authors do not have conflicts of interest related to this study.

*Address correspondence to: Santos Castañeda, MD, PhD, and Isidoro González-Álvaro, MD, PhD, Rheumatology Division, Hospital Universitario de La Princesa, IIS-Princesa, C/ Diego de León 62, 28006 Madrid, Spain. E-mails: isidoro.ga@ser.es
scastas@gmail.com

Introduction

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic inflammatory disease that mainly affects small joints of the hand and foot. Current therapeutic strategies seek to act before joint damage occurs. Currently, simple X-ray is the gold standard tool to evaluate structural damage in clinical practice (1). However, one of the earliest radiological changes associated with inflammation is juxta-articular bone loss (2–4).

Digital X-ray radiogrammetry (DXR) is a validated technique for the evaluation of bone mineral density (BMD) at diaphysis of metacarpal (MC) bones by measuring, in conventional X-ray of the hands, the thickness of the cortical bone at diaphysis of the middle metacarpals (5). DXR is a widely known technique to determine osteoporosis in early arthritis (EA) and its progression over time (6–8). Currently, it is well known that periarticular osteopenia is an early finding related to bad prognosis and appearance of new joint erosions (9–12). Furthermore, DXR has been proposed as a predictive biomarker of progression and mortality in RA (13–15). However, this technique is not usually available in clinical practice. By contrast, conventional dual X-ray absorptiometry (DXA) is the most widely known and validated technique for the study of bone loss in different scenarios in the vast majority of medical settings.

In previous studies of our group, we have validated the assessment of BMD in metacarpo-phalangeal joints in a group of healthy subjects and in patients with EA using conventional DXA (16). However, at this location, DXA mainly evaluates trabecular bone around the joints, whereas DXR especially evaluates cortical bone. Interestingly, trabecular bone is the first type of bone habitually lost in inflammatory states as well as in other physiological or pathologic conditions of bone loss, likely due to its faster turnover (17). Nevertheless, our group has found that anti-cyclic citrullinated peptide antibodies (anti-CCP) positive patients (18,19), which usually show worse prognosis, lack osteoporosis at metacarpo-phalangeal joints assessed by DXA, contrary to that detected by DXR at MC diaphysis. This discrepancy is probably due to the fact that bone loss is greater in cortical bone than in trabecular bone in this type of patients.

Thus, the purpose of this study was to evaluate the reproducibility of BMD assessed by DXA at metacarpal bones, in order to determine if it could be a reproducible and reliable method for bone mass evaluation on the cortical bone of the hand.

Patients and Methods

Study Population

This study was carried out on 27 individuals, 17 healthy subjects, and 10 EA patients, whose characteristics are summarized in Table 1. Healthy volunteers included normal hospital workers without any known chronic inflammatory disease. EA patients belong to the Princesa Early

Arthritis Register Longitudinal (PEARL) study whose sociodemographic and clinical features have been previously published (20). We have included patients in this study to extend the range of bone variability among the subjects analyzed even though the main objective of this study was the validation of the DXA technique. Subjects taking bone remodeling-acting agents or with history of bone metabolism disease were excluded from the study.

The study is in accordance with Helsinki Declaration and was approved by the Research Ethics Committee of University Hospital La Princesa (protocol number: PI-629/2012). Patients and healthy volunteers were previously informed and gave their written consent before their inclusion in the study.

Bone Mass Measurements

A total of 243 ($3 \times 27 \times 3$) BMD measurements at the nondominant hand of 27 subjects (17 healthy volunteers and 10 EA patients) were performed. DXA scans were done in all the subjects with the hand placed in neutral position and the fingers extended with a slight separation between them (Fig. 1). DXA scans were performed on a conventional HologicQDR-4500 densitometer (Hologic, Bedford, MA), which was daily calibrated through a spine phantom evaluation comparing daily values obtained with those of a phantom supplied by the manufacturer with a known bone mineral content.

Currently, there is no available specific software to measure BMD at MC bones location. With the objective of adapting to DXA the technique established and validated by SECTRA for DXR (SECTRA, Linköping, Sweden), we generated three regions of interest (ROI) similar to those used with DXR by means of the subregional analysis function of HologicQDR-4500. Thus, the ROIs were designed to occupy the middle third of the MC diaphysis avoiding the areas near the metaphysis, leaving an equidistant space on the upper and lower third

Table 1

Clinical Characteristics of the Subjects Included in This Study

Characteristics	Healthy volunteers	Patients with EA
Number of subjects	17	10
Disease duration, months median [IQR]	–	5.1 [6–8]
Female/male	13/4	10/0
Age, median [IQR], years	43.7 [22–62]	63.2 [48–85]
Postmenopausal, (%)	23.5%	70%
BMI, mean \pm SD, kg/m ²	28.5	22.2
Smoking status	5.8%	0%

Abbr: BMI, body mass index; EA, early arthritis; IQR [percentile25–p75], interquartile range.

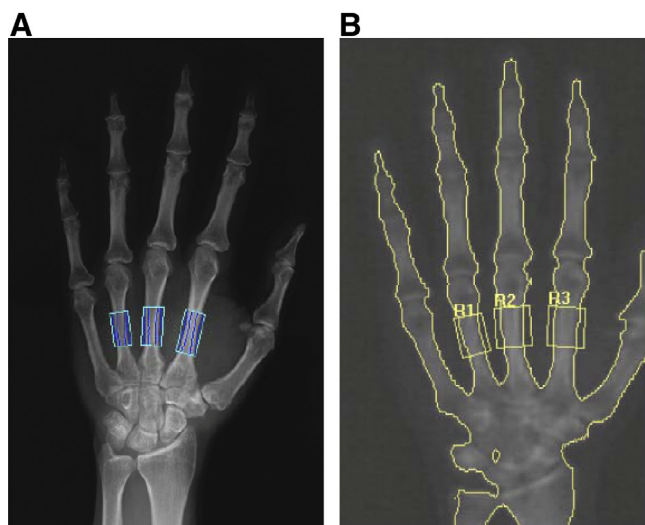


Fig. 1. DXR image (A) and DXA image (B) of the nondominant hand showing ROIs at metacarpal bones. DXR: dual-energy X-ray radiogrammetry; DXA: dual-energy X-ray absorptiometry; ROIs: regions of interest (R1, R2, R3).

of each MC bone (Fig. 1). The average ROI area included 34×22 lines for MC2, 34×21 lines for MC3, and 30×19 lines for MC4. It was initially placed parallel to the axis of each MC bone and then the width and height of each ROI was widened according to the size of each metacarpal bone as it has been described above. It is important to leave a space between the ROI of each finger to avoid overlapping to each other, precluding getting a false measurement by adding the bone mineral content of every next metacarpal bone. Absolute BMD results were expressed as g/cm^2 .

Assessment of Precision

To evaluate the inter- and intraobserver variability, we performed 3 consecutive DXA measurements of the nondominant hand of each subject in the same day with complete repositioning of the hand between every 2 examinations. Afterward, DXA were examined in a blind and independent way by 3 different trained evaluators (IL, AGV, and SC) in different days, analyzing DXA performed to each subject in the 3 middle MC bones (second to fourth) with a total of 9 determinations per hand. Thus, the number of examinations performed and patients selected for the precision assessment of this technique is in accordance with the rules published by the International Society for Clinical Densitometry in 2008 and 2013, respectively (21,22). In order to improve the reproducibility of the studies in an individualized manner, evaluators were intensively trained by a DXA expert technician for several hours on two consecutive days before analyzing DXA.

Statistical Analysis

Demographic data and BMD were analyzed by calculating means and standard deviations of quantitative variables with a Gaussian distribution. For qualitative and normal distribution variables, the interquartile range and median were calculated. Student's *t*-test was applied to compare the means of variables with a normal distribution and Mann-Whitney test used for variables that did not present normal distribution.

Reproducibility (precision) of the MC measurements was estimated by assessing the absolute values of the coefficient of variation and the interclass correlation coefficients. Smallest detectable difference was calculated for each MC measurement as the threshold level for a definite change in score which ensures that the changes observed are not due to reading variability (23). An analysis of the intra- and interobserver agreement degree was performed through the interclass correlation coefficients with the 95% confidence interval (95% CI). The interclass correlation coefficients range fluctuates from 0 to 1, where 1 is the perfect reliability of the measurement. Bland Altman's model was made to evaluate the possible relationship between the determinations and the observed error. Statistical analyses were calculated using the statistical package STATA v. 12.1 for Windows (Stata, College Station, TX).

Results

BMD Measurements

Second and third MC bones showed higher BMD, being the second MC bone the location with the highest BMD in men and women (Fig. 2).

Bivariate analysis showed that women, elderly people, and patients with EA had lower mean BMD. However, the multivariable analysis showed that only gender was significantly associated with less BMD (β -coeff.: -0.088 ; $p < 0.0001$) as it happens in other locations of the skeleton. It is likely that the initial association with EA patients was due to the high percentage of females in this subpopulation.

Intra- and Interobserver Variability and Precision Assessment

Measurements of BMD at MC diaphysis had excellent intraobserver correlation coefficient as well as interobserver variability (Table 2). Figure 3 shows the results of interobserver variability with a mean interobserver correlation coefficient of 0.995. Indeed, coefficient of variation ranged between 2.25% and 2.91% for the different MC bones with a coefficient of variation mean of BMD at MC second to MC fourth of 2.07% (Table 2). The absolute values of Smallest detectable difference were $0.028 \text{ g}/\text{cm}^2$ for the second MC bone, $0.034 \text{ g}/\text{cm}^2$ for the third MC bone, and $0.028 \text{ g}/\text{cm}^2$ for the fourth one.

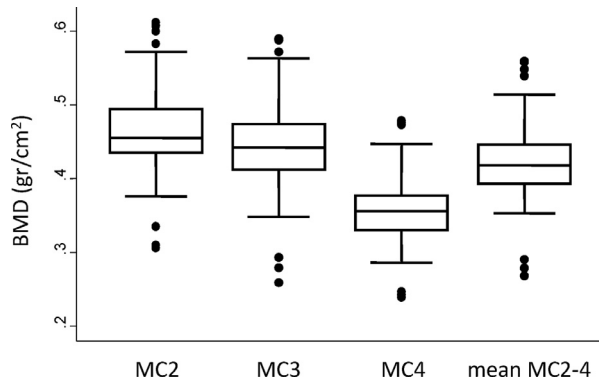


Fig. 2. Bone mineral density at metacarpal diaphysis. BMD: Bone mineral density; MC: metacarpal bones. Data are presented as interquartile range (p75 upper edge, p25 lower edge, p50 midline) as well as the p95 (line above the box) and p5 (line below the box). Dots represent the outliers.

Finally, the Bland Altman graphs (Fig. 4) suggest that precision of the measurements does not correlate with the value of the measurements, being stable in both the high as well as the low extremes.

Discussion

We have demonstrated in this work that BMD measurements of the three middle MC bones of the hand by DXA is an easily reproducible technique in both patients and healthy volunteer subjects. Despite the ROIs were designed

by the local researchers, the measurements showed good correlation coefficients in both intra- and interobserver variability. Therefore, the use of this technique could be likely generalized in other clinical settings and countries.

RA patients not only have periarticular osteoporosis but also systemic osteoporosis, even in very early stages of the disease (24,25). The frequency of osteoporosis in patients with RA is higher than that seen in other rheumatic diseases and it is probably influenced by different factors such as age, gender, genetic factors, and the use of glucocorticoids (25–27). Although DXR is the standard technique for the study of juxta-articular osteoporosis of the hand in patients with RA, and it has shown to predict long-term important outcomes in RA (radiographic progression and mortality) (13), it is usually a poorly accessible tool in the clinical environment. By contrast, DXA is a widely validated technique with a low cost, and accessible in most rheumatology Units and countries. It is also a simple technique, which uses a very low radiation dose and allows unlimited repetitions. In consequence, DXA has shown in recent decades to be a very useful tool in the study and monitoring of osteoporosis in multiple different clinical scenarios (28).

Starting from the idea that juxta-articular BMD measurements would have a good ability to predict RA outcomes such as progression or mortality of the disease, our group previously demonstrated the reproducibility of BMD measurements at metacarpo-phalangeal joints in EA patients and healthy volunteers (16). In the present study we have established that BMD measurements by DXA are also reproducible at MC bones of the hand

Table 2

Intra and Interobserver Variability at Second to Fourth Metacarpal Bones Measurements in Healthy Volunteers and in Patients With Early Arthritis

All N = 27	Intraobserver CC (95%CI)	Interobserver CC (95%CI)	CV (%)	SDD (g/cm ²)
MC2				
Evaluator 1	0.989 (0.98–0.99)			
Evaluator 2	0.991 (0.98–0.99)	0.995 (0.99–0.99)	2.25	0.028
Evaluator 3	0.987 (0.97–0.99)			
MC3				
Evaluator 1	0.986 (0.97–0.99)			
Evaluator 2	0.988 (0.98–0.99)	0.992 (0.98–0.99)	2.91	0.034
Evaluator 3	0.968 (0.94–0.98)			
MC4				
Evaluator 1	0.939 (0.88–0.97)			
Evaluator 2	0.984 (0.98–0.99)	0.985 (0.97–0.99)	2.85	0.028
Evaluator 3	0.973 (0.94–0.99)			
MC (2nd–4th)				
Evaluator 1	0.987 (0.98–0.99)			
Evaluator 2	0.992 (0.98–0.99)	0.995 (0.99–0.99)	2.07	0.024
Evaluator 3	0.992 (0.98–0.99)			

Abbr: CC, correlation coefficient; CI, confidence interval; CV, coefficient of variation; Interobserver CC refers to the mean of 3 evaluators; MC (2nd–4th), second to fourth metacarpal bones; SDD, smallest detectable difference.

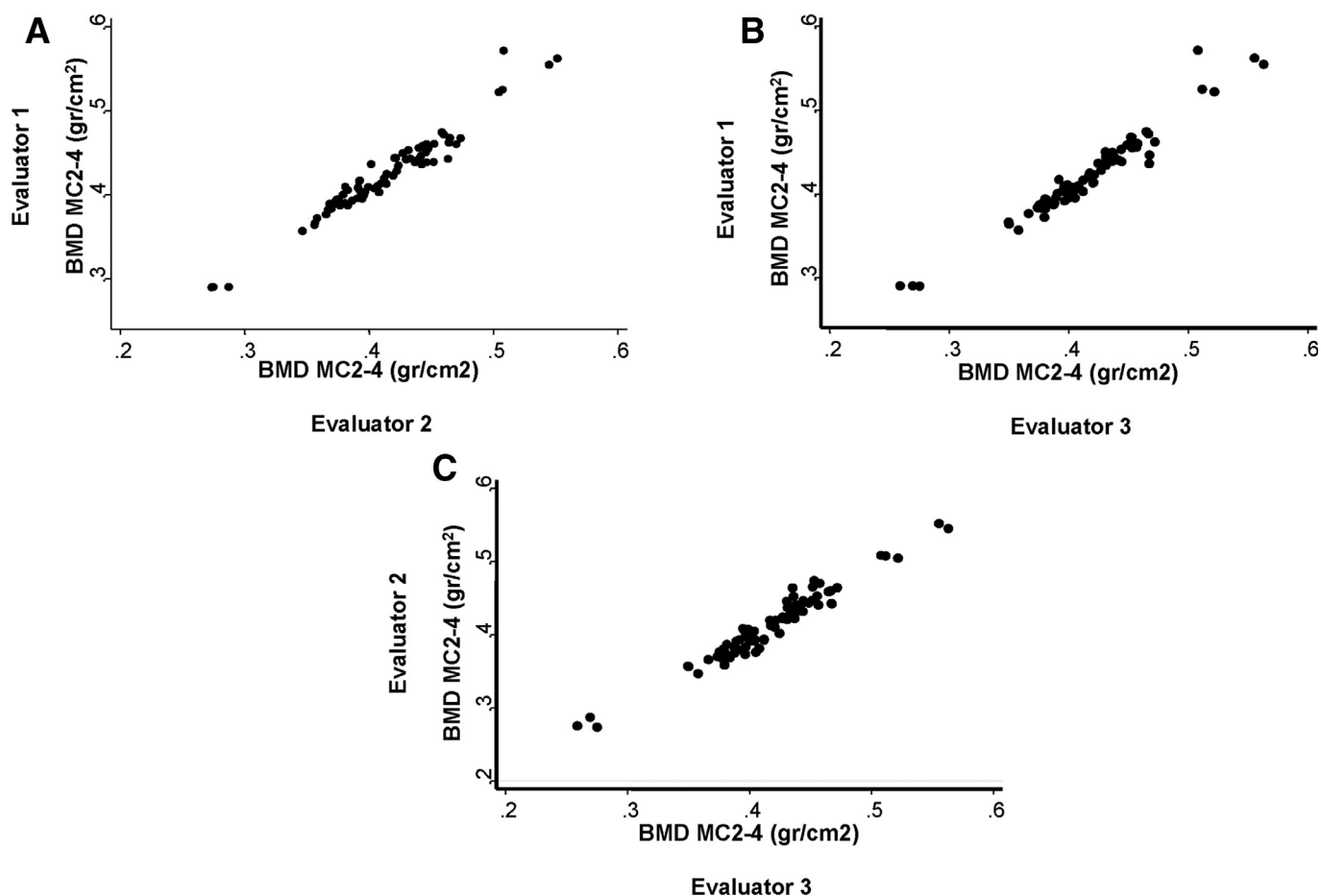


Fig. 3. Interobserver variability assessed between every two evaluators. (A) Interobserver variability comparing evaluators number 1 and 2. (B) Interobserver variability comparing evaluators number 1 and 3. (C) Interobserver variability comparing evaluators number 2 and 3. BMD: Bone mineral density; MC: metacarpal bones.

thereby pointing to DXA as a tool that could reproduce DXR measurements with high accuracy.

The main interest of our results is that they open the possibility to measure MC-BMD with DXA in a reproducible way. In consequence, bone mass evaluation by DXA at MC bones may have a similar predictive value as MC measurements by DXR. Since DXA is an inexpensive and easily accessible tool in clinical practice, it could be very useful at EA clinics in daily practice.

Our study has several limitations. The number of subjects included is small, although sufficient such as recommended by international consensus for this type of studies (21,29–30). Likewise, most cases included were women with lower BMD than men and even lower after menopause. In addition, it is likely that the high precision obtained in this study could be due to the intensive training of the different evaluators who participated, and the results could be less reproducible in other clinical environments with less trained evaluators. Nonetheless, this critical point can be easily improved with a training of few hours duration supervised by a technician expert in

DXA. As a final point, regrettably the sample size of our study does not permit to reach any reliable conclusion between BMD measurements and clinical parameters such as age, gender, or diagnosis of disease.

Nevertheless, confirming reproducibility is the first step to deepen in the clinical value of this technique. In this line, we have in progress another much broader study to determine the clinical relevance of our findings. In fact, at present we are analyzing the correlation between the bone mass evaluated at cortical bone of MC bones as above mentioned and also by radiogrammetry, and the structural damage observed by conventional X-ray of the hand at 2 years of follow-up. Besides, this technique should be validated by other groups and in other populations.

Finally, we want to emphasize that the duration of the disease in the patients of our study (median of 5.1 months) is lower than that observed in other hospitals in our environment, which is the result of a coordinated and continuous work with the general practitioners of our area of influence, although these data should not change the reproducibility of results obtained in this study.

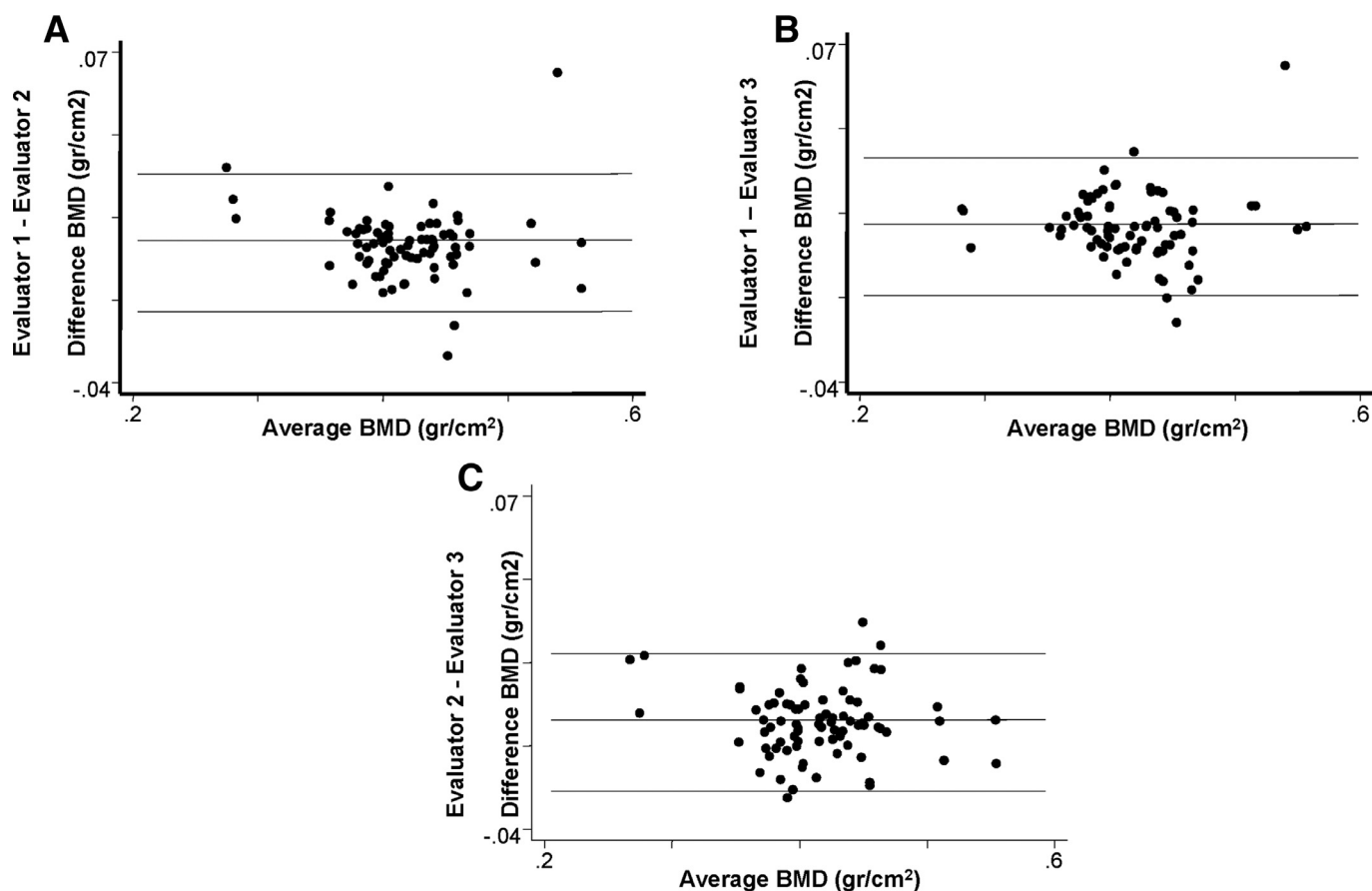


Fig. 4. Bland–Altman graphs of the measurements of each DXA performed by every participant observer. (A) Interobserver variability comparing evaluators number 1 and 2. (B) Intraobserver variability comparing evaluators number 1 and 3. (C) Intraobserver variability comparing evaluators number 2 and 3. BMD: bone mineral density; DXA: dual-energy X-ray absorptiometry.

In conclusion, we have developed a new way to analyze the cortical bone at diaphysis of MC bones of the hand using conventional DXA. In addition, we have demonstrated that this technique has a high reproducibility, opening the possibility for using cortical bone assessment as a predictive marker of progression in arthritis of recent onset.

Ethics and Consent

This study is in accordance with Helsinki Declaration principles and it was approved by the Research Ethics Committee of University Hospital La Princesa (protocol number: PI-629/2012). Each subject was previously informed and gave their written consent before their inclusion in the study.

Acknowledgments

We would like to thank Teresa Velasco, nurse of the Rheumatology Division, for her invaluable help in the Early Arthritis Clinic, to Francisco Rodríguez-Salvanés for his valuable opinions and critical reading and to

Manuel Gómez for his style corrections. Likewise, authors thank all the subjects who have generously participated in this study.

Funding: Our manuscript was supported by grants RD16/0012/0011, PI12/01578, PIE13/00041, and PI14/00442 from the Ministerio de Economía y Competitividad (Instituto de Salud Carlos III) and co-funded by Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER). The manuscript was partially funded by an unrestricted grant from PFIZER, Spain.

Supplementary material

Supplementary data to this article can be found online at doi:[10.1016/j.jocd.2019.02.006](https://doi.org/10.1016/j.jocd.2019.02.006).

References

1. Van der Heijde DM. 2000 Radiographic imaging: the 'gold standard' for assessment of disease progression in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 39(1(Suppl)):S9–S16.

2. Goldring SR, Gravallese EM. 2000 Mechanisms of bone loss in inflammatory arthritis: diagnosis and therapeutic implications. *Arthritis Res* 2:33–37.
3. Van Staa T, Geusens P, Bijlsma JWJ, Leufkens HGM, Cooper C. 2006 Clinical assessment of the long term risk of fracture in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 54:3104–3112.
4. Böttcher J, Malich A, Pfeil A, et al. 2004 Potential clinical relevance of digital radiogrammetry for quantification of periarticular bone demineralization in patients suffering from rheumatoid arthritis depending on severity and compared with DXA. *Eur Radiol* 14:631–637.
5. Böttcher J, Pfeil A, Petrovich A, et al. 2006 Metacarpal index estimated by digital X-ray radiogrammetry as a tool for differentiating rheumatoid arthritis related periarticular osteopenia. *Int J Biomed Sci* 2:241–250.
6. Forslind K, Boonen A, Albertsson K, et al. 2009 Hand bone loss measured by digital X-ray radiogrammetry is a predictor of joint damage in early rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 38:431–438.
7. Pfeil A, Haugeberg G, Hansch A, et al. 2011 Value of digital X-Ray radiogrammetry in the assessment of inflammatory bone loss in rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 63:666–674.
8. Böttcher J, Pfeil A, Rosholm A, et al. 2006 Computerized digital imaging techniques provided by digital radiogrammetry as new diagnostic tool in rheumatoid arthritis. *J Digit Imaging* 19:279–288.
9. Hoff M, Haugeberg G, Ødegård S, et al. 2009 Cortical hand bone loss after 1 year in early rheumatoid arthritis predicts radiographic hand joint damage at 5-year and 10-year follow-up. *Ann Rheum Dis* 68:324–329.
10. Kapetanovic MC, Lindqvist E, Algulin J, et al. 2011 Early changes in bone mineral density measured by digital X-ray radiogrammetry predict up to 20 years radiological outcome in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 13:R31.
11. Wevers-de Boer KV, Heimans L, Visser K, et al. 2015 Four-month metacarpal bone mineral density loss predicts radiological joint damage progression after 1 year in patients with early rheumatoid arthritis: exploratory analyses from the IMPROVED study. *Ann Rheum Dis* 74:341–346.
12. Haugeberg G, Lodder MC, Lems WF, et al. 2004 Hand cortical bone mass and its associations with radiographic joint damage and fractures in 50–70 year old female patients with rheumatoid arthritis: cross sectional Oslo-Truro-Amsterdam (OSTRA) collaborative study. *Ann Rheum Dis* 63:1331–1334.
13. Pfeil A, Oelzner P, Renz DM, et al. 2015 Is there a role for digital X-ray radiogrammetry as surrogate marker for radiological progression and imaging of structural integrity in rheumatoid arthritis? *BMC Musculoskelet Disord* 16:155.
14. Rastogi A, Algulin J, Mangat P, et al. 2015 Early metacarpal bone mineral density loss using digital X-ray radiogrammetry and 3-tesla wrist MRI in established rheumatoid arthritis: a longitudinal one-year observational study. *Arthritis* 2015:852989.
15. Book C, Algulin J, Nilsson JA, et al. 2009 Bone mineral density in the hand as a predictor for mortality in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 48:1088–1091.
16. Castañeda S, González-Álvaro I, Rodríguez-Salvanés F, et al. 2007 Reproducibility of metacarpophalangeal bone mass measurements obtained by dual-energy X-ray absorptiometry in healthy volunteers and patients with early arthritis. *J Clin Densitom* 10:298–305.
17. Sims NA, Martin TJ. 2014 Coupling the activities of bone formation and resorption: a multitude of signals within the basic multicellular unit. *Bonekey Rep* 3:481.
18. Llorente I, Merino L, Ortiz AM, et al. 2017 Anti-citrullinated protein antibodies are associated with decreased bone mineral density: baseline data from a register of early arthritis patients. *Rheumatol Int* 37:799–806.
19. Castañeda S, Llorente I, García-Vicuña R, González-Álvaro I. 2017 Anti-citrullinated protein antibodies and bone loss in patients with early arthritis: comment on the article “Anti-citrullinated protein antibodies and high levels of rheumatoid factor are associated with systemic bone loss in patients with early untreated rheumatoid arthritis” by Bugatti et al. *Arthritis Res Ther* 19:152.
20. González-Álvaro I, Ortiz AM, Alvaro-Gracia JM, et al. 2011 Interleukin 15 levels in serum may predict a severe disease course in patients with early arthritis. *PLoS One* 6:e29492.
21. Schousboe JT, Shepherd JA, Bilezikian JP, Baim S. 2013 Executive summary of the 2013 International Society for Clinical Densitometry Position Development Conference on bone densitometry. *J Clin Densitom* 16:455–466.
22. Baim S, Binkley N, Bilezikian JP, et al. 2008 Official position of the International Society for Clinical Densitometry and Executive Summary of the 2007 ISCD Position Development Conference. *J Clin Densitom* 11:75–91.
23. Van Kampen DA, Willems WJ, et al. 2013 Determination and Comparison of the Smallest Detectable Change (SDC) and the Minimal Important Change (MIC) of Four-Shoulder Patient-Reported Outcome Measures (PROMs). *J Orthop Surg Res* 8:40.
24. Moon SJ, Ahn IE, Kwok SK, et al. 2013 Periarticular osteoporosis is a prominent feature in early rheumatoid arthritis: estimation using shaft to periarticular bone mineral density ratio. *J Korean Med Sci* 28:287–294.
25. Roldán JF, Del Rincón I, Escalante A. 2006 Loss of cortical bone from the metacarpal diaphysis in patients with rheumatoid arthritis: independent effects of systemic inflammation and glucocorticoids. *J Rheumatol* 33:508–516.
26. Haugeberg G, Ørstavik RE, Uhlig T, et al. 2002 Bone loss in patients with rheumatoid arthritis: results from a population based cohort of 366 patients followed up for two years. *Arthritis Rheum* 46:1720–1728.
27. Kim JW, Ha YC, Lee YK. 2017 Factors affecting bone mineral density measurement after fracture in South Korea. *J Bone Metabol* 24:217–222.
28. Guerri S, Mercatelli D, Aparisi Gómez MP, et al. 2018 Quantitative imaging techniques for the assessment of osteoporosis and sarcopenia. *Quant Imaging Med Surg* 8:60–85.
29. Shepherd JA, Lu Y, Wilson K, et al. 2006 International Society for Clinical Densitometry Committee on Standards of Bone Measurement. Cross-calibration and minimum precision standards for dual-energy X-ray absorptiometry: the 2005 ISCD Official Positions. *J Clin Densitom* 9:31–36.
30. Krueger D, Vallarta-Ast N, Checovich M, et al. 2012 BMD measurement and precision: a comparison of GE Lunar Prodigy and iDXA densitometers. *J Clin Densitom* 15:21–25.

AB0248 (2014)

ANALYSIS OF BONE MINERAL DENSITY AT THE HAND BY RADIOGRAMMETRY AND DUAL X-RAY ABSORPTIOMETRY AS A PREDICTOR OF SEVERITY IN EARLY RHEUMATOID ARTHRITIS PATIENTS. COMPARATIVE STUDY

I.M. Llorente Cubas, L. Merino, on behalf of S. González², A.M. Ortiz¹, E. Escolano¹, A.M. Fernández¹, E. Vicente¹, R. García de Vicuña¹, I. González-Álvaro¹, S. Castañeda¹. Services of Rheumatology¹ and Radiology², University Hospital de La Princesa, ISS-Princesa

Rheumatology, Hospital de La Princesa, Madrid, Spain

Background: The evaluation of cortical bone mineral density (BMD) on metacarpal bones by digital radiogrammetry (DXR) has been proven to be a simple, reliable and predictive method to evaluate the severity of the disease in patients with early arthritis (EA). However, DXR is a tool that is not usually available in our environment. By contrast, dual X-ray absorptiometry (DXA) is a more familiar and accessible technique in our clinical practice.

Objectives: The aim of this study was to compare the association between BMD measurements of the hand by DXR and DXA with parameters of activity and severity at two years of follow-up in a cohort of patients with EA.

Methods: A prospective longitudinal study of patients with EA was done. DXR was performed in a total of 111 patients (87.4% women) and DXA was implemented in a total of 378 (82% women). Mean age at disease onset was 57 years [46 - 65 (p25 - p50)] in the DXR group and 54 years [44 - 66 (p25 - p50)] in the DXA group. Anthropometric and clinical data were collected per protocol during 2 years of follow-up. Forty-two percent of patients in the DXR group presented citrullinated peptide antibodies and 41.3% in the DXA group. In both, the 57% fulfilled Rheumatoid arthritis (RA) 2010 criteria at the start of follow up (43% undifferentiated arthropathy). Each patient underwent a digital radiograph of both hands (GE © DX Definium 8000) at 0, 3, 12 and 24 months, determining BMD of each hand and the mean of both measures by DXR (Sectra, Linköping, Sweden). Also, DXA of global hand and metacarpophalangeal joints (MCPs) of the nondominant hand were performed and analyzed (Hologic QDR -4500 Elite©) at 0, 6, 12 and 24 months. In addition, a variable that measures the intensity of cumulative treatment received during the 2 year follow-up was specifically generated as a marker of severity. Statistical analysis was performed using the statistical package STATA 12.

Results: Our data show a good correlation between values of BMD obtained by DXR and DXA in the different locations studied (global hand and MCPs: $r=0.830$ and 0.718 , respectively, $p=0.0001$), both at the baseline visit and along the two years of monitoring. In the bivariate analysis, a negative association is observed between

baseline BMD values measured by DXA and disease activity by DAS28 at 2 yrs, which disappears when adjusting for other variables (age and sex). However, we found an inverse relationship between the intensity of cumulative treatment at two years and baseline BMD measured by DXA, both at global hand ($r = -2.51$, $p=0.041$, $n=220$) and MCPs ($r = -3.45$, $p=0.007$, $n=221$). The DXR association was not significant, probably due to the small sample size ($n=32$).

Conclusions: BMD of the global hand and MCPs of the nondominant hand assessed by DXA predicts disease severity and the intensity of cumulative treatment in the first two years of follow-up in a population of patients with EA. By contrast, predictive value of the hand DXR was not demonstrated. Further studies with a larger population are needed to obtain more consistent conclusions.

References:

1. Wevers-de Boer KV, et al. *ARD*. 2013 Nov 27. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-203749.
2. De Rooy DP, et al. *Rheumatology (Oxford)*. 2012;51:1037-41.
3. Rezaei H, et al. *BMC Musculoskelet Disord*. 2013;14:79.
4. Forslind K, et al. *Arthritis Res Ther*. 2012 Oct 15;14(5):R219.

Acknowledgements: Pfizer, Spain. FIS PI12/01578 project, Spain

Disclosure of Interest: I. M. Llorente Cubas Grant/research support: Pfizer Spain, L. Merino Grant/research support: Pfizer Spain

DOI: 10.1136/annrheumdis-2014-eular.3743

COMUNICACIONES A CONGRESOS

- **VALOR DE LA DETERMINACIÓN DE LA MASA ÓSEA MEDIANTE RADIOGRAMETRÍA Y DENSITOMETRÍA DUAL DE RAYOS-X DE LA MANO COMO PREDICTOR DE GRAVEDAD EN UN REGISTRO DE PACIENTES CON ARTRITIS DE INICIO.** Irene Llorente, Leticia Merino, Saturnino González, Ana M. Ortiz, Eugenio Escolano, Ana M. Fernández, Esther Vicente, Nieves Gómez de León, Rosario García de Vicuña, Isidoro González-Álvaro, Santos Castañeda.

o Congreso Sociedad Madrileña Reumatología. Diciembre 2013. Comunicación oral.

o Congreso Nacional Sociedad Española de Reumatología (Santiago de Compostela, del 20 al 23 de mayo de 2014). **Comunicación oral.**

- **CUANTIFICACIÓN DE LA MASA ÓSEA DE LA MANO MEDIANTE RADIOGRAMETRÍA Y DENSITOMETRÍA DUAL DE RAYOS-X COMOPREDICTOR DE GRAVEDAD EN PACIENTES CON ARTRITIS DE INICIO.** Irene Llorente, Leticia Merino, Saturnino González, Ana M. Ortiz, Eugenio Escolano, J Alberto García- Vadillo, Isidoro González-Álvaro, Santos Castañeda.

o XX CONGRESO SEIOMM. Santiago de Compostela Noviembre 2014. Póster

- **EFEECTO DE LOS ANTICUERPOS ANTIPROTEINAS CITRULINADAS SOBRELA MASA ÓSEA SISTÉMICA Y PERIARTICULAR EN UNA COHORTE DE PACIENTES DE ARTRITIS DE INICIO.** Irene Llorente, Leticia Merino, Ana M. Ortiz, Eugenio Escolano, Elena García, J. Alberto García-Vadillo, Teresa Velasco, Rosario García de Vicuña, Isidoro González-Álvaro, Santos Castañeda.

o Congreso Sociedad Madrileña Reumatología. Diciembre 2014. **Comunicación oral.**

o Congreso Nacional Sociedad Española de Reumatología. Sevilla, del 19 al 22 de mayo de 2015. Póster

- **CORRELACIÓN ENTRE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA CORTICAL EN METACARPIANOS MEDIANTE DENSITOMETRÍA CONVENCIONAL DE RAYOS X Y RADIOGRAMETRÍA ÓSEA EN UN REGISTRO DE PACIENTES CON ARTRITIS DE INICIO.** Irene Llorente¹, Leticia Merino¹, Ana M. Ortiz¹, Saturnino González², Eugenio Escolano², Jesús A. García-Vadillo¹, Esther F Vicente¹, Rosario García de

Vicuña¹, Isidoro González-Álvaro^{1*}, Santos Castañeda^{1*}. S.Reumatología¹ y Radiodiagnóstico². Hospital U. de La Princesa, IIS-IP; Diego de León 62; 28006-Madrid

- o Congreso Nacional Sociedad Española de Reumatología. Barcelona, 18 al 21 de mayo de 2016. Póster
- o Congreso XXI SEIOMM 2016. Gran Canaria. Póster

- **REPRODUCIBILIDAD Y VALIDACIÓN DE LA DETERMINACION DE LA MASA ÓSEA DE METACARPÍANOS MEDIANTE DENSITOMETRÍA DUAL DE RAYOS X EN VOLUNTARIOS SANOS Y PACIENTES CON ARTRITIS DE INICIO.** Irene Llorente¹, Alberto García-Vadillo¹, Elena García Lorenzo¹, Eugenio Escolano², Ana M. Ortiz¹, Isidoro González-Álvaro¹, Santos Castañeda¹. Servicios de Reumatología¹ y Radiodiagnóstico², Hospital Universitario de La Princesa, IIS-IP, 28006-Madrid

O Congreso Madrileño de Reumatología. Madrid 1 y 2 de diciembre de 2016. Póster.

- **CORRELACIÓN DE LA MASA ÓSEA MEDIDA POR DENSITOMETRÍA DUAL DE RAYOS X Y RADIOGRAMETRÍA DE RAYOS X DIGITAL CON FACTORES PREDICTORES EN PACIENTES CON ARTRITIS DE INICIO.** Autores: Irene Llorente¹, Saturnino González², Eugenio Escolano², Ana M. Ortiz¹, Alberto García-Vadillo¹, Isidoro González-Álvaro¹, Santos Castañeda¹. Servicios de Reumatología¹ y Radiodiagnóstico², Hospital Universitario de La Princesa, IIS-IP, 28006-Madrid

O Abstract aceptado como póster en el congreso nacional de Reumatología SER (Valencia 2019 y SEIOMM 2019)

- **ANALISIS OF BONE MINERAL DENSITY AT THE HAND BY RADIOGRAMMETRY AND DUAL X-RAY ABSORPTIOMETRY AS A PREDICTOR OF SEVERITY IN EARLY RHEUMATOID ARTRITIS PATIENTS. COMPARATIVE STUDY.** Irene Llorente, Leticia Merino, Saturnino González, AnaM. Ortiz,, Eugenio Escolano, Ana M. Fernández, Esther Vicente, Nieves Gómez deLeón, Rosario García de Vicuña, Isidoro González Álvaro, Santos Castañeda.

o EULAR 2014, París 11-14 de junio de 2014. Publication (*Ann Rheum Dis* 2014;**73**:885-886 doi:10.1136/annrheumdis-2014-eular.3743).

- **EFFECT OF ANTI CITRULLINATED PROTEIN ANTIBODIES ON PERIARTICULAR AND SYSTEMIC BONE MASS IN EARLY ARTHRITIS PATIENTS.** Irene Llorente, Leticia Merino, Ana M. Ortiz, Eugenio Escolano, Elena García, J. Alberto García-Vadillo, Teresa Velasco, Rosario García de Vicuña, Isidoro González-Álvaro*, Santos Castañeda
 - o EULAR 2015, Rome junio 2015. Publication (Ann Rheum Dis 2015;**74**:982-983 doi:10.1136/annrheumdis-2015-eular.5571)
 - o ACR 2015, San Francisco noviembre 2015, **Comunicación oral** (Beca de la Sociedad Española de Reumatología).
- **CORRELATION BETWEEN METACARPAL CORTICAL BONE MINERAL DENSITY MEASURED BY DUAL X-RAY DENSITOMETRY AND RADIOGRAMMETRY ON EARLY ARTHRITIS PATIENTS.** I. Llorente* 1, L. Merino1 , A. M. Ortiz2 , S. González3 , E. Escolano3 , J. A. García Vadillo2 , E. F. Vicente2 , R. García Vicuña2 , I. González2 , S. Castañeda2 1Rheumatology, Hospital de La Princesa, 2Rheumatology, 3Radiology, Hospital La Princesa, Madrid, Spain.
 - o EULAR 2016, Londres junio 2016. Póster (Ann Rheum Dis 2016;**75**:Suppl 2 363 doi:10.1136/annrheumdis-2016-eular.4312)
 - o ACR (American College of Rheumatology), Washington noviembre 2016. Póster. (Beca de la Sociedad Española de Reumatología).

Otros artículos desarrollados durante el periodo de desarrollo de la tesis

- 1. Registro de pacientes con miopatía inflamatoria de la Sociedad Madrileña de Reumatología: análisis descriptivo.** Laura Nuño; Beatriz Joven; Patricia Carreira; Valentina Maldonado; Carmen Larena; Irene Llorente; Eva Tomero; María Carmen Barbadillo; Paloma García-De la Peña; Lucía Ruiz; Juan Carlos López Robledillo; Henry Moruno; Ana Pérez; Tatiana Cobo-Ibáñez; Raquel Almodóvar; Leticia Lojo; Indalecio Monteagudo; María Jesús García-De Yébenes; Francisco Javier López-Longo. *Reumatol Clin.* 2016 Sep 5. pii: S1699-258X(16)30091-2. doi: 10.1016/j.reuma.2016.07.010.
- 2. Guía para el abordaje actual de la osteoporosis.** 2016. Capítulo 8. Evaluación del riesgo de fractura. Dr. JA García Vadillo. Dra. I. Llorente Cubas. ISBN: 978-84-16813-12-4
- 3. Mortality and prognostic factors in idiopathic inflammatory myositis: a retrospective analysis of a large multicenter cohort of Spain.** Nuño-Nuño L, Joven BE, Carreira PE, Maldonado-Romero V, Larena-Grijalba C, Cubas IL, Tomero EG, Barbadillo-Mateos MC, De la Peña Lefebvre PG, Ruiz-Gutiérrez L, López-Robledillo JC, Moruno-Cruz H, Pérez A, Cobo-Ibáñez T, Almodóvar González R, Lojo L, García De Yébenes MJ, López-Longo FJ. doi: 10.1007/s00296-017-3799-x.
- 4. Experience with the use of rituximab for the treatment of rheumatoid arthritis in a tertiary hospital in Spain.** RITAR Study. *J Clin Rheumatol.* 2018 Jul 19. doi: 10.1097/RHU.0000000000000845.
- 5. Rapid beneficial effect of the IL-6-receptor blockade on insulin resistance and insulin sensitivity in non-diabetic patients with rheumatoid arthritis.** Santos Castañeda, MD, PhD ¹⁺, Sara Remuzgo-Martínez, PhD ²⁺, Raquel López-Mejías, PhD ², Fernanda Genre, PhD ², Jaime Calvo, MD, PhD ³, Irene Llorente, MD ¹, Elena Aurrecochea, MD, PhD ⁴, Ana M. Ortiz, MD, PhD ¹, Ricardo Blanco, MD, PhD ², Javier Llorca, MD, PhD
- 6. Rituximab induces a lasting, non cumulative remodeling of the B-cell compartment.** J. López, L.Merino, L.Piris, F.Herrera, I.Llorente, A.Humbría, A.Ortiz, T.Velasco, R.García-Vicuña, S. Castañeda, I. González Álvaro, C.

Muñoz. Clin Exp Rheumatol. 2018 Dec 19. ^{5,6}, and Miguel A. González-Gay, MD, PhD ^{2,6,7*}. Clin Exp Rheumatology.

- 7. Overlap myositis, a distinct entity beyond primary inflammatory myositis: A retrospective analysis of a large cohort from the REMICAM registry.** Laura Nuño-Nuño, Beatriz Esther Joven, Patricia E. Carreira, Valentina Maldonado-Romero, Carmen Larena-Grijalba, Irene Llorente Cubas, Eva Tomero, María Carmen Barbadillo-Mateos, Paloma García de la Peña Lefebvre, Lucía Ruiz-Gutiérrez, Juan Carlos López-Robledillo, Henry Moruno-Cruz, Ana Pérez, Tatiana Cobo-Ibáñez, Raquel Almodóvar, Leticia Lojo, María Jesús García de Yébenes, Francisco Javier López-Longo. First published: 10 April 2019. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.13559>
- 8. Factors associated with long-term persistence of rituximab In rheumatoid arthritis In clinical practice: RITAR Study.** Iciar Cañamares Orbis*, Leticia Merino Meléndez, Irene Llorente Cubas, Juana Benedí González, Rosario García-Vicuña, Alberto Morell Baladróna, Isidoro González-Álvaro y Esther Ramírez Herraiz I. Cañamares Orbis et al. / Med Clin (Barc). 2020;155(1):1–8
- 9. Anti-IL-6 therapy reduces leptin serum levels in patients with rheumatoid arthritis.** Pulito-Cueto V, Remuzgo-Martínez S, Genre F, Calvo-Alén J, Aurrecoechea E, Llorente I, Triguero-Martínez A, Blanco R, Llorca J, Ruiz-Lucea E, Rivera-García N, Gualillo O, López-Mejías R, Castañeda S, González-Gay MA. Clin Exp Rheumatol. 2020 May 20. Online ahead of print. PMID: 32452351
- 10. The presence of both HLA-DRB1[*]04:01 and HLA-B[*]15:01 increases the susceptibility to cranial and extracranial giant cell arteritis.** Prieto-Peña D, Remuzgo-Martínez S, Ocejo-Vinyals JG, Atienza-Mateo B, Genre F, Muñoz-Jimenez A, Ortiz-Sanjuán F, Romero-Yuste S, Moriano C, Galindez-Agirregoikoa E, Calvo I, Ortego-Centeno N, Álvarez-Rivas N, Miranda-Fillooy JA, Llorente I, García-García J, Blanco R, Gualillo O, Martín J, Castañeda S, López-Mejías R, González-Gay MA. Clin Exp Rheumatol. 2021 Mar-Apr;39 Suppl 129(2):21-26. Epub 2021 Mar 18. PMID: 33734973
- 11. Detection of SARS-CoV-2 RNA in serum is associated with increased mortality risk in hospitalized COVID-19 patients.** Rodríguez-Serrano DA, Roy-Vallejo E, Zurita Cruz ND, Martín Ramírez A, Rodríguez-García SC, Arevalillo-Fernández N, Galván-Román JM, Fontán García-Rodrigo L, Vega-

Piris L, Chicot Llano M, Arribas Méndez D, González de Marcos B, Hernando Santos J, Sánchez Azofra A, Ávalos Pérez-Urria E, Rodríguez-Cortés P, Esparcia L, Marcos-Jimenez A, Sánchez-Alonso S, Llorente I, Soriano J, Suárez Fernández C, García-Vicuña R, Ancochea J, Sanz J, Muñoz-Calleja C, de la Cámara R, Canabal Berlanga A, González-Álvaro I, Cardeñoso L; REINMUN-COVID Group.. *Sci Rep.* 2021 Jun 23;11(1):13134. doi: 10.1038/s41598-021-92497-1. PMID: 34162948; PMCID: PMC8222315.

