

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**EFEECTO DE ADALIMUMAB SOBRE EL
METABOLISMO MINERAL ÓSEO EN
LA ENFERMEDAD DE CROHN**

Daniel Sánchez Cano

Granada, 2010

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Daniel Sánchez Cano
D.L.: GR 3220-2010
ISBN: 978-84-693-4363-0

DON NORBERTO ORTEGO CENTENO, Profesor Asociado del Departamento de Medicina de la Universidad de Granada y Jefe de Sección del Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario San Cecilio de Granada

CERTIFICA: Que la tesis que se presenta a juicio del Tribunal por el aspirante al grado de Doctor, D. Daniel Sánchez Cano, bajo el título EFECTO DE ADALIMUMAB SOBRE EL METABOLISMO MINERAL ÓSEO EN LA ENFERMEDAD DE CROHN, ha sido realizada bajo mi dirección y supervisión, encontrando dicho trabajo adecuado para tal fin.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, expido el siguiente certificado en Granada, a 8 de mayo de 2010.

Fdo: Dr. Norberto Ortego Centeno.

DON JOSÉ LUIS CALLEJAS RUBIO, Facultativo Especialista de Área del Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario San Cecilio de Granada

CERTIFICA: Que la tesis que se presenta a juicio del Tribunal por el aspirante al grado de Doctor, D. Daniel Sánchez Cano, bajo el título EFECTO DE ADALIMUMAB SOBRE EL METABOLISMO MINERAL ÓSEO EN LA ENFERMEDAD DE CROHN, ha sido realizada bajo mi dirección y supervisión, encontrando dicho trabajo adecuado para tal fin.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, expido el siguiente certificado en Granada, a 8 de mayo de 2010.

Fdo: Dr. José Luis Callejas Rubio.

AGRADECIMIENTOS:

Mi agradecimiento a:

A los Dres. Ortego Centeno y Callejas Rubio, no sólo por haberme guiado en esta empresa, sino por haber confiado en mí desde el principio, y haberme enseñado el significado de ser Médico.

A Blanca Martínez López, por su dedicación incondicional a este proyecto, y por todo el cariño y apoyo que me ha mostrado durante todo este tiempo. También, a todo el personal del Hospital de Día de Medicina Interna, que ha acompañado o sustituido ocasionalmente su labor.

A los pacientes que han participado en este trabajo, protagonistas indiscutibles del mismo.

A los Dres. Cardeña Pérez y Gómez García, porque su desinteresada colaboración ha sido imprescindible para que esta tesis llegase a buen puerto.

Al Dr. González Calvin, por el apoyo indispensable prestado.

Al personal de la Red de Bancos de Tumores de Andalucía del Hospital Universitario San Cecilio de Granada, por su colaboración en la conservación de las muestras de este estudio.

A Magdalena Quintana y Rosario Arcas, del Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina de Granada, así como a la Dra. Abadía Molina y su personal del Instituto de Biopatología y Medicina Regenerativa (IBIMER) de la Universidad de Granada, por su colaboración desinteresada en este estudio.

A Manme Olvera Procel, por su colaboración esencial en las tareas estadísticas,
y por la paciencia demostrada.

A la Fundación Hospital Clínico por la ayuda económica prestada para la
lectura de esta tesis.

A Marian, Marga y Jorge, porque han estado ahí cuando los he necesitado.

A mis padres, a quienes debo todo, y a mi familia.

Y a Ricardo.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUCCIÓN | 12 |
| 1.1 ENFERMEDAD DE CROHN..... | 13 |
| 1.1.1 Concepto..... | 13 |
| 1.1.2 Epidemiología..... | 14 |
| 1.1.3 Manifestaciones clínicas..... | 14 |
| 1.2 OSTEOPOROSIS..... | 16 |
| 1.2.1 Concepto..... | 16 |
| 1.2.2 Epidemiología..... | 18 |
| 1.2.3 Consecuencias de la osteoporosis..... | 18 |
| 1.2.3.1 Fracturas por fragilidad..... | 18 |
| 1.2.3.2 Costes socio-económicos..... | 20 |
| 1.2.4 Factores de riesgo..... | 21 |
| 1.2.5 Enfermedad de Crohn y osteoporosis..... | 21 |
| 1.2.5.1 Densidad mineral ósea en la enfermedad de Crohn..... | 22 |
| 1.2.5.2 Patogénesis de la osteoporosis en la enfermedad de Crohn..... | 22 |
| 1.2.5.3 Riesgo de fractura en la enfermedad de Crohn..... | 26 |
| 1.3 REMODELADO ÓSEO..... | 27 |
| 1.3.1 Fisiopatología..... | 28 |
| 1.3.2 Regulación..... | 30 |
| 1.3.2.1 Factores mecánicos..... | 30 |
| 1.3.2.2 Factores neurológicos..... | 31 |
| 1.3.2.3 Factores humorales generales: hormonas..... | 31 |

| | |
|---|----|
| 1.3.2.4 Factores locales..... | 32 |
| 1.3.3 Marcadores bioquímicos..... | 35 |
| 1.3.3.1 Utilidad de los marcadores en la osteoporosis..... | 37 |
| 1.4 EVALUACIÓN DEL PACIENTE CON OSTEOPOROSIS..... | 40 |
| 1.4.1 Evaluación clínica..... | 40 |
| 1.4.2 Determinaciones analíticas..... | 41 |
| 1.4.3 Medición de la masa ósea..... | 41 |
| 1.4.3.1 Aplicaciones de la DXA..... | 43 |
| 1.4.3.2 Indicaciones de la DXA..... | 44 |
| 1.4.3.3 Interpretación de la DXA..... | 44 |
| 1.4.4 Evaluación radiológica..... | 45 |
| 1.4.5 Marcadores bioquímicos de remodelado óseo..... | 46 |
| 1.5 SISTEMA OPG/RANKL..... | 46 |
| 1.5.1 Descubrimiento y descripción del sistema OPG/RANKL..... | 46 |
| 1.5.2 Regulación del sistema OPG/RANKL..... | 49 |
| 1.5.3 El sistema OPG/RANKL en la osteoporosis..... | 51 |
| 1.5.3.1 Contribución del sistema OPG-RANKL en las enfermedades inflamatorias óseas..... | 53 |
| 1.5.4 Sistema OPG/RANKL en la enfermedad de Crohn..... | 54 |
| 1.6 EL TNF- α EN LA ENFERMEDAD DE CROHN..... | 56 |
| 1.6.1 Descripción y receptores..... | 56 |
| 1.6.2 TNF- α y osteoporosis..... | 56 |

| | |
|---|-----------|
| 1.6.3 Niveles de TNF- α y sus receptores, y su relación con el grado de actividad de la enfermedad de Crohn..... | 57 |
| 1.7 ADALIMUMAB..... | 58 |
| 1.7.1 Fármacos anti-TNF: descripción y mecanismo de acción..... | 58 |
| 1.7.2 Indicaciones de los fármacos anti-TNF en la enfermedad de Crohn..... | 59 |
| 1.7.3 Perfil de seguridad de los fármacos anti-TNF..... | 60 |
| 1.7.4 Efecto del tratamiento anti-TNF en el metabolismo óseo..... | 63 |
| 2 OBJETIVOS..... | 66 |
| 2.1 OBJETIVO GENERAL..... | 67 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 67 |
| 3 MATERIAL Y MÉTODOS..... | 68 |
| 3.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO..... | 69 |
| 3.2 INTERVENCIÓN FARMACOLÓGICA..... | 70 |
| 3.3 DISEÑO DEL ESTUDIO..... | 70 |
| 3.4 DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS..... | 72 |
| 3.4.1 Determinaciones hormonales..... | 72 |
| 3.4.2 Determinación de la PCR..... | 72 |
| 3.4.3 Determinación de los marcadores de remodelado óseo... .. | 72 |
| 3.4.4 Determinación de marcadores de osteoclastogénesis..... | 74 |
| 3.4.5 Determinación del sTNF-RI..... | 75 |

| | |
|--|------------|
| 3.5 MEDICIÓN DE LA MASA ÓSEA..... | 75 |
| 3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO..... | 76 |
| 4 RESULTADOS..... | 77 |
| 4.1 DESCRIPCIÓN DEL GRUPO DE ESTUDIO..... | 78 |
| 4.2 RESPUESTA CLÍNICA Y BIOLÓGICA AL TRATAMIENTO CON ADALIMUMAB..... | 109 |
| 4.3 CAMBIOS EN LOS MARCADORES DE REMODELADO ÓSEO..... | 111 |
| 4.4 CAMBIOS EN LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA..... | 114 |
| 4.5 CAMBIOS EN LOS MARCADORES DE OSTEOCLASTOGÉ- NESIS Y EL sTNF-RI..... | 116 |
| 4.6 RELACIÓN ENTRE LOS CAMBIOS EN LA MASA ÓSEA, MARCADORES DE REMODELADO ÓSEO, OPG, RANKL Y sTNF-RI..... | 119 |
| 4.7 INFLUENCIA DE LA TOMA DE CORTICOIDES Y LA FORMA DE LA ENFERMEDAD EN LOS CAMBIOS PRODUCIDOS POR ADALIMUMAB..... | 121 |
| 5 DISCUSIÓN..... | 125 |
| 5.1 CARACTERÍSTICAS BASALES DEL GRUPO DE ESTUDIO..... | 127 |
| 5.1.1 Variables densitométricas..... | 127 |
| 5.1.2 Marcadores de remodelado óseo..... | 128 |
| 5.1.3 Marcadores de osteoclastogénesis y sTNF-RI..... | 130 |
| 5.2 CAMBIOS TRAS EL TRATAMIENTO CON ADALIMUMAB..... | 131 |
| 5.2.1 Densidad mineral ósea..... | 131 |
| 5.2.2 Marcadores de remodelado óseo..... | 133 |
| 5.2.3 Marcadores de osteoclastogénesis y sTNF-RI..... | 136 |

| | |
|-----------------------------|-----|
| 6 CONCLUSIONES | 139 |
| 7 RESUMEN | 141 |
| 8 BIBLIOGRAFÍA | 144 |

1 INTRODUCCIÓN

1.1 ENFERMEDAD DE CROHN.

La enfermedad de Crohn (EC) es una de las tres entidades clínicas incluidas bajo el término genérico de enfermedad inflamatoria intestinal (EII), de etiología desconocida, cuya característica fundamental es la inflamación crónica y recurrente de diferentes partes del tubo digestivo.

1.1.1 Concepto.

La EC es un proceso inflamatorio transmural y recurrente de la mucosa gastrointestinal, que puede afectar a cualquier parte del tracto digestivo, desde la boca hasta el ano. Las presentaciones típicas incluyen la afectación segmentaria del tracto gastrointestinal, con áreas de intestino sano entre segmentos afectados, así como el desarrollo de complicaciones evolutivas entre las que se incluyen fistulas, abscesos y estenosis. Su diagnóstico se basa en la combinación de datos clínicos, analíticos, radiológicos, endoscópicos y anatomopatológicos (Baumgart and Sandborn 2007).

La localización anatómica y el patrón evolutivo de la enfermedad de acuerdo con la clasificación de Viena se modifican a lo largo del curso de la enfermedad. En el momento del diagnóstico, el 47% de los casos se localizan en el íleon terminal, el 28% en el colon, el 21% en íleo-colon, y el 3% en el tracto digestivo superior. En relación al patrón evolutivo de la enfermedad, éste se clasifica en no estenosante ni penetrante (70% de pacientes en el momento del diagnóstico), estenosante (17%) o penetrante -fistulas, abscesos o ambos- (13%) (Louis, Collard et al. 2001).

Endoscópicamente las lesiones se distribuyen de forma asimétrica y parcheada, con ulceraciones de diferentes tamaños. Desde el punto de vista histológico, el hallazgo más característico es la aparición de granulomas no caseificantes (si bien se detectan en menos del 60% de los casos). La inflamación afecta a todas las capas de la pared, y puede aparecer distorsión de las criptas de forma discontinua.

La EC puede ser clasificada en función de la gravedad de los brotes, existiendo diferentes índices, de los cuales, el más utilizado sigue siendo el índice de

actividad de la EC (CDAI, del inglés Crohn's Disease Activity Index) (Best, Bechtel et al. 1976).

1.1.2 Epidemiología.

Clásicamente se ha venido describiendo un gradiente Norte-Sur respecto a la incidencia de la EII, con mayor incidencia en América del Norte, Reino Unido y países del norte de Europa. Aunque esas diferencias siguen existiendo (Loftus 2004), existe una tendencia progresiva de las mismas a igualarse, al menos en el sur de Europa, motivado por un lado por la estabilización de las tasas en los países del norte y, por otro, por el progresivo aumento en el número de casos en el sur de Europa (como es el caso de España), donde la EII constituye hoy en día un problema muy frecuente (Shivananda, Lennard-Jones et al. 1996).

La incidencia de la EC en los países occidentales se ha estimado entre 3,9-7 personas por 100.000 habitantes y año (Rodrigo, Riestra et al. 2004). Los estudios más recientes realizados en la población general española (Lopez Miguel, Sicilia et al. 1999; Saro Gismera, Lacort Fernandez et al. 2000; Garrido, Martinez et al. 2004; Rodrigo, Riestra et al. 2004) muestran unas tasas de incidencia similares, en torno a 3,9-7,5 casos por 100.000 habitantes y año, tasas muy superiores a las descritas en estudios previos, lo que se justifica, en parte, por problemas metodológicos en los estudios iniciales y, en parte, por un aumento real de la incidencia en relación con el desarrollo socioeconómico experimentado en nuestro país.

En cuanto a la prevalencia, los estudios publicados son escasos, pero se estima que es aproximadamente 10-20 veces la incidencia de la EC.

1.1.3 Manifestaciones clínicas.

La presentación clínica de la EC es muy heterogénea, y depende fundamentalmente de la localización de la enfermedad, pudiendo manifestarse como diarrea (con o sin sangre y/o moco), dolor abdominal, fiebre y obstrucción intestinal (Baumgart and Sandborn 2007). La triada clásica de diarrea, dolor abdominal y pérdida ponderal sólo aparece en una cuarta parte de los casos (Sawczenko and Sandhu 2003).

1.1.3.1 Diarrea.

Es el signo más frecuente de presentación en el momento del diagnóstico (Sands 2004), y puede estar relacionada con la propia actividad inflamatoria o con otras causas como el sobrecrecimiento bacteriano, la malabsorción intestinal o la presencia de sales biliares (por la afectación ileal). Tiene un carácter crónico (duración superior a 6 semanas), pudiendo encontrarse sangre o moco con las deposiciones hasta en el 50% de los pacientes con EC localizada en el colon (Calvo Hernán and Hinojosa del Val 2008).

1.1.4 Dolor abdominal.

También puede tener diferentes causas, variando sus características en función de su origen y localización. Así, en pacientes con estenosis ileales, el dolor suele ser cólico, situado en la fosa ilíaca derecha, con distensión abdominal y sensación nauseosa con o sin vómitos. La aparición de abscesos o plastrones también provoca dolor, pero de características continuas, y asociado con sensación de masa abdominal, fiebre y signos variables de irritación peritoneal. La afectación gastroduodenal puede dar lugar a cuadros que impresionan de origen péptico (Calvo Hernán and Hinojosa del Val 2008).

1.1.4.1 Pérdida de peso.

Se debe tanto a la situación de catabolismo generada por la inflamación, como a otros factores como la malabsorción existente por la afectación del intestino delgado y la hiporexia, y el miedo a comer que con frecuencia presentan estos enfermos (Calvo Hernán and Hinojosa del Val 2008).

1.1.4.2 Fiebre.

Es otro signo frecuente de presentación, en ocasiones de forma aislada, sin ninguno de los “síntomas guía” reseñados (diarrea, dolor abdominal y pérdida de peso), por lo que la EC debe tenerse en cuenta en el estudio de un paciente con fiebre de origen no aclarado (Calvo Hernán and Hinojosa del Val 2008).

1.1.4.3 Afectación perianal.

La presencia de fístulas y abscesos se describe en el 10% de los pacientes en el momento del diagnóstico (Schwartz, Loftus et al. 2002), fundamentalmente en las formas cólicas puras e íleo-cólicas, pudiendo preceder a la aparición de los síntomas digestivos.

1.1.4.4 Manifestaciones extraintestinales.

Otro conjunto de manifestaciones clínicas a tener en cuenta son las llamadas manifestaciones extraintestinales, que pueden preceder a las manifestaciones digestivas, acompañarlas o presentarse de forma independiente. Están presentes hasta en el 30% de los pacientes con EC. Las más frecuentes son las manifestaciones musculoesqueléticas (artritis periféricas, sacroileítis, espondilitis), cutáneas (eritema nudoso, pioderma gangrenoso, estomatitis aftosa) y oculares (epiescleritis, uveítis), aunque también se han descrito manifestaciones hepatobiliares (colangitis esclerosante primaria), pancreáticas, pulmonares, renales, neurológicas y fenómenos tromboembólicos (Rothfuss, Stange et al. 2006).

1.2 OSTEOPOROSIS.

La osteoporosis es la enfermedad metabólica ósea más frecuente en el ser humano. Es un proceso crónico y progresivo, cuya prevalencia es especialmente elevada en mujeres postmenopáusicas (Muñoz Torres, Alonso et al. 2003). Esta enfermedad es prevenible y tratable, a fin de minimizar la morbimortalidad asociada a la aparición de la complicación más frecuente: las fracturas.

1.2.1 Concepto.

La osteoporosis se define como una “enfermedad esquelética sistémica caracterizada por baja masa ósea y deterioro de la microarquitectura del tejido óseo, con el consiguiente aumento de la fragilidad del hueso y la susceptibilidad a fracturas” (NIH 2001). Los elementos esenciales de esta definición son la masa ósea baja y la alteración de la microarquitectura, que distinguen a la osteoporosis de otras enfermedades óseas. La alteración de la

microarquitectura se caracteriza por la pérdida, adelgazamiento y falta de conexión entre las trabéculas óseas, junto con una serie de factores, como alteraciones en el remodelado óseo, la propia geometría del hueso, etc., que se han agrupado bajo el concepto de calidad ósea (Recker and Barger-Lux 2004). Todo ello produce un deterioro de la integridad estructural del hueso y favorece la fragilidad esquelética, lo cual conlleva un incremento del riesgo de fracturas.

Los cambios expuestos pueden ser evaluados indirectamente desde el punto de vista cuantitativo, mediante medidas no invasivas de la densidad mineral ósea (DMO), la cual explica entre el 75% y el 85% de la variación de la resistencia final del tejido óseo y se correlaciona estrechamente con la capacidad de carga del esqueleto determinada por estudios in vitro. Así, en la práctica, la enfermedad se define por determinados valores de DMO y no por la presencia de fracturas, que en realidad constituyen una complicación clínica. Esta definición establece una fuerte asociación entre DMO y riesgo de fracturas, aunque otros factores, independientes de la masa ósea, tienen gran importancia (Sosa Henríquez and Díez Pérez 2006). De este modo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció una definición operativa basada en la determinación de la DMO en cualquier región esquelética para mujeres postmenopáusicas de raza blanca. Así, se establece como normal valores de DMO superiores a -1 desviación estándar (DE) con relación a la media de adultos jóvenes (T-score > de -1); osteopenia valores de DMO entre -1 y -2,5 DE (T-score entre -1 y -2,5); osteoporosis valores de DMO inferiores a -2,5 DE (T-score < a -2,5) y osteoporosis establecida cuando junto a las condiciones previas se asocia una o más fracturas osteoporóticas (WHO 1994). Estudios prospectivos muestran que la disminución de una DE de DMO incrementa el riesgo de fractura con un riesgo relativo (RR) de 1,5-2,6, dependiendo de la zona de medida y la fractura evaluada (Cummings, Bates et al. 2002). En varones mayores de 50 años se extrapolan estos resultados. En mujeres premenopáusicas y en varones menores de 50 años, no existe una definición de osteoporosis, pero un Z-score inferior a -2DE implica una menor masa ósea de la esperada para la edad, y podría considerarse como sinónimo de osteoporosis.

1.2.2 Epidemiología.

La osteoporosis afecta a una de cada cuatro mujeres y a uno de cada ocho varones a partir de los 50 años, aumentando la incidencia de forma significativa en las mujeres después de la menopausia, hasta el punto que hoy se estima que es la enfermedad crónica más prevalente en todo el mundo, especialmente en mujeres mayores de 65 años; basándose en los criterios de la OMS, se ha estimado que el 54% de las mujeres de raza blanca postmenopáusicas, en los Estados Unidos (EEUU), tienen osteopenia, y otro 33% más padecen osteoporosis. La prevalencia para los distintos grupos de edad es de 15% para las edades comprendidas entre 50 y 59 años, 22% entre 60 y 69 años, 22% para edades entre 70 y 79 años, y superior al 80% para mujeres mayores de 80 años (Rosen 2005).

En España, la prevalencia de osteoporosis lumbar en mujeres aumenta progresivamente con la edad desde un 4,3% para el grupo de edad entre 45-50 años, hasta un 40% para las mayores de 70 años (Muñoz Torres, Alonso et al. 2003). En la región femoral, va desde un 5,7% en la década de los 60 hasta un 24,4% en mayores de 70 años (Naves, Diaz-Lopez et al. 2005). Para los varones, la prevalencia de osteoporosis densitométrica es del 8,1% en mayores de 50 años (Naves, Diaz-Lopez et al. 2005).

1.2.3 Consecuencias de la osteoporosis.

1.2.3.1 Fracturas por fragilidad.

Las fracturas por fragilidad son el signo característico de la osteoporosis, y aunque pueden afectar a cualquier tipo de hueso, son especialmente frecuentes en vértebras, extremidad proximal del fémur y antebrazo distal. Se definen como fracturas osteoporóticas aquellas que se localizan en zonas de baja DMO, y que presentan una mayor incidencia en mayores de 50 años (Kanis, Johnell et al. 2001), o bien aquellas que ocurren tras una caída desde la propia altura. La osteoporosis y la presencia de fracturas son más frecuentes en mujeres que en hombres. Se estima que la fractura del antebrazo distal es 5 veces más frecuentes en mujeres, y que las fracturas vertebrales y de cadera son aproximadamente el doble de frecuentes que en el hombre. No obstante,

tomadas todas las fracturas en conjunto, la fractura vertebral es la que aparece con mayor frecuencia en ambos sexos (Roy, O'Neill et al. 2003; Naves, Diaz-Lopez et al. 2005).

La presencia de fracturas por fragilidad se asocia a un mayor riesgo de presentar nuevas fracturas osteoporóticas, así como a un incremento de la mortalidad y una disminución de la calidad de vida. De este modo, la existencia de una fractura vertebral multiplica por 3 el riesgo de sufrir una fractura de Colles, por cerca de 5 veces la posibilidad de sufrir una nueva fractura vertebral y por más de 6 veces la de sufrir una fractura de cadera, tanto en hombres como en mujeres (Lindsay, Burge et al. 2005). Igualmente, el hecho de presentar una fractura de cadera incrementa el riesgo de sufrir una fractura vertebral única o múltiple, y de otras fracturas, como la del tercio distal del radio (van Staa, Leufkens et al. 2002).

La incidencia de la fractura de Colles aumenta de forma lineal desde los 40 a los 65 años, estabilizándose a partir de entonces (Honkanen, Honkanen et al. 2000). Además, la fractura de Colles es un factor de riesgo independiente para la futura presentación de fracturas vertebrales o de cadera.

En la fractura de cadera se producen varios hechos que la hacen muy apropiada para considerarla como modelo de la fractura osteoporótica. En primer lugar, por su relación con la osteoporosis. A partir de los 50 años, se asume que la fractura de cadera se debe casi exclusivamente a la osteoporosis, una vez excluidas las fracturas patológicas asociadas a neoplasias. Y en segundo lugar, por sus consecuencias, ya que los pacientes que sufren una fractura de cadera casi siempre ingresan en un centro hospitalario. La incidencia de la fractura de cadera es variable según la población analizada (Johnell and Kanis 2005). La fractura del fémur es la más grave y la que presenta repercusiones a corto y largo plazo, con una mortalidad en torno al 12-20%. Existe un incremento de 2,4 a 3 veces del riesgo de fractura del fémur por cada DE de disminución de la DMO (Cummings and Melton 2002). Además, este tipo de fractura se ve influenciada por numerosos factores de riesgo independientes de la DMO relacionados con la predisposición a las caídas (Kanis, Oden et al. 2003). En España, la incidencia anual de la fractura del fémur en mujeres con una edad superior a 50 años es de 3 por 1000, y el doble para la fractura del tercio distal

del radio. En la actualidad, el riesgo de padecer una fractura del fémur en lo que le reste de vida para una mujer española de 50 años oscila entre un 12-16% (Naves, Diaz-Lopez et al. 2005).

1.2.3.2 Costes socio-económicos.

Datos recientes indican que la reducción de la calidad de vida asociada a la presencia de una fractura vertebral clínica es, al menos, tan importante como la de la fractura de cadera, por lo que la morbilidad de aquella ha podido ser infravalorada hasta ahora (Fechtenbaum, Cropet et al. 2005; Johnell, Kanis et al. 2005). Existe, además, un aumento de la mortalidad asociada a la presencia de fractura vertebral clínica según muestran los estudios EVOS (European Vertebral Osteoporosis Study) y SOF (Study of Osteoporotic Fractures) (Ensrud, Thompson et al. 2000). La repercusión de la fractura distal del radio es menor (Johnell, Kanis et al. 2004), aunque hasta en un tercio de los casos quedan secuelas en cuanto a al grado de movilidad y fuerza.

El impacto sobre la calidad de vida de la fractura de cadera es considerable como consecuencia de la hospitalización, y disminución de la capacidad física y de independencia para ciertas actividades. La mitad de las pacientes pierden la capacidad de deambulación sin ayuda, y de aquellas que eran independientes previamente a la fractura, la mitad necesitan cuidados o institucionalización tras la misma (Formiga and Pujol 2005). Este aumento de la mortalidad se debe en gran medida a las patologías crónicas asociadas y a las complicaciones postoperatorias, más que a la propia fractura en sí (Chevalley, Hoffmeyer et al. 2002).

Se calcula que en España la mortalidad debida a la fractura de la cadera oscila entre el 5 y el 8% durante el primer ingreso, y entre el 14 y el 36% durante el primer año (Formiga and Pujol 2005). Estas fracturas se asocian no sólo con mayor riesgo de mortalidad, sino también con un importante descenso en la calidad de vida y estancias hospitalarias más prolongadas (Alarcon Alarcon and Gonzalez-Montalvo 2004; Brossa, Tobias et al. 2005).

1.2.4 Factores de riesgo.

Estudios epidemiológicos han identificado un conjunto de factores de riesgo para la osteoporosis (Sosa Henríquez and Díez Pérez 2006) (tabla 1). Con el objeto de evitar confusiones, deben separarse los factores de riesgo relacionados con la DMO, y que podrían considerarse propiamente como factores de riesgo para la DMO baja (que se hace sinónimo de osteoporosis), de los factores de riesgo asociados a las fracturas (Gass and Dawson-Hughes 2006). Éstos últimos pueden ser más útiles para identificar pacientes que se beneficiarán de intervenciones terapéuticas. Un informe reciente de la National Osteoporosis Foundation (NOF) considera que un conjunto de 5 factores de riesgo para la fractura son especialmente útiles para su aplicación en el escenario clínico. Estos son: la DMO, la historia previa de fracturas, la historia familiar de fracturas, la delgadez y el hábito tabáquico activo (2003). De estos factores, la historia personal de fractura es el más objetivable y de mayor importancia clínica. Existen, además, factores que predisponen a la fractura con independencia de la masa ósea o de la tendencia a las caídas. Algunos seguramente que lo hacen modificando la “calidad ósea”, como el antecedente personal o familiar de fractura o el grado de recambio óseo; el cuello femoral largo aumenta el riesgo de fractura de cadera; la delgadez supone una disminución de las partes blandas que amortiguan el golpe, etc.

Posiblemente sea más práctico clasificar los factores de riesgo en modificables y no modificables, independientemente de que sean factores asociados a la osteoporosis o a la fractura, para de esta manera incidir en los modificables con medidas preventivas o terapéuticas.

1.2.5 Enfermedad de Crohn y osteoporosis.

La osteoporosis es una complicación bien conocida de la EII en general, y de la EC en particular. En estudios transversales se ha cifrado la prevalencia de baja masa ósea en aproximadamente el 30% de los pacientes. En general, la DMO media sería un 10% menor que en la población general (Pigot, Roux et al. 1992).

TABLA 1.2.4.1 Algunos factores de riesgo para la baja masa ósea.

| No modificables | Modificables |
|---|----------------------------|
| Edad | Actividad física escasa |
| Sexo (mujer) | Escasa ingestión de calcio |
| Genética | Dieta hiperproteica |
| Menopausia | Tabaco |
| Enfermedades: | Abuso del alcohol |
| Endocrinas: Cushing, hiperparatiroidismo primario, hipertiroidismo, hipogonadismo | Abuso del café |
| Autoinmunes: artritis reumatoide, LES | Delgadez (IMC<19kg/m2) |
| Nutricionales: malnutrición, anorexia nerviosa | Corticoides |
| Digestivas: EII, celiaquía, hepatopatías graves | Inmunosupresores |
| Neoplásicas: mieloma múltiple | Anticoagulantes, heparina |

IMC: índice de masa corporal

1.2.5.1 Densidad mineral ósea en la enfermedad de Crohn.

La masa ósea baja parece ser más frecuente en la EC que en la colitis ulcerosa (CU). Un estudio transversal encontró una reducción del 7,3% de la DMO media en enfermos con CU respecto sujetos sanos (Jahnsen, Falch et al. 1997). En otro, con 224 pacientes con EC activa o quiescente, el 36% presentó una DMO normal, mientras que el 51 y el 13% presentaron osteopenia y osteoporosis, respectivamente (Siffledeen, Siminoski et al. 2007).

1.2.5.2 Patogénesis de la osteoporosis en la enfermedad de Crohn.

Los factores que influyen en el desarrollo de osteoporosis en la EC pueden dividirse en: a) comunes a los del resto de la población (bajo peso,

antecedentes familiares, edad, sexo femenino, menopausia, tabaco,...) y; b) específicos, como la deficiencia de vitaminas D y K, el tratamiento con glucocorticoides, alteraciones hormonales y el proceso inflamatorio en sí (Vestergaard, Krogh et al. 2000; Franchimont, Putzeys et al. 2004; Bartram, Peaston et al. 2006).

1.2.5.2.1 Déficit de vitamina D.

En un estudio llevado a cabo por Driscoll Jr *et al* con 82 pacientes con EC, se vio que hasta el 65% de los mismos presentaban niveles bajos de 25-hidroxi-vitamina D₃ (25OHD₃), y el 25% tenían deficiencia (<10 ng/mL). Estos niveles eran menores si existía resección previa del íleon. A 9 pacientes se les practicó biopsia ósea, presentando 6 de ellos osteomalacia y 3 osteoporosis (Driscoll, Meredith et al. 1982). Más recientemente, en un estudio con 242 enfermos de Crohn, se detectó que el 8% de los mismos presentaba niveles de 25-hidroxi-vitamina D inferiores a 25 nmol/L, y el 22% niveles inferiores a 40 nmol/L. Si bien no se detectaron diferencias en relación a la DMO con los pacientes que presentaban niveles de 25-hidroxi-vitamina D normales, sí hubo evidencia bioquímica de enfermedad metabólica ósea (Siffledeen, Siminoski et al. 2003). Jahnsen et al detectaron niveles de 25OHD₃ inferiores a 30 nmol/L en el 27% de 60 pacientes con EC, aunque tampoco encontraron relación entre los niveles de 25OHD₃ y la DMO (Jahnsen, Falch et al. 2002).

El déficit de vitamina D se debe, en parte, a la escasa ingesta de lácteos (que están enriquecidos en dicha vitamina en muchos países), pero también a la mala absorción de la misma y a la utilización de glucocorticosteroides. Además, debido a las limitaciones que comporta la enfermedad en estado grave, con frecuencia la exposición solar de estos pacientes es deficiente (debiéndose recordar que la exposición de la piel a la luz del sol es la mayor fuente de producción de vitamina D). Sin embargo, muchos pacientes con niveles normales de 25OHD₃ tienen osteoporosis, por lo que esta debe ser explicada por otras causas.

1.2.5.2.2 Déficit vitamina K.

La vitamina K es un cofactor necesario para la carboxilación de las proteínas Gla (gamma carboxiglutamato) por los osteoblastos, entre las que se encuentran la osteocalcina y la proteína Gla de la matriz, ambas con un papel regulador en la mineralización y remodelado del hueso. Diversos estudios han aportado evidencia de la relación entre un status deficitario de la vitamina K y la mineralización ósea. Varios trabajos han encontrado un status de vitamina K deficitario en pacientes con EII y una relación con la pérdida de masa ósea. Una de las posibles causas de este estado deficitario podría ser la toma de antibióticos, que alteraría la flora intestinal, responsable de buena parte de los requerimientos diarios de vitamina K (Schoon, Muller et al. 2001; Duggan, O'Brien et al. 2004; Gilman, Shanahan et al. 2006).

1.2.5.2.3 Tratamiento con glucocorticoides.

Muchos pacientes precisan glucocorticoides (GC) para el control de su enfermedad. Éstos, entre otras acciones, disminuyen la absorción de calcio, aumentan su excreción renal, aumentan el metabolismo de la vitamina D y, en conjunto, inhiben la formación de hueso y aumentan su resorción.

La pérdida de masa ósea es más frecuente en pacientes con EII que han recibido tratamiento con corticoides. En un estudio se comunicó que la incidencia de osteopenia era aproximadamente el doble en pacientes que habían recibido tratamiento con corticoides respecto a los que no (52% frente al 28%) (Abitbol, Roux et al. 1995). En general, se acepta que la DMO en pacientes con EII se correlaciona de forma inversa con la dosis acumulada de corticoides a lo largo de la vida (Pigot, Roux et al. 1992; Abitbol, Roux et al. 1995; Bernstein, Seeger et al. 1995; Jahnsen, Falch et al. 1997). No obstante, es difícil distinguir el grado de contribución del uso de estos fármacos sobre el hueso en comparación con la actividad de la enfermedad, ya que una actividad elevada y un alto grado de inflamación son indicaciones para el uso de esteroides. Mientras que la prednisona, la metilprednisolona y la prednisolona tienen una acción sistémica y constituyen uno de los mayores factores que contribuyen a la osteoporosis en la EII, la budesonida, un corticoide de acción local con baja biodisponibilidad sistémica, se viene usando de manera creciente

en el tratamiento de la EII, dado que carece de efectos sistémicos, incluyendo la pérdida de masa ósea (Ali, Lam et al. 2009).

1.2.5.2.4 Alteraciones en las hormonas sexuales.

La amenorrea y el hipogonadismo son frecuentes en los pacientes con EC, probablemente como consecuencia de los efectos inhibitorios de la inflamación y el tratamiento esteroideo sobre la función hipofisaria (Quint and Kaiser 1985).

En el hombre, los GC reducen las concentraciones de testosterona al menos en un tercio, al inhibir la secreción de gonadotropinas, una causa conocida de osteoporosis (Odell 1996).

1.2.5.2.5 Actividad inflamatoria de la enfermedad.

En algunos pacientes se aprecia baja masa ósea sin tener ninguno de los factores señalados anteriormente, en algunos de ellos incluso en el momento del diagnóstico, sin haber recibido ningún tipo de tratamiento previo (Ghosh, Cowen et al. 1994). Además, la osteoporosis es frecuente en pacientes con EII que toman corticoides en dosis bajas y que presentan niveles normales de vitamina D (Bjarnason, Macpherson et al. 1997). De este modo, se piensa que la propia enfermedad provocaría disminución de la masa ósea, quizás mediado por un incremento de la producción de citocinas en el propio intestino, la cual daría lugar a una activación de los osteoclastos, sin un aumento compensatorio de la formación ósea (Ghosh, Cowen et al. 1994; Abitbol, Roux et al. 1995; Bjarnason, Macpherson et al. 1997; Tilg, Moschen et al. 2008). Algunas de estas citocinas implicadas serían el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y la interleuquina 6 (IL-6) (Tilg, Moschen et al. 2008).

En relación al efecto de la actividad inflamatoria de la enfermedad sobre la masa ósea, *Reffitt et al* estudiaron una cohorte de 137 pacientes con EII con el fin de:

- a) Valorar si los pacientes con EII en remisión tienen mayor masa ósea que los pacientes con enfermedad activa.
- b) Analizar el efecto de la remisión en la masa ósea en pacientes con EC y CU.

- c) Estudiar el efecto del tratamiento con azatioprina utilizada para inducir la remisión.

El estudio detectó que la masa ósea en pacientes con EII era mayor cuanto mayor era el tiempo de remisión. Es más, los pacientes que tomaban azatioprina y estaban en remisión tenían mayor masa ósea. En la EC, los pacientes inactivos durante más de 3 años tenían mayor DMO en columna lumbar; en cuello de fémur las diferencias fueron menores. Por último, los pacientes con azatioprina tenían mayor Z-score en columna lumbar, sobre todo si estaban en remisión; sin embargo, aunque en cuello de fémur hubo mayor masa ósea, no fue estadísticamente significativo (Reffitt, Meenan et al. 2003).

En un intento por determinar la importancia relativa de cada uno de los factores de riesgo para osteoporosis en la EC, *Bartram et al* realizaron un análisis multifactorial sobre una cohorte de 258 pacientes. El porcentaje de pacientes que presentaba osteopenia de columna lumbar fue del 29.8%, y en cadera del 25.9%; para la osteoporosis fue del 11.6 y 13.6%, respectivamente. Los pacientes con osteoporosis en columna lumbar y/o cadera presentaban un índice de masa corporal (IMC) más bajo, un tratamiento esteroideo más prolongado y una mayor duración de la enfermedad con respecto a los que presentaban osteopenia o una densidad mineral ósea normal. Por otro lado, los pacientes con osteoporosis tuvieron unos niveles de N-telopéptido de colágeno tipo 1 (Ntx) más elevados, lo que sugiere una osteoporosis de alto recambio (*Bartram, Peaston et al. 2006*).

1.2.5.3 Riesgo de fractura en la enfermedad de Crohn.

La consecuencia de la osteoporosis es el desarrollo de fracturas. Sin embargo, el incremento del riesgo de fracturas en la EC respecto a la población general no está bien establecido. En una cohorte de 6027 pacientes con EII, *Berstein et al* detectaron un aumento del riesgo total de fractura del 47%, siendo mayor para las fracturas vertebrales (54%) (*Bernstein, Blanchard et al. 2000*), mientras que *Vestergaard et al* encontraron un incremento del riesgo total de fractura en mujeres (RR 2,5), pero no en varones (RR 0,6) (*Vestergaard, Krogh et al. 2000*). Si bien, hay discrepancias al respecto. Así, *Loftus et al* no detectaron un aumento de la incidencia de fracturas en pacientes con EC con

respecto a la población control, con un RR próximo a 1 en todas las localizaciones (Loftus, Achenbach et al. 2003).

En general, se acepta que el incremento del de riesgo fractura es modesto. Para todo tipo de fracturas, el riesgo relativo para la EC es de 1,3, siendo algo mayor en el caso de las fracturas de cadera (1,5). Puesto que la mayoría de los estudios se apoyan en informes de fracturas, es posible que la prevalencia de las fracturas vertebrales (y todas en general) esté infravalorada. De hecho, los dos únicos estudios que han empleado morfometría cuantitativa de radiografías de columna vertebral encontraron una prevalencia de fracturas vertebrales muy alta (14-22%) (Lewis and Scott 2007). Se han detectado diversos factores de riesgo para la fractura osteoporótica en la EII, como son la baja DMO, la edad, el uso de corticoides y la actividad de la enfermedad. La DMO, a su vez, puede verse influenciada negativamente en la EII por la menor edad al diagnóstico, el sexo masculino, un bajo índice de masa corporal (IMC), la duración de la enfermedad, la presencia de resección ileal previa, la dosis acumulada de corticoides, la actividad física reducida y el tabaquismo (Lewis and Scott 2007).

1.3 REMODELADO ÓSEO.

Remodelado óseo es el término con el que nos referimos al incesante fenómeno de renovación al que está sometido el hueso. Se lleva a cabo simultáneamente en múltiples unidades microscópicas bien delimitadas dispersas por todo el esqueleto llamadas “unidades básicas de remodelado”. La unidad de remodelado se compone de un frente de osteoclastos seguido de un grupo de osteoblastos, un aporte vascular y nervioso, y tejido conectivo. Su vida media es entre seis y nueve meses, y se calcula que en un determinado momento están activas entre 1,5 y 2 millones de estas unidades. En cada una de ellas el hueso es destruido y después sustituido por otro recién formado (Manolagas 2000; Jilka 2003). Tanto los osteoblastos como los osteoclastos se originan en la médula ósea. Los precursores de estos últimos son de estirpe hematopoyética, mientras que los de los osteoblastos pertenecen al parénquima (estroma) de la médula.

Las principales funciones del fenómeno de remodelado óseo son:

- Sustituir el tejido óseo envejecido o lesionado por tejido nuevo y adaptarlo a las necesidades mecánicas de cada momento (disponiendo de las láminas recién formadas en la forma más adecuada). El remodelado óseo no sólo mantiene la masa ósea, sino que confiere al esqueleto su capacidad regenerativa y de adaptación funcional.
- Contribuir a las necesidades de la homeostasis mineral. Se ha señalado que también la posible intervención del fenómeno de remodelación ósea en la regulación del equilibrio ácido-base, a través del comportamiento del hueso como una fuente de bicarbonato. Por otra parte, durante la resorción ósea se liberan factores de crecimiento y citocinas que pueden estar al servicio del normal funcionamiento de la médula ósea.

1.3.1 Fisiopatología.

El remodelado óseo consta de cuatro fases sucesivas: activación, resorción, inversión y formación.

La actuación de las unidades de remodelación se inicia con la activación de un grupo de osteoclastos en un lugar determinado del esqueleto, que da paso a la resorción ósea. A continuación, y en el mismo lugar, se activan los osteoblastos, reponiendo el hueso destruido por los osteoclastos. La resorción se desarrolla durante unas tres semanas, y la formación durante tres o cuatro meses. Las unidades de remodelación renuevan, al cabo de un año, un 3-4% del hueso cortical y un 25-30% del hueso trabecular. Se calcula que en un momento determinado están activos entre 1,5 y 2 millones de unidades, no sólo en distintos lugares, sino en diferentes momentos funcionales. En el caso del hueso cortical, la actuación celular tiene lugar en el seno del mismo. En el hueso trabecular, el fenómeno ocurre en la superficie de contacto con la médula ósea.

El proceso en las unidades de remodelado comienza, en la fase de **activación**, con el reclutamiento de los precursores de los osteoclastos, que proliferan, se diferencian y se fusionan, para formar las grandes células multinucleadas que constituyen los osteoclastos maduros. Para que éstos desarrollen su efecto, las

células que recubren el hueso (conocidas como “osteoblastos de revestimiento” o de reposo), deben retraerse y dejar hueco entre ellas. Tras establecer contacto con la matriz ósea, las células osteocásticas experimentan un proceso de “polarización” en virtud del cual la zona de su membrana por la que se realiza dicho contacto adopta una conformación “rugosa”. Circundando a esta zona rugosa se desarrolla un anillo que sella el espacio que queda entre la zona rugosa y la matriz ósea, aislándolo del microambiente óseo. En la fase de **resorción**, los osteoclastos segregan a dicho espacio protones y enzimas proteolíticas (fundamentalmente catepsinas, de las cuales la más representativa es la catepsina K). La acidificación produce un fenómeno de desmineralización, y posteriormente la matriz desmineralizada es degradada por las enzimas proteolíticas. (Boyle, Simonet et al. 2003). Esta fase finaliza con la apoptosis osteocástica, proceso regulado por diversos factores entre los que destaca por su importancia el TGF- β , que además inhibe la apoptosis de los osteoblastos (Parfitt 2002).

Una vez finalizado el proceso de resorción, la superficie ósea queda libre de células, excepto por la presencia de unos pocos fagocitos mononucleares que, además de limpiar la cavidad, tienen la función de formar la línea de cementación sobre la que se depositará el hueso nuevo. Es la fase de **inversión**, a la que sigue la actuación de los osteoblastos. Se denomina “acoplamiento” esta “adecuación temporoespacial” entre la actuación de los osteoclastos y la de los osteoblastos. Las señales responsables del mismo no se conocen bien, pero se piensan que pueden consistir en factores de crecimiento que, enterrados en la matriz ósea al formarse la misma, son liberados desde ella cuando es destruida. El más conocido es el factor transformante β (TGF- β). También podría tratarse no ya de sustancias enterradas en la matriz, sino de elementos constituyentes de la propia matriz (Dallas, Rosser et al. 2002).

En la fase de **formación**, los osteoblastos proliferan, se diferencian y finalmente depositan hueso nuevo, proceso mediado por IGF-1 y BMP-2 (Kawaguchi, Mee et al. 2005), quedando organizado en forma de láminas. En la diferenciación y función de los osteoblastos intervienen diversos factores (Raisz 2005), de los que merecen ser señalados principalmente el Cbfa-1, o Runx-2, y el Osterix (Osx), que actúa distalmente a aquél. El hueso recién

depositado no está mineralizado inicialmente (hueso osteoide), pero aproximadamente una semana después de la formación de la matriz ósea, precipita la hidroxiapatita, dando lugar al proceso de mineralización. Las láminas se van mineralizando desde la profundidad hacia la superficie, en el mismo orden que fueron depositadas. La mineralización alcanza el 60% de su máximo a las pocas semanas, y después continúa lentamente, durante 2-3 años, dando lugar a la denominada mineralización secundaria.

1.3.2 Regulación.

Todos los fenómenos anteriores deben estar regulados, siendo la “activación” de los osteoclastos y el “acoplamiento” de los osteoblastos a los osteoclastos los puntos clave. La activación marca, entre otras cosas, la velocidad del recambio. Ambos, activación y acoplamiento, están integrados por una serie de fenómenos parciales como el reclutamiento del tipo de célula de que se trate, su proliferación, su diferenciación y su activación. Cada uno de estos aspectos parciales está regulado independientemente, e incluso, en ocasiones, de forma contrapuesta. En condiciones normales, el ciclo vital de las células de remodelación termina por apoptosis, la cual también está sometida a regulación (Manolagas 2000).

En la regulación del remodelado óseo intervienen mecanismos locales y generales. Los primeros son fundamentalmente de dos tipos: mecánicos y humorales (citocinas y factores de crecimiento). Los generales también son de dos tipos, humorales (hormonas) y neurológicos. Los cuatro tipos de factores actúan conectados entre sí, y el efecto de todos ellos confluye en una “vía final común”, poniendo en marcha los mecanismos de señalización intracelular.

1.3.2.1 Factores mecánicos.

Los factores mecánicos deben guardar relación con la existencia de un “mecanostato”, o sistema capaz de regular la masa ósea en función de la sobrecarga mecánica detectada. El osteocito es el principal candidato a actuar como sensor del sistema. En respuesta a estímulos, enviaría órdenes a los osteoblastos de revestimiento, que se retraerían para dejar libre la superficie

ósea y atraerían a los precursores de los osteoclastos (Pavalko, Norvell et al. 2003).

1.3.2.2 Factores neurológicos.

El sistema nervioso central ejerce una función inhibitoria del desarrollo de masa ósea, que lleva a cabo a través del sistema nervioso simpático (de hecho, el bloqueo de éste con bloqueadores beta da lugar a un aumento de masa ósea). Los factores que estimulan el sistema nervioso para que desarrolle esta función no están bien establecidos. El mejor conocido es la leptina (Khosla 2002), hormona secretada por los adipocitos que facilita la acción inhibitoria del sistema nervioso central. Paradójicamente, esta hormona tiene el efecto opuesto cuando actúa periféricamente.

1.3.2.3 Factores humorales generales: hormonas.

Dentro de las hormonas suelen distinguirse las denominadas “hormonas calciotropas” (parathormona [PTH], calcitriol –o $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ - y calcitonina) y otras que pueden calificarse (desde el punto de vista del metabolismo mineral) de “inespecíficas”, entre las que se encuentran las hormonas sexuales (estrógenos y andrógenos), la hormona tiroidea, los glucocorticoides, la hormona del crecimiento y la leptina.

Los efectos de la PTH sobre el hueso son complejos y no están totalmente aclarados. Niveles elevados, actuando de forma continuada, producen un aumento de la actividad osteoclástica, mientras que su administración intermitente tiene efectos anabólicos a través de un aumento del número de osteoblastos y de la tasa de formación (Cosman and Lindsay 2004). La PTH estimula la secreción de RANKL, IGF-1 e IL-6 e IL-11 por los osteoblastos, lo que activa la diferenciación y función osteoclástica. Esta activación se produce de forma indirecta, aunque los osteoclastos presentan receptores para PTH (Demster et al. 2005). Otros efectos de la PTH son la transformación de los osteocitos en osteoblastos activos (Langub, Monier-Faugere et al. 2001) y el aumento de la vida media de estos por disminución de la apoptosis (Bringham 2002). Los osteoclastos, al ser estimulados, ponen en marcha el ciclo de renovación ósea, lo que en virtud del fenómeno de acoplamiento, acaba

haciendo intervenir a los osteoblastos. En definitiva, la PTH aumenta el recambio óseo.

El calcitriol estimula la resorción ósea a través de su acción sobre los osteoclastos y sus precursores (Gurlek, Pittelkow et al. 2002). Entre sus acciones se incluyen el aumento de la absorción intestinal de calcio y la inhibición de la secreción de PTH actuando sobre las paratiroides. Además, facilita la mineralización ósea (van Leeuwen, van Driel et al. 2001).

La calcitonina inhibe la acción de los osteoclastos, pero se desconoce la trascendencia de su actuación, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas (Zaidi, Moonga et al. 2002).

En relación a los estrógenos, su ausencia da lugar a un aumento de los osteoclastos (y secundariamente de los osteoblastos) con un incremento del recambio óseo. Se discute la mayor o menor trascendencia de su acción directa (a través de los receptores de las células óseas para los estrógenos) y de la indirecta, a través de algunos de los factores locales. Su papel fundamental en el metabolismo óseo queda de manifiesto en la pérdida de masa ósea que ocurre en los primeros años de postmenopausia tras el cese la actividad estrogénica, que ocasiona un aumento del remodelado (Riggs, Khosla et al. 2002).

La leptina, que sobre el sistema nervioso central determina un efecto inhibitor sobre el desarrollo de la masa ósea, cuando actúa directamente sobre las células periféricas da lugar a un efecto contrario. Se ha supuesto que su principal función es esta segunda (periférica), y que la primera debe interpretarse como un mecanismo de seguridad para evitar una pérdida de masa ósea excesiva en situaciones de desnutrición grave (Khosla 2002).

1.3.2.4 Factores locales.

Los factores locales reguladores de la remodelación ósea son muy numerosos y constituyen un entramado funcional en el que unos determinan o modifican la acción de otros. En el desarrollo de los osteoclastos se han implicado citocinas y factores estimuladores de colonias. La lista incluye distintas interleuquinas (IL-1, IL-6,...), el TNF, el factor estimulador de colonias de monocito-

macrófagos (GM-CSF), el factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF), así como la PG_2 y los leucotrienos. El interferón gamma ($INF\gamma$) inhibe la osteoclastogénesis.

Entre los factores estimuladores de los osteoblastos se encuentran el $TGF\beta$, las proteínas morfogenéticas del hueso (BMP), el factor de crecimiento fibroblástico (FGF), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y los factores de crecimiento similares a la insulinas (IGF I y II). Los factores que estimulan a los osteoblastos pueden inhibir a los osteoclastos; por ejemplo, el $TGF\beta$ parece inducir en los osteoclastos un fenómeno apoptótico, responsable de su desaparición en el foco de resorción, para dar paso a la fase formativa. Por otra parte, el $TGF\beta$ inhibe la apoptosis osteoblástica (González Macías and Olmos Martínez 2006).

En la regulación del fenómeno de remodelación es de gran importancia el sistema RANK-RANKL-OPG (Aubin and Bonnelye 2000; Hofbauer and Heufelder 2000; Boyle, Simonet et al. 2003). El RANK (Receptor for Activation of Nuclear Factor κ B [NF κ B]) es un receptor de la familia TNFR presente en los osteoclastos, al que se une el RANKL (o ligando de RANK, de la familia del TNF) presente en la membrana de las células de estirpe osteoblasto/estroma medular. Como consecuencia de dicha unión, aumenta la proliferación y actividad de los osteoclastos, al tiempo que disminuye su apoptosis. La osteoprotegerina (OPG) es un receptor osteoblástico, también miembro de la familia TNFR, carente de dominio transmembrana, que, por ello, es secretado al exterior. Su ligando es el propio RANKL, de manera que puede decirse que se interpone entre él y el RANK, con lo que, por tanto, impide su puesta en contacto (se comporta como un receptor “señuelo” o “trampa”). Es decir, el osteoblasto produce tanto el activador de los osteoclastos como una sustancia que neutraliza dicho activador. En general, los mismos factores que estimulan uno, inhiben el otro. En definitiva, lo que determina la cantidad de hueso a resorber es la relación RANKL/OPG. Los linfocitos T expresan RANKL, del que pueden segregar una forma soluble.

El sistema RANK-RANKL-OPG se considera en gran medida la “vía final común” de numerosos factores resorptivos. La PTH, el $1,25(OH)_2D$, las

hormonas tiroideas, la IL-1, el TNF α , la IL-6, la PGE₂, la IL-11, etc., aumentan la relación RANKL/OPG; los estrógenos desarrollan el efecto contrario.

El RANK activa diversas vías de señalización intracelular (NF κ B –que da nombre al sistema-, JNK, Erk, p38, P13K/Akt, NFAT). El paso clave inicial en la actuación del RANK es la unión de los TRAF (factores citoplasmáticos asociados al TNFR) a lugares específicos de su dominio intracelular. El 6 es el mejor conocido, y actúa como un adaptador para la unión de diversas proteínas de señalización.

El osteoblasto produce, además del RANKL, otra sustancia necesaria para la osteoclastogénesis, el M-CSF, que se une al receptor c-fms presente en los precursores de los osteoclastos. La presencia simultánea de RANKL y M-CSF se ha venido considerando suficiente para inducir la formación de osteoclastos, pero hoy se sabe que no es así. Deben activarse también inmunorreceptores vinculados a moléculas adaptadoras que contengan en su cola citoplasmática el motivo ITAM (Takayanagi 2005) (ver epígrafe 1.5.1).

En la diferenciación y función de los osteoblastos intervienen diversos factores (Raisz 2005), de los que merecen señalarse en primer término el Cbfa-1, o Runx-2, y el osterix (Osx), que actúa distalmente a aquél. Ambos son necesarios para la diferenciación de los osteoblastos. El Cbfa-1, además, influye sobre el binomio RANKL/OPG. El receptor PPAR γ , al contrario de lo que hace el receptor Cbfa-1, desvía precursores de los osteoblastos hacia adipocitos. La producción de ligandos por este receptor es estimulada por la lipooxigenasa, codificada por el gen *alox* (Raisz 2005), cuya inhibición disminuye la pérdida de masa determinada por la ovariectomía (Klein, Allard et al. 2004). Recientemente se ha reconocido el papel de la proteína 5 relacionada con el receptor LDL (LRP-5), de cuyo gen se han descrito alteraciones en el sentido de ganancia de función, con aumento de masa ósea, y de pérdida, con osteoporosis (síndrome osteoporosis-pseudoglioma). La LRP-5 interacciona con el receptor *frizzled* para permitir la unión a ambos de un ligando compartido, las proteínas Wnt, y activar la vía de señalización de este nombre. En la actuación de esta vía de señalización está implicada la beta catenina en interacción con la BMP 2. La esclerostina, una sustancia producida por los osteocitos, parece inhibir la diferenciación de las células madre hacia

osteoclastos inhibiendo el sistema BMP/Wnt (Winkler, Sutherland et al. 2003) (figura 1.3.2.4.1).

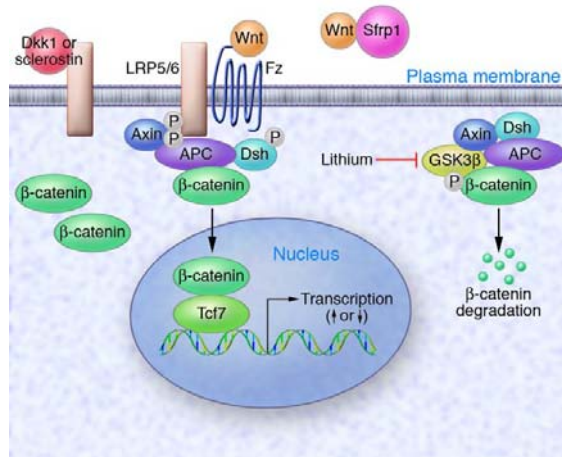


Figura 1.3.2.4.1. Interacción de las vías de señalización del sistema Wnt/BMP y la esclerostina.

1.3.3 Marcadores bioquímicos.

Como resultado de la acción acoplada de los osteoblastos y osteoclastos, se liberan una serie de péptidos y proteínas que pueden ser detectados en sangre y orina: son los denominados marcadores bioquímicos de remodelado óseo (MRO) que nos indican de manera indirecta la fisiología ósea (formación/resorción). Un aumento de dichos marcadores se pondrá de manifiesto ante una situación de recambio óseo acelerado; un incremento de los valores de MRO de resorción traduce un desajuste negativo en el balance del remodelado que llevará una pérdida ósea, por lo que se considera que es predictivo de dicha pérdida (Stepan 2003).

Además, el remodelado óseo es uno de los factores que participan en la patogenia de la osteoporosis, al ser uno de los elementos determinantes de la calidad ósea. Dicha participación ha sido evidenciada en múltiples estudios prospectivos en los que se ha encontrado una clara relación entre una resorción ósea elevada y un mayor riesgo de fractura, incluso independientemente de la DMO (Gerdhem, Ivaska et al. 2004; Sornay-Rendu, Munoz et al. 2005).

Las características ideales que debería cumplir un marcador de remodelado óseo son:

- 1) Determinación no invasiva.
- 2) Facilidad de recogida de la muestra.
- 3) Ser un producto específico del metabolismo óseo.
- 4) Mostrar correlación con técnicas de referencia en el análisis del remodelado (histomorfometría ósea, biopsia ósea tras doble marcado con tetraciclina, estudios isotópicos con calcio marcado, DXA).
- 5) Responder al tratamiento específico de enfermedades que afecten al metabolismo óseo.

El proceso de resorción ósea origina la liberación de su contenido mineral y la degradación de la matriz proteica. De igual forma, en la síntesis y mineralización del tejido óseo se liberan sustancias enzimáticas y fragmentos derivados del procesamiento del colágeno que son integrados al torrente circulatorio y pueden ser determinados como índices de remodelado óseo. La matriz osteoide está formada principalmente por colágeno (90%), otras proteínas de pequeño tamaño y proteoglicanos. La proteína estructural ósea más importante es el colágeno tipo I, formado por dos cadenas α -1 y una cadena α -2, que tras entrelazarse en el osteoblasto para formar el procolágeno, son secretadas al espacio extracelular. Una vez secretadas las moléculas de procolágeno, los péptidos amino (Procollagen type I amino-terminal propeptide; PINP) y carboxiterminales (procollagen type I carboxi-terminal propeptide; PICP) son escindidos por peptidasas específicas. Las moléculas de colágeno resultantes se unen mediante un elevado número de puentes cruzados intra y extramoleculares (crosslinks), que le confieren elevada insolubilidad y resistencia, a diferencia de las fibras de colágeno de otros tejidos. Estos enlaces de estructura piridinolínica resistentes a la degradación osteoclástica se liberan de la matriz proteica durante la resorción ósea. Los productos resultantes derivados de estos enlaces piridinolínicos son de tamaño variable, desde aminoácidos libres (hidroxiprolina, OHP; hidroxilisina, OHL), residuos de piridolina (Pyr) y deoxipiridolina (D-Pyr), telopéptidos del extremo carboxiterminal del colágeno tipo I (Cross-linked C-telopeptide, CTX; C-Terminal telopeptide of type I collagen, ICTP) o aminoterminal (Cross-linked N-telopeptide, NTX).

En resumen, los péptidos derivados del colágeno que pueden ser determinados son el resultado de la síntesis osteoblástica (PICP y PINP) o productos resultantes de la degradación osteoclástica (OHP, OHL, Pyr, D-Pyr, ICTP, CTX y NTX). El resto de los marcadores de remodelado óseo no están directamente relacionados con el metabolismo del colágeno. La osteocalcina (OC) es una proteína de pequeño tamaño sintetizada por el osteoblasto que se integra en la matriz ósea, pasando en parte al torrente circulatorio. Otros marcadores de remodelado son sustancias enzimáticas derivadas de la actividad osteoblástica, como la isoenzima ósea de la fosfatasa alcalina (bone alkaline phosphatase, bALP), o de la actividad osteoclástica como la fosfatasa ácida tartrato-resistente (tartrate-resistant acid phosphatase, TRAP).

Dada la variabilidad que los valores de MRO presentan, se hacen de difícil aplicación en los casos individuales de la práctica clínica diaria. Para minimizar la variación analítica, la mayoría de estos se realizan con autoanalizadores completamente automatizados. Se debe tomar la muestra para determinación a primera hora de la mañana, antes de las 9:00 horas, y tras ayuno nocturno, debiendo ser la orina la primera o segunda de la mañana (Roux, Garnero et al. 2005).

Tabla 1.3.3.1. Situaciones implicadas en la variabilidad de los marcadores de remodelado.

| | |
|----------------------|------------------|
| Edad | Ritmo circadiano |
| Sexo | Dieta |
| Estado menopáusico | Ayuno |
| Lactancia y embarazo | Ejercicio |
| Fractura reciente | Inmovilización |

1.3.3.1 Utilidad de los marcadores en la osteoporosis.

La utilidad de los MRO para valorar la osteoporosis en el contexto de la clínica diaria está en (Srivastava, Vliet et al. 2005; Bonnick and Shulman 2006):

1. Identificar sujetos con riesgo de pérdida ósea acelerada.
2. Valorar el riesgo de fractura.
3. Valorar la respuesta al tratamiento anticatabólico a corto plazo.

Nunca se podrán utilizar para diagnosticar la enfermedad.

1.3.3.1.1 Predicción de la pérdida ósea.

La masa ósea, las tasas de pérdida ósea y el riesgo de fracturas osteoporóticas están relacionados entre sí, y se ha demostrado que tanto una escasa masa ósea como una pérdida rápida de hueso constituyen parámetros independientes de predicción del futuro riesgo de fractura (Miller, Hochberg et al. 2005). La velocidad de pérdida ósea está determinada por varios factores, uno de los cuales es la velocidad de remodelado óseo. Estudios transversales realizados en mujeres en la postmenopausia temprana y tardía han demostrado que existe una correlación negativa entre la masa ósea y las velocidades de resorción y de formación ósea (Miller, Hochberg et al. 2005). En la mayoría de los estudios, la correlación inversa entre el metabolismo óseo y la pérdida ósea aumenta con el tiempo transcurrido desde la menopausia.

Christiansen y cols. demostraron que la medición combinada de la fosfatasa alcalina sérica total, la osteocalcina, el calcio urinario en ayunas, la hidroxiprolina o la DPD pueden predecir el 60-70% de la variabilidad de la pérdida ósea. Estos estudios también demostraron correlación entre los marcadores iniciales del recambio óseo y la velocidad posterior de pérdida ósea en la postmenopausia (Christiansen et al. 2005).

Tomada en conjunto, existe evidencia razonable de que las velocidades de remodelado óseo predicen la futura pérdida ósea. Sin embargo, la fuerza de esta asociación parece depender de varios factores, como la edad de la menopausia, la localización del esqueleto y el sexo. No está claro si los marcadores de recambio óseo son capaces de identificar de forma individual (en el contexto clínico) los “perdedores” de hueso rápidos.

1.3.3.1.2 Predicción del riesgo de fractura.

A un determinado nivel de DMO vertebral, la tasa de fracturas vertebrales aumenta con la velocidad del recambio óseo. Sin embargo, cuando el recambio óseo es normal, el principal determinante de las fracturas vertebrales es la DMO vertebral (Srivastava, Vliet et al. 2005).

Los datos de varios grandes estudios prospectivos independientes indican que en las mujeres postmenopáusicas las tasas elevadas de resorción ósea se asocian a un aumento del riesgo de fracturas vertebrales y no vertebrales, con independencia de la DMO y de la edad. Todas las asociaciones se demostraron en grandes grupos de mujeres postmenopáusicas, y está por confirmar si siguen siendo verdaderas en pacientes individuales y en ambos sexos (Bonnick and Shulman 2006).

1.3.3.1.3 Respuesta al tratamiento anticatabólico a corto plazo.

El campo fundamental del empleo clínico de los marcadores bioquímicos de hueso es el control del tratamiento (y de la enfermedad). Estas aplicaciones comprenden la previsión de respuesta al tratamiento durante el mismo, la vigilancia de la eficacia terapéutica y posiblemente el control del cumplimiento terapéutico por parte del paciente.

Las variaciones de la DMO son lentas, y habitualmente no existe efecto terapéutico detectable antes de transcurridos varios años de tratamiento. Los marcadores óseos suelen reaccionar rápidamente a las intervenciones terapéuticas. Se suelen ver variaciones significativas en 6 a 12 semanas de tratamiento.

El tratamiento con estrógenos (Fiore, Pennisi et al. 2001; Stroup, Hoffman et al. 2001), testosterona (De Rosa, Paesano et al. 2001), moduladores selectivos del receptor estrogénico (Johnell, Scheele et al. 2002; Ott, Oleksik et al. 2002), o bifosfonatos por vía oral (Murphy, Weiss et al. 2001; Riis, Ise et al. 2001; Watts, Jenkins et al. 2001; Weber and Drezner 2001) suele provocar un descenso del 50 al 100% en los marcadores del recambio óseo en un plazo de 3 a 4 meses de tratamiento. Con la mayoría de los tratamientos anticatabólicos, la reducción de los marcadores de la resorción ósea va seguida en general de un

descenso de los marcadores de formación ósea –el resultado del acoplamiento normal entre los procesos de formación y resorción-. Si se mantiene el tratamiento, los marcadores de recambio óseo alcanzan una meseta en 6 a 12 meses.

Varios estudios parecen indicar que los pacientes con la variación más acusada a corto plazo en los marcadores de resorción ósea durante el tratamiento muestran la mayor ganancia de DMO al cabo de 1 ó 2 años de tratamiento. De forma similar, los pacientes en los que no se modifica la DMO (que no responden) a menudo mostraban poca o ninguna variación en los marcadores óseos. Sin embargo, la potencia de esta asociación parece variable (Seibel 2003).

La variación de los marcadores de recambio óseo a los 6 y 12 meses predijo la reducción del riesgo de fractura al cabo de 3 años de tratamiento con raloxifeno en mujeres postmenopáusicas (Bjarnason, Sarkar et al. 2001). En este estudio, el descenso de la osteocalcina sérica al cabo de un año se relacionaba con el descenso en la incidencia de nuevas fracturas vertebrales a los 3 años. Esta relación se mantenía después de ajustar la situación respecto a fracturas vertebrales iniciales y la DMO.

En conjunto, estos datos sugieren que los marcadores bioquímicos del metabolismo óseo constituyen herramientas útiles para evaluar los efectos terapéuticos después de un corto periodo de tiempo, y que las mediciones seriadas de los marcadores óseos pueden ayudar a decidir si un paciente responde (o cumple) un determinado tratamiento.

1.4 EVALUACIÓN DEL PACIENTE CON OSTEOPOROSIS.

1.4.1 Evaluación clínica.

El diagnóstico de la osteoporosis se basa en la constatación de una baja DMO y/o la presencia de fracturas por fragilidad. La sospecha clínica inicial siempre vendrá dada por la anamnesis y en menor grado por datos de la exploración sugerentes de un elevado riesgo de fractura.

La anamnesis debe incluir los siguientes aspectos: antecedentes familiares y personales (endocrinopatías, otras enfermedades o tratamientos con influencia sobre la masa ósea, fracturas previas); historia hormonal y reproductiva (edad de menarquia y menopausia, número de embarazos, lactancia); hábitos tóxicos y encuesta dietética dirigida al consumo de calcio y vitamina D; estilo de vida y exploración física (frecuencia cardiaca, deformidades óseas, imposibilidad para levantarse de la silla sin usar los brazos) (historia clínica SEIOMM).

1.4.2 Determinaciones analíticas.

En todo paciente con diagnóstico de osteoporosis, y en particular aquéllos con fracturas por fragilidad se debe realizar un mínimo perfil analítico que incluya: hemograma, VSG, glucemia, funciones renal y hepática, calcio y fósforo séricos, proteinograma y TSH.

Pruebas de laboratorio más específicas, como niveles de 25OHD₃ y PTH-i, electroforesis de orina, testosterona total y libre, estradiol, FSH, LH, prolactina, etc., vendrán indicadas por los hallazgos clínicos o de laboratorio previamente reseñados.

1.4.3 Medición de la masa ósea.

Entre los factores que determinan una disminución de la resistencia ósea está la cantidad de hueso, traducida en masa o densidad mineral ósea (DMO). Y ha sido el progreso de las técnicas de medición de la masa ósea, concretamente la densitometría ósea, lo que ha permitido predecir el riesgo de fractura con objetividad. Hoy en día, al hablar de densitometría ósea, se está refiriendo a la absorciometría radiológica dual (DXA). Durante muchos años ha sido considerada la técnica patrón-oro, debido a sus excelentes cualidades para cuantificar la masa ósea. El establecimiento, en los años noventa, por parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de los criterios densitométricos de osteoporosis elevaron a esta técnica a la categoría de prueba diagnóstica, y durante mucho tiempo se ha considerado como decisiva. En la actualidad, se contempla como una técnica que ayuda de manera importante al diagnóstico de osteoporosis, pero sin ser definitiva.

Claramente, la disminución de la masa ósea constituye parte de la patogenia de la enfermedad osteoporótica. Una baja DMO aumenta el riesgo de sufrir fracturas, principalmente en la localización medida, como era de esperar (Marshall, Johnell et al. 1996; Cheng, Lowet et al. 1998; Lochmuller, Eckstein et al. 1998). Estudios recientes han demostrado que incluso una mayor tasa de pérdida de masa ósea, independientemente de la DMO basal, aumenta el riesgo de fractura en cadera y antebrazo (Sornay-Rendu, Munoz et al. 2005; Kanis, Johnell et al. 2006).

Esta circunstancia, junto con el desarrollo de la densitometría ósea por absorciometría radiológica, capaz de cuantificar la masa ósea con gran precisión y exactitud, siendo a la vez mínimamente lesiva, y tras un estudio densitométrico realizado en una amplia población de mujeres en los EEUU (NHANES III) (Looker, Wahner et al. 1995), llevó a la OMS a establecer unos criterios diagnósticos según una base epidemiológica que relacionaba la prevalencia de fractura con la masa ósea (tabla 1.4.3.1) en una población de referencia (la del estudio NHANES III), y el concepto de T-score de la DMO de un sujeto aplicado a la misma.

TABLA 1.4.3.1. Criterios diagnósticos de la Organización Mundial de la Salud.

| | |
|--------------------------|--------------------------------|
| Normal | T-score ≥ -1 |
| Osteopenia | T-score $< -1, > -2,5$ |
| Osteoporosis | T-score $\leq -2,5$ |
| Osteoporosis establecida | T-score $\leq -2,5$ + fractura |

Una vez obtenidos los valores de referencia, se comparan el valor de la paciente con la referencia para su edad, sexo y lugar de medición, estableciendo el número de desviaciones estándares que se aleja de la media correspondiente, tanto en sentido positivo (masa ósea por encima de la media) o negativo (masa ósea por debajo de la media). Es lo que se ha venido en

llamar Z-score. Cuanto menor es el Z-score, mayor es el riesgo de fractura. Sin embargo, el riesgo de fractura aumenta con la edad, aun cuando la masa ósea sea normal. Esta necesidad de incluir en la valoración de la masa ósea este “riesgo por edad”, ha llevado al establecimiento del llamado T-score, mediante el cual se compara el valor de la masa ósea con el valor medio más alto obtenido a lo largo de la vida, denominado “pico de masa ósea”. El T-score se corresponde con el número de desviaciones estándares que se aleja de este pico de masa ósea, tanto en sentido positivo como negativo. Respecto al T-score, hay que decir que se ha cuantificado la relación entre la DMO y el riesgo de fractura, de manera que por cada -1 T-score el riesgo de fractura se duplica en cadera. Sin embargo, dado que la población basal era muy concreta (mujeres caucásica postmenopáusicas) y la medición de la masa ósea se realizó en un lugar específico (fémur), pronto surgieron dudas sobre la validez de su aplicación para otras poblaciones y otras localizaciones (hombres, mujeres premenopáusicas, sujetos de raza negra o asiática, columna lumbar, antebrazo). Sociedades científicas especializadas han procurado establecer unas recomendaciones o guías que uniformen los criterios en el uso de la densitometría.

1.4.3.1 Aplicaciones de la DXA.

Las utilidades de la medición de la masa ósea son el diagnóstico de una baja masa ósea (determinar la DMO), la predicción de las fracturas y la vigilancia seriada (Blake and Fogelman 1998). Las dos primeras aplicaciones pueden realizarse con cualquiera de las localizaciones clásicas, columna lumbar y fémur proximal (total y subregión de cuello femoral), aunque también puede considerarse válida la del tercio distal del radio, cuando no es posible en las otras dos localizaciones y ante un hiperparatiroidismo. La vigilancia seriada es necesaria en los que es importante hacer seguimiento de masa ósea, o para monitorizar el tratamiento; y la DXA, por su precisión, puede ser utilizada para ello, siendo las mediciones más idóneas, por su bajo coeficiente de variación, las de columna lumbar y cuello total. Los intervalos entre mediciones no deben ser inferiores a un año (mejor dos), excepto en casos en los que existan circunstancias asociadas a pérdidas rápidas de masa ósea, como el tratamiento corticoideo, en que podrían acortarse. Una vez que la eficacia del tratamiento

ha sido establecida, los intervalos se harán cada vez más largos. Al respecto, es importante decir que la eficacia del tratamiento no viene dada exclusivamente por la DMO; efectivamente, los ensayos clínicos realizados con fármacos para la osteoporosis han demostrado una eficacia antifracturaria independientemente del aumento de masa ósea (Faulkner 2000). Por ello, las mediciones seriadas deben ser interpretadas con cautela, y no considerarse que un tratamiento fracasa por el hecho de no aumentar la DMO; aunque si ocurre un incremento de la masa ósea, claramente se está produciendo una reducción del riesgo de fractura, y por tanto, se puede asegurar que el tratamiento está siendo eficaz (Bonnick and Shulman 2006).

1.4.3.2 Indicaciones de la DXA.

Las últimas recomendaciones de la Sociedad Internacional de Densitometría Clínica (ISCD) sobre las indicaciones de una densitometría son (Binkley, Bilezikian et al. 2006):

1. Mujeres de 65 años o mayores.
2. Mujeres postmenopáusicas menores de 65 años con factores de riesgo.
3. Hombres de 70 años o mayores.
4. Adultos con fracturas por fragilidad.
5. Adultos con enfermedades asociadas con baja masa o pérdidas óseas.
6. Adultos que tomen fármacos asociados con baja masa o pérdida óseas.
7. Cualquier persona en quien se esté considerando establecer un tratamiento farmacológico para la osteoporosis.
8. Cualquier persona en tratamiento para la osteoporosis, para monitorizar su efecto.

1.4.3.3 Interpretación de la DXA.

Es necesario tener en cuenta una serie de consideraciones para realizar una correcta interpretación de la DXA. En primer lugar, el empleo del T-score y los criterios diagnósticos de la OMS sólo deben aplicarse a mujeres posmenopáusicas y hombres mayores de 50 años cuyas mediciones hayan sido

realizadas con aparatos DXA en columna lumbar y en fémur proximal (Binkley, Bilezikian et al. 2006).

Para las mujeres antes de la menopausia y hombres menores de 50 años, la ISCD recomienda utilizar el Z-score (aunque hay que tener en cuenta que en las décadas de los 30 y 40 años los T-scores y Z-scores prácticamente coinciden), y definir como “dentro del rango esperado para su edad” la DMO que se corresponda a un Z-score >-2 , siendo “por debajo del rango esperado para su edad” si el Z-score es ≤ -2 . En este último caso, se puede hacer el diagnóstico de osteoporosis si la baja masa ósea se acompaña de causas secundarias (tratamiento corticoideo, hipogonadismo, hiperparatiroidismo, etc.), evitando hacer el diagnóstico de osteoporosis basándose exclusivamente en los criterios densitométricos.

Por último, hay que identificar aquellas mediciones que no son válidas, por presencia, por ejemplo, de escoliosis importante, osteofitosis lumbar, fracturas en 3 de las 4 primeras vértebras lumbares, prótesis vertebrales lumbares o de fémur proximal, artefactos (enema de bario, calcificaciones superpuestas al área explorada, grapas quirúrgicas, etc.), y que nos obligan a considerar la medición en otra de las localizaciones validadas.

En resumen, la DXA es un buen predictor del riesgo de fractura y permite monitorizar el tratamiento a largo plazo (más de un año). Pero no es el único factor implicado en la resistencia ósea; otros factores han demostrado predecir el riesgo de fractura, independientemente de la DMO (edad, etc.), por lo que hay que tenerlos en cuenta a la hora de evaluar el riesgo de fractura. Los criterios de la OMS son más bien de carácter epidemiológico que realmente diagnóstico, y no son, por otro lado, únicos indicadores de tratamiento ni de la efectividad del mismo.

1.4.4 Evaluación radiológica.

Aunque la radiología es el método específico para el diagnóstico de la fractura osteoporótica, tiene escasa validez para el diagnóstico de osteoporosis antes de que ocurra la fractura.

La interpretación de los hallazgos radiográficos depende a menudo de la preparación y motivación del observador, y no existe un “patrón oro” que defina la fractura vertebral (Ferrar, Jiang et al. 2005).

Para objetivar lo máximo posible estas deformidades, se recurre a métodos de medición morfométrica de las alturas vertebrales. Tras ser determinados en radiografías de columna (dorsal centrada en D7 y lumbar centrada en L2), los valores medios poblacionales de las alturas anterior, media y posterior de cada vértebra, se establecen unos criterios de deformidad.

En resumen, la radiología convencional queda relegada al diagnóstico de las fracturas osteoporóticas o a ser un método que justifique la realización de una densitometría cuando aparezcan los llamados signos radiológicos de osteopenia (que deben ser interpretados siempre con cautela).

1.4.5 Marcadores bioquímicos de remodelado óseo.

Ver capítulo de remodelado óseo (epígrafe 1.3.3).

1.5 Sistema OPG/RANKL.

1.5.1 Descubrimiento y descripción del sistema OPG/RANKL.

En los últimos años, se han realizado grandes avances en el conocimiento del mecanismo molecular de la regulación del remodelado óseo, especialmente sobre la relación que existe entre los osteoblastos y sus células precursoras estromales con los precursores hematopoyéticos de los osteoclastos.

Este conocimiento se inició con el descubrimiento de varios miembros de la familia del TNF, como la osteoprotegerina (OPG), una proteína con una potente actividad inhibitoria de la osteoclastogénesis (Simonet, Lacey et al. 1997; Yano, Tsuda et al. 1999), seguido por el aislamiento del RANKL (un ligando transmembrana expresado en los osteoblastos) y del RANK (un receptor de las células hematopoyéticas precursoras de los osteoclastos al que al que se une el RANKL) (Yasuda, Shima et al. 1998).

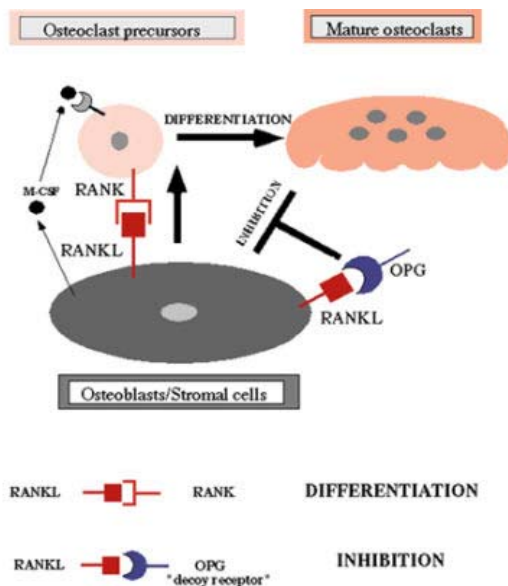
RANKL es una proteína transmembrana o soluble, producida por las células de la línea estromal-osteoblástica y por los linfocitos T activados, que se une al receptor celular RANK, expresado por los osteoclastos y sus precursores, y por

las células monocíticas. La OPG es una molécula soluble, también producida por las células de la línea estromal-osteoblástica y por los linfocitos T activados, que actúa como falso receptor, o señuelo, de RANKL, impidiendo por ello la interacción de RANKL con RANK.

Estudios de estas moléculas en animales ha confirmado el papel clave en el metabolismo óseo, sistema inmunitario y cardiovascular: los ratones knock-out para RANKL y aquellos knock-out para RANK tienen un fenotipo similar, caracterizado por el desarrollo de osteopetrosis con completa ausencia de osteoclastos y la falta de ganglios linfáticos, con un anormal desarrollo de los linfocitos B y T; mientras que los ratones knock-out para OPG manifiestan una osteoporosis grave por aumento de la osteoclastogénesis y desarrollan calcificaciones en las paredes de la aorta y de las arterias renales (Rogers and Eastell 2005).

En el microambiente óseo, la unión de RANKL con RANK estimula la diferenciación, fusión, activación, y supervivencia de los osteoclastos, con el consiguiente aumento de la resorción ósea (figura 1.5.1.1). La OPG, impidiendo tal unión, produce los efectos opuestos. El balance entre RANKL y OPG representa el principal determinante del número y de la actividad osteoclástica, y la vía final común a la mayor parte de los factores moduladores de la reabsorción ósea.

FIGURA 1.5.1.1. Sistema OPG/RANKL-RANK.

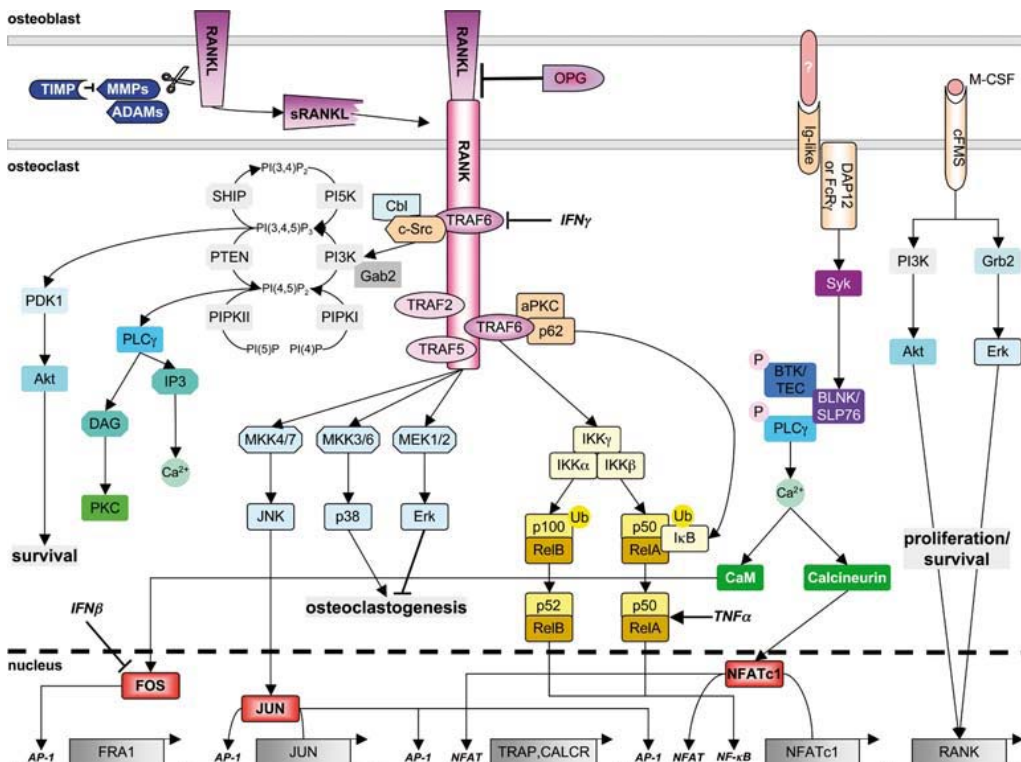


La forma soluble de RANKL, puede derivar o de la unión alternativa de un pre-RNA común, o de la proteólisis de la forma de membrana por metaloproteasas, entre ellas la enzima de conversión del TNF- α . La forma de membrana tiene, al menos en los modelos animales, una mayor actividad biológica respecto a la soluble. Es importante destacar que este sistema requiere la presencia del factor estimulante de colonias-1 (CSF-1) producido también en células osteoblásticas (Hofbauer and Heufelder 2001). CSF-1 y RANKL se requieren conjuntamente para inducir la expresión de los genes que caracterizan al osteoclasto maduro como el de la fosfatasa ácida tartrato-resistente (TRAP), catepsina K (CATK), receptor de calcitonina y β 3-integrina (Khosla 2001). El osteoclasto maduro es activado por mensajes que inducen el inicio del remodelado óseo. El osteoclasto se polariza y, en respuesta a la activación de RANK por su ligando, desarrolla cambios estructurales internos (reagrupación del citoesqueleto de actina y formación de una unión estrecha entre la superficie ósea y la membrana basal formando un compartimiento sellado) que los preparan para la resorción ósea. Este compartimiento formado es entonces acidificado, mediante la secreción de hidrogeniones, y a continuación se liberan enzimas líticas como TRAP y CATK en la laguna de resorción que completan el proceso (Teitelbaum 2000). La supervivencia del osteoclasto maduro y su participación en sucesivas tandas de resorción ósea es regulada por diversas hormonas y citocinas (Khosla 2001). De hecho, se ha sugerido que las diferencias de los niveles circulantes de sRANKL en algunas patologías pueden reflejar simplemente las diferencias de los valores de OPG (Rogers and Eastell 2005).

El RANK activa diversas vías de señalización intracelular (NF κ B – que da nombre al sistema-, JNK, Erk, p38, 3K/Akt, NFAT) (figura 1.5.1.2). El paso clave inicial en la actuación del RANK es la unión de los TRAF (factores citoplasmáticos asociado al TNFR) a lugares específicos de su dominio intracelular. El TRAF-6 es el mejor conocido, y actúa como adaptador para la unión de diversas proteínas de señalización. El osteoblasto produce, además de RANKL, otra sustancia necesaria para la osteoclastogénesis, el M-CSF, que se une al receptor c-fms presente en los precursores de los osteoclastos. La presencia simultánea de RANKL y M-CSF se ha considerado suficiente para

inducir la formación de osteoclastos, pero hoy se sabe que no es así. Deben activarse también inmunorreceptores vinculados a moléculas adaptadoras que contengan en su cola citoplasmática el motivo ITAM14. Los receptores son el TREM2 (triggering receptor expressed on myeloid cells) y el OSCAR (osteoclast-specific activating receptor), y las moléculas adaptadoras a que están vinculados son la DAP12 (DNA activating protein) y la FcRγ (Fc receptor common gamma chain). Los ligandos del TREM2 probablemente se encuentran en los propios osteoclastos activados, y los del OSCAR en los osteoblastos, aunque permanecen muchos aspectos por esclarecer en este campo. La coestimulación de la señalización ITAM y del RANKL es indispensable para la inducción y activación del factor nuclear de las células T activadas (NFAT), el factor de transcripción principal en la osteoclastogénesis.

FIGURA 1.5.1.2. Diagrama sobre el sistema de señalización intracelular de la unión RANKL/RANK.

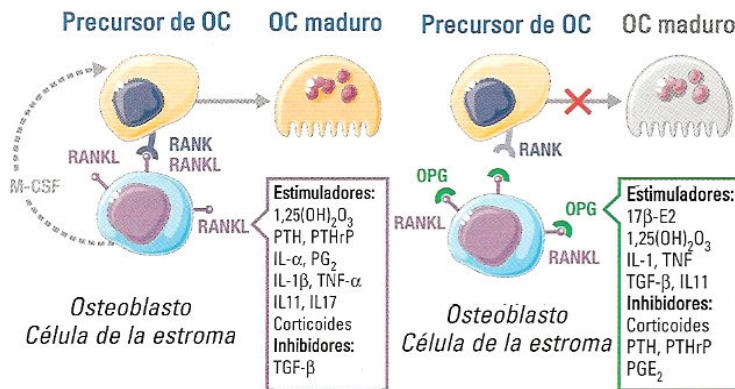


1.5.2 Regulación del sistema OPG/RANKL.

La expresión de RANKL y OPG por parte de las células estromales osteoblásticas está sometida a una compleja modulación endocrina tanto local como sistémica, que involucra todas las principales hormonas y mediadores locales osteotropos (figura 1.5.2.1); menos notoria, al menos de momento, parece ser la modulación de la expresión de RANK. Así, diversas hormonas, citocinas y péptidos producidos en distintos tejidos modulan el metabolismo óseo mediante la expresión de RANKL en las células óseas (Rogers and Eastell 2005). Las principales hormonas calciotropas (PTH, PTHrP o calcitriol) y las citocinas proresortivas (IL-1, IL-6, TNF o PGE2) incrementan la expresión de ARNm de RANKL en las células osteoblásticas (Zaidi, Blair et al. 2003). Sin embargo, el incremento de la osteoclastogénesis inducida por estos factores calciotrópicos, vía RANKL, es bloqueada por la acción de la OPG. Además, ciertos fármacos que presentan un efecto deletéreo sobre el metabolismo óseo, como son los glucocorticoides y la ciclosporina A, han mostrado capacidad para suprimir la expresión de OPG (Hofbauer and Schoppet 2004). Estos datos indican que el sistema de señalización RANK en osteoclastos integra diversos mensajes humorales que regulan la resorción ósea y la homeostasis cálcica. De gran interés es el hallazgo que considera los linfocitos T como una importante fuente de RANKL en el hueso. Así, la activación de las células T induce un incremento de la osteoclastogénesis y resorción ósea, sugiriendo el mecanismo por el que la inflamación aguda y crónica, y ciertas leucemias, están implicadas en la pérdida ósea patológica. Por otra parte, los factores humorales que inhiben la resorción ósea actúan también modulando el acoplamiento entre osteoblastos y osteoclastos (Rogers and Eastell 2005). Los estrógenos constituyen el principal inhibidor endógeno de la resorción ósea y su mecanismo de acción se ha explicado por diversos mecanismos, aunque no se ha establecido con exactitud el elemento más relevante de sus efectos *in vivo*. Se conoce que los estrógenos reducen el número de osteoclastos *in vivo*, suprimiendo posiblemente la formación de estas células. Así, junto a los documentados efectos inhibitorios sobre las citocinas proresortivas (IL-1, IL-6 o TNF- α), se ha descrito una acción sobre los osteoblastos incrementando la producción de OPG e inhibiendo la actividad de RANKL (Bord, Ireland et al.

2003). Por ello, el hipoestrogenismo provocaría una elevada producción de varias citocinas que promueven la osteoclastogénesis (IL-1, IL-6, TNF- α y M-CSF), y la terapia sustitutiva estrogénica tendría el efecto opuesto (Riggs, Khosla et al. 2002). En estudios previos se ha tipificado el efecto del tratamiento estrogénico sobre el sistema OPG/RANK/RANKL. En estos, la terapia hormonal sustitutiva incrementa la producción de OPG en osteoblastos y células del estroma, vía receptor estrogénico alfa (Hofbauer and Schoppet 2004). Además, el hipoestrogenismo aumenta la producción de RANKL en las células óseas, mientras que el reemplazo estrogénico previene estos efectos (Schevde et al. 1999). En resumen, el hipoestrogenismo provoca un balance óseo negativo al desencadenar una elevada osteoclastogénesis mediada por sobre-expresión del RANKL y represión de OPG. Estos datos son compatibles con los estudios que muestran que el tratamiento con OPG en ratas ovariectomizadas previene la pérdida de masa ósea (Zaidi, Blair et al. 2003).

FIGURA 1.5.2.1. Factores reguladores de OPG y RANKL.



1.5.3 El sistema OPG/RANKL en la osteoporosis.

Diversos estudios clínicos han evaluado los niveles de OPG en una población de sujetos adultos sanos. Se ha evidenciado la existencia de una correlación positiva entre la OPG circulante y la edad, tanto en hombres como en mujeres (Szulc, Hofbauer et al. 2001; Khosla, Atkinson et al. 2002; Kudlacek, Schneider et al. 2003). El dato negativo de Rogers y cols. es posiblemente debido al estrecho intervalo de edad en la población en estudio, y a la mayor

variabilidad de los valores circulantes en la población anciana. El aumento con la edad puede reflejar un incremento en la producción de OPG en el curso de procesos patológicos como la osteoporosis y la arterosclerosis, como también una disminución en el aclaramiento renal.

Del estudio de Khosla y cols., surge, además, que las mujeres en edad fértil tienen niveles de OPG superiores a los hombres de la misma edad, y que esta diferencia se pierde en la postmenopausia; este hecho, sin embargo, no está constatado por algunos grupos.

El interés por el papel de las hormonas sexuales en la regulación de los niveles circulantes de OPG se acrecentó por estudios *in vitro* que demostraron que los estrógenos estimulan, mientras que los andrógenos inhiben la expresión osteoblástica de OPG (Hofbauer and Heufelder 2001). Los resultados de los estudios clínicos, sin embargo, son discrepantes.

En la población de mujeres sanas de Khosla y cols. no se obtuvo ninguna correlación entre OPG y hormonas sexuales, mientras que Kudlacek y cols. e Indridason y cols. han demostrado una correlación negativa entre la OPG y el estradiol. En mujeres postmenopáusicas ha aparecido, en cambio, una correlación positiva con estradiol (Rogers, Saleh et al. 2002) y estrona (Arrigi et al. 2000). En el hombre, Szulc y cols. han encontrado una correlación positiva entre los índices de testosterona y estradiol libre y OPG en sujetos mayores de 40 años. Al contrario, Khosla y cols. han demostrado una correlación negativa entre estrógenos (estradiol libre) y andrógenos (testosterona total y libre) por una parte, y OPG. Finalmente, Kudlacek y cols. han observado una correlación positiva con la testosterona.

La disparidad de los datos puede ser debido a la diversidad de los métodos analíticos (medición de la OPG y de los esteroides sexuales); además, es importante subrayar la correlación débil obtenida en los estudios. Es posible que las diversas acciones de las hormonas sexuales en los diferentes tejidos que producen OPG produzcan los efectos no apreciables en los niveles circulantes.

Considerando el papel clave del sistema OPG/RANK/RANKL en la regulación de la osteoclastogénesis, los estudios han buscado la presencia de correlación entre los niveles séricos de OPG y el metabolismo óseo, estudiado a través de

técnicas densitométricas y marcadores de remodelado. Los primeros resultados fueron paradójicos; los niveles séricos de OPG fueron mucho superiores en mujeres osteoporóticas respecto a una población de mujeres mayores no osteoporóticas, en el grupo de las pacientes osteoporóticas eran, además, superiores en aquellas con antecedentes personales de fracturas vertebrales no traumáticas. Coherentemente con estos primeros resultados, algunos estudios han obtenido en las mujeres postmenopáusicas una correlación inversa entre los niveles de OPG y la DMO en distintos lugares (Rogers, Saleh et al. 2002). Otros, en cambio, han encontrado una correlación positiva entre OPG y DMO (Browner, Lui et al. 2001; Khosla, Atkinson et al. 2002). En los hombres se ha obtenido o bien ninguna correlación, o una débil correlación inversa (Khosla, Melton et al. 2002; Indridason, Franzson et al. 2005). El hallazgo de una correlación inversa se ha interpretado de manera concordante como expresión de un mecanismo compensatorio inadecuado, y no ha impedido la realización de un ensayo clínico en el que la administración subcutánea de OPG (dosis máxima de 3mg/kg) en mujeres postmenopáusicas ha determinado una rápida, significativa y prolongada reducción de la reabsorción ósea (Bekker, Holloway et al. 2001).

Los resultados sobre la existencia de correlación entre los niveles de OPG y los diversos marcadores del metabolismo óseo difieren, dependiendo del sexo y la edad de la población en estudio, así como del ensayo utilizado (Dovio, Data et al. 2005). La hipótesis del “aumento compensatorio” se ha formulado para explicar la aparición frecuente de una correlación positiva entre niveles circulantes de OPG y marcadores de reabsorción.

La discrepancia de los resultados sobre los niveles de OPG, DMO y marcadores de remodelado puede ser debida a la diversidad de la población en estudio y de los métodos para medirlos, aunque también denota la multiplicidad de tejidos productores de OPG.

1.5.3.1 Contribución del sistema OPG-RANKL en las enfermedades inflamatorias óseas.

La mayor parte de las secuelas esqueléticas de la artritis reumatoide (AR), como las erosiones periarticulares, son el resultado de la osteoporosis yuxta-

articular por un proceso de resorción aumentada debido a un ambiente inflamatorio en el que se ven envueltos distintas células (linfocitos T y B, macrófagos) y citocinas (IL-1, IL-6, IL-7, IL-11, IL-17, TNF). Dado que se expresan altos niveles de RANKL, los linfocitos T activados tienen la habilidad de modular las células dendríticas y activar al osteoclasto.

Basado en modelos animales de AR, las citocinas regulan la expresión de RANKL y OPG (Lubberts, van den Bersselaar et al. 2003). Así, por ejemplo, mientras IL-1, IL-7 e IL-17 aumentan la proporción de RANKL/OPG, IL-4 inhibe IL-17 y RANKL. El tratamiento de pacientes con anticuerpos monoclonales anti- TNF- α normalizó los niveles séricos de RANKL y OPG (Ziolkowska, Kurowska et al. 2002). Un papel similar, como el mediador de pérdida del hueso, se ha atribuido a RANKL en los pacientes con espondilitis anquilosante y artritis psoriásica, y en modelos animales de artritis séptica e infección periodontal.

El bloqueo de RANKL previno la destrucción ósea en ratas con artritis. Estudios posteriores en animales de experimentación han combinado el bloqueo de RANKL, IL-1 y anticuerpos anti- TNF- α . Esta terapia combinada previno la pérdida de hueso y la inflamación periarticular, avalando la posibilidad de bloqueo combinado o secuencial de citocinas (Zwerina, Hayer et al. 2004).

1.5.4 Sistema OPG/RANKL en la enfermedad de Crohn.

Basándose en el hecho de que los linfocitos T desempeñan un papel fundamental en la EII en humanos, Moschen y cols. formularon la hipótesis de que la inflamación per se, a través del sistema RANKL/OPG, podría contribuir a la pérdida de masa ósea en la EII. Así, en el estudio que llevaron a cabo con 180 enfermos de EII (111 con EC y 69 con CU) vieron que dicho sistema está activado en la EC y en la CU, y encontraron una relación inversamente proporcional entre los niveles plasmáticos de OPG y la densidad mineral ósea.

Los niveles plasmáticos de OPG fueron más altos en los pacientes con EII, especialmente en aquellos con EC, en comparación con la población sana control, mientras que los de RANKL fueron similares. La ratio OPG/RANKL fue mayor en los pacientes con EII, sobre todo en la EC.

Los niveles de OPG se correlacionaron negativamente con la densidad mineral ósea en cuello de fémur y columna lumbar, mientras que los de RANKL no lo hicieron. Los enfermos con osteoporosis tuvieron niveles más altos de OPG y una tendencia a menores niveles de RANKL.

Mediante cultivo de células de mucosa colónica de enfermos con EII (colonic explant cultures, CEC) se observó que la mucosa inflamada, en pacientes con EC y CU, era capaz de producir OPG. Los niveles de RANKL no variaron en controles ni en enfermos de EII. Por tanto, al menos en parte, la OPG elevada en los pacientes con EII procedería del intestino.

Por otro lado, los estudios mediante IF sugieren que los macrófagos y células dendríticas serían las principales fuentes de OPG, mientras que RANKL procedería fundamentalmente de los linfocitos T.

Finalmente, los niveles plasmáticos de OPG no se correlacionaron con el tratamiento. Sí lo hicieron los niveles de RANKL, que bajaron en los pacientes tratados, si bien la actividad de la enfermedad no se correlacionó con los niveles de RANKL.

Una posible explicación a las alteraciones encontradas en el sistema OPG/RANK, en los pacientes con EII, podría proceder de los hallazgos en modelos experimentales. En modelos de colitis en ratones deficientes en IL-2 se observa una importante osteoporosis que depende de la liberación de RANKL por linfocitos T activados. Se observan niveles elevados de RANKL en estadios tempranos, cuando se inicia la colitis y la pérdida de hueso. Por el contrario, en estadios tardíos, los niveles de RANKL se normalizan, y se aprecia aumento de OPG posiblemente para estabilizar la homeostasis ósea, pudiendo ser esta la secuencia propia de la EII.

Algunos de los factores que favorecen la osteoclastogénesis en pacientes con EII (por ejemplo, IL-1, IL-6, TNF- α) actúan aumentando la expresión de RANKL. Es importante destacar, además, que IL-1 β y TNF- α aumentan al mismo tiempo la expresión de OPG. De este modo, las citocinas que perpetúan la colitis simultáneamente activarían el sistema OPG/RANKL, interrelacionando inflamación intestinal y masa ósea (Moschen, Kaser et al. 2005).

Otros autores han encontrado niveles elevados de RANKL y, sobre todo, OPG, tanto en suero como en mucosa colónica, en comparación con sujetos sanos, con incluso una correlación inversa con la DMO. Las conclusiones a las que se llegan son las mismas, el RANKL elevado sería consecuencia del estado inflamatorio de la enfermedad, mientras que la elevación de la OPG constituiría una respuesta compensadora. El factor conector clave serían las citocinas proinflamatorias, sobre todo el TNF- α (Bernstein, Sargent et al. 2005) (Franchimont, Reenaers et al. 2004; Turk, Cukovic-Cavka et al. 2009).

1.6 El TNF- α en la enfermedad de Crohn.

1.6.1 Descripción y receptores.

El TNF- α es una citocina pleiotrópica, producida fundamentalmente por macrófagos activados, con múltiples funciones biológicas entre las que destacan la citotoxicidad, la proliferación de células inmunes y la inducción de procesos inflamatorios. La forma soluble (madura) procede de la separación por proteólisis del precursor proTNF- α , una proteína transmembrana tipo II. Los niveles del TNF- α se encuentran elevados en la mucosa de pacientes con EII, y está considerado como uno de los factores que perpetúan la inflamación mucosa (Spoettl, Hausmann et al. 2007).

La actividad biológica del TNF- α está mediada por dos receptores unidos a la membrana celular: TNF-RI y TNF-RII. Éstos, a su vez, tienen una forma soluble (sTNF-RI y sTNF-RII, respectivamente), que surgen como consecuencia de la separación proteolítica de los dominios extracelulares de aquéllos. Los receptores solubles del TNF- α tienen una acción inmunomoduladora, actuando como antagonistas del TNF- α e inhibiendo sus efectos proinflamatorios (Kwan Tat, Padrines et al. 2004; Spoettl, Hausmann et al. 2007).

1.6.2 TNF- α y osteoporosis.

El TNF- α es una de las citocinas producidas durante la inflamación con mayor potencia osteoclastogénica. De forma sinérgica con la IL-1 β y la IL-6, estimula la maduración de los osteoclastos, bien independientemente o sinérgicamente

con RANKL, además de estimular la producción de RANKL por parte de los osteoblastos. De manera recíproca, el RANKL puede estimular la expresión de mRNA del TNF- α e IL-1. También se ha comprobado que el TNF- α suprime el reclutamiento de osteoblastos, inhibe la expresión de genes de proteínas de la matriz y estimula la expresión de genes amplificadores de la osteoclastogénesis. Finalmente, esta citocina también puede tener un efecto sobre el metabolismo óseo mediante la inducción de una resistencia a la 1,25OH₂D₃. En definitiva, la acción del TNF- α tendría como resultado un aumento de la resorción ósea con disminución de la formación (Nanes 2003; Kwan Tat, Padrines et al. 2004).

Existe evidencia de que la sobreproducción local del TNF- α es en gran medida responsable de la pérdida ósea detectada entre otras patologías, en la artritis reumatoide, la artritis psoriásica y las espondiloartritis (Bingham 2002; Allali, Breban et al. 2003; Goldring 2003; Ritchlin, Haas-Smith et al. 2003). Puesto que el TNF- α es un mediador fundamental de la EC en humanos, esta citocina, junto con el RANKL producido por los linfocitos T activados, podrían ser los responsables de la pérdida de masa ósea detectada en estos pacientes (Lichtenstein 2003; Tilg, Moschen et al. 2008).

1.6.3 Niveles de TNF- α y sus receptores, y su relación con el grado de actividad de la enfermedad de Crohn.

Se ha comprobado que los pacientes con EC presentan niveles elevados de sTNF-RI y sTNF-RII en suero (sobre todo de este último), y que sus niveles se correlacionan con la actividad de la enfermedad (Holtmann, Douni et al. 2002; Spoettl, Hausmann et al. 2007) (Hadziselimovic, Emmons et al. 1995; Gustot, Lemmers et al. 2005).

Los niveles de los receptores solubles del TNF- α en suero se correlacionan bien con los de éste, presentando la determinación de los receptores solubles la ventaja adicional de que éstos poseen una mayor estabilidad, puesto que el TNF- α es rápidamente eliminado de la circulación (Gonzalez-Calvin, Gallego-Rojo et al. 2004).

1.7 ADALIMUMAB.

1.7.1 Fármacos anti-TNF: descripción y mecanismo de acción.

Las terapias biológicas, llamadas de este modo por ser sintetizadas a partir de organismos vivos, pueden ser diseñadas para que actúen específicamente sobre mediadores inflamatorios específicos, entre ellos el TNF, ofreciendo, de este modo, la posibilidad de reforzar o, incluso, sustituir a los tratamientos inmunosupresores habituales (Kourbeti and Boumpas 2005; Graves, Nunley et al. 2007).

En la actualidad, hay 3 fármacos anti-TNF disponibles en el mercado: infliximab, etanercept y adalimumab (figura 1.7.1.1 y tabla 1.7.1.1). a) Infliximab es un anticuerpo monoclonal quimérico del isotipo IgG1, con una región constante humana y otra variable murina, que se une y neutraliza las formas soluble y transmembrana del TNF- α (pero no el β). Se administra por vía intravenosa de forma ambulatoria, con raras reacciones graves a la infusión, si bien se ha informado del desarrollo de anticuerpos frente a infliximab (con una incidencia variable desde el 15% hasta más del 50%), los cuales se han asociado con una menor eficacia y una mayor tasa de reacciones a la infusión. Con el objetivo de evitar la aparición de estos anticuerpos, se asocia en muchos casos (como en la AR) metotrexato a dosis inferiores a las empleadas en la práctica clínica habitual (Kourbeti and Boumpas 2005; Graves, Nunley et al. 2007). b) Etanercept es un receptor soluble del TNF humano, obtenido por tecnología de ADN recombinante, mediante la fusión de la región extracelular de dos receptores del TNF tipo II y la región Fc de la IgG1 humana. Etanercept se une al TNF- α y al TNF- β solubles en plasma, dejándolos biológicamente

inactivos. Su administración es subcutánea, una o dos veces a la semana. Se han descrito reacciones en la zona de inyección hasta en el 40% de los casos, y presencia de anticuerpos frente a etanercept en menos del 10%, si bien su presencia no se asocia con una menor eficacia (Kourbeti and Boumpas 2005; Graves, Nunley et al. 2007). c) Adalimumab es un anticuerpo monoclonal del isotipo IgG1 completamente humano, específico frente al TNF- α , que se fija tanto a su forma transmembrana como a la soluble. Se administra de forma subcutánea cada dos semanas. Al ser el más nuevo de los anti-TNF, los datos sobre efectos secundarios e incidencia de anticuerpos frente al mismo y su significado son escasos (Graves, Nunley et al. 2007).

1.7.2 Indicaciones de los fármacos anti-TNF en la enfermedad de Crohn.

Infliximab y adalimumab están disponibles para el tratamiento de pacientes con EC activa de moderada a grave y pacientes con EC fistulizante, que no han respondido a la terapia convencional (años de introducción 1997 y 2007, respectivamente). Etanercept no ha demostrado eficacia en la EC (Baumgart and Sandborn 2007).

FIGURA 1.7.1.1. Mecanismo de acción de los diferentes agentes anti-TNF.

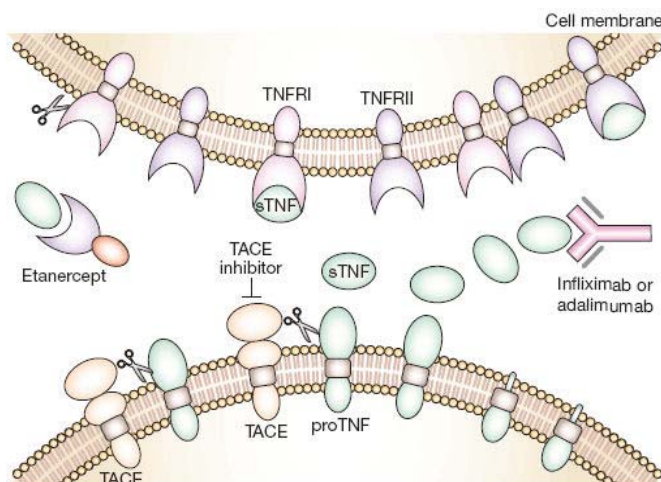


TABLA 1.7.1.1. Características de los diferentes agentes anti-TNF.

| | INFLIXIMAB | ETANERCEPT | ADALIMUMAB |
|------------------------------|---|---|---|
| CLASE | Anticuerpo monoclonal frente a TNF- α | Receptor soluble del TNF | Anticuerpo monoclonal frente a TNF- α |
| COMPOSICIÓN | Anticuerpo quimérico | Proteína de fusión recombinante | Anticuerpo monoclonal recombinante |
| ORIGEN | Humano y murino | Humano | Humano |
| MECANISMO DE ACCIÓN | Unión al TNF- α soluble en plasma y unido a membrana celular; fijación del complemento | Unión a TNF- α y TNF- β solubles en plasma | Unión al TNF- α soluble en plasma y unido a membrana celular; fijación del complemento |
| DOSIS | 3-5 mg/kg de peso las semanas 0, 2 y 6; después cada 4-8 semanas | 25-50 mg una o dos veces en semana | 40 mg cada 2 semanas en AR y 160-80-40 mg ó 80-40 mg en EC |
| VÍA DE ADMINISTRACIÓN | Intravenosa | Subcutánea | Subcutánea |

1.7.3 Perfil de seguridad de los fármacos anti-TNF.

Los efectos secundarios con el uso de anti-TNF más comunicados han sido infecciones, enfermedades desmielinizantes, síndromes linfoproliferativos, reacciones alérgicas, desarrollo de autoinmunidad, hepatitis y aparición o empeoramiento de insuficiencia cardiaca congestiva. Con respecto a la seguridad en el embarazo, los fármacos anti-TNF se encuentran en la categoría B. Se desconoce claramente la seguridad de estos agentes en pacientes con hepatitis crónica B y C. Sin embargo, se recomienda realizar serologías de

ambos virus previamente al inicio del tratamiento con anti-TNF a todos los pacientes. En caso de hepatopatía activa por VHB, la recomendación es tratar la enfermedad y no empezar tratamiento con anti-TNF hasta que no esté controlada. En pacientes con VHC se recomienda seguimiento estrecho de la enfermedad y considerar la biopsia hepática de forma periódica (Hoffman, Cid et al. 2007)

1.7.3.1 Infecciones.

Como era previsible, dado el mecanismo de acción de estos fármacos, se ha descrito el desarrollo de infecciones oportunistas con el uso de anti-TNF. En concreto, se ha detectado un incremento de la incidencia de tuberculosis, que en la mayoría de los pacientes se presenta de forma diseminada o atípica. El mayor riesgo se ha descrito con infliximab, seguido de etanercept y adalimumab (este último caso en relación, posiblemente, con su menor tiempo de presencia en el mercado). Por tanto, es necesario hacer un despistaje exhaustivo de tuberculosis antes del inicio de la terapia con anti-TNF, e incluso tratar previamente una posible tuberculosis latente si se detectara; y aún así, cabe la posibilidad de una nueva reactivación que siempre habrá de tenerse en cuenta si aparecieran síntomas sugerentes. También se han descrito casos de histoplasmosis, aspergilosis, criptococosis y listeriosis en relación con el uso de infliximab (Wagner, Andresen et al. 2002; Parra Ruiz, Ortego Centeno et al. 2003; Kourbeti and Boumpas 2005; Graves, Nunley et al. 2007; Cordero-Coma, Benito et al. 2008).

1.7.3.2 Enfermedades desmielinizantes.

Existe un riesgo, aún no comprobado, de que los anti-TNF puedan exacerbar o inducir una enfermedad desmielinizante (esclerosis múltiple, neuritis óptica), sobre todo con etanercept (Munteis-Olivas, Perez-Garcia et al. 2005; Nash and Florin 2005; Graves, Nunley et al. 2007).

1.7.3.3 Neoplasias.

Se ha detectado un incremento de la incidencia de linfomas (Hodgkin y no Hodgkin) en los pacientes tratados con anti-TNF, sobre todo con AR. Sin embargo, el hecho de que se dé en pacientes con un tipo de enfermedades que de por sí tienen un riesgo de desarrollo de linfomas aumentado, hace que este aspecto aún sea controvertido. No hay evidencia de que aumenten el riesgo de tumores sólidos (Kourbeti and Boumpas 2005; Nash and Florin 2005; Graves, Nunley et al. 2007).

1.7.3.4 Reacciones alérgicas.

Las reacciones locales en el lugar de inyección o a la infusión suelen ser leves a moderadas y responden bien a tratamiento habitual. Se han descrito también reacciones alérgicas sistémicas y angioedema, incluso con adalimumab, a pesar de tratarse de un anticuerpo monoclonal humano (Kourbeti and Boumpas 2005; Nash and Florin 2005; Sanchez-Cano, Callejas-Rubio et al. 2006).

1.7.3.5 Autoinmunidad.

Como ya se ha comentado previamente, se ha observado la aparición de autoanticuerpos con el empleo de los anti-TNF, incluso con desarrollo de un síndrome lupus-like o LES. En el estudio de Casals *et al* (Ramos-Casals, Brito-Zeron *et al.* 2007) se detectaron 113 casos de vasculitis, siendo el tipo más

frecuentemente encontrado la vasculitis leucocitoclástica; la cuarta parte de estos enfermos presentaban afectación extracutánea. Además, 24 enfermos presentaron enfermedad pulmonar intersticial, si bien con un posible papel coadyuvante del metotrexate. *Elezoglou et al* también han encontrado formación de autoanticuerpos en la enfermedad de Behçet. Así, 13 de 20 enfermos tratados con infliximab presentaban ANA positivos a los 6 meses de tratamiento, 7 de ellos con títulos bajos de anti-dsDNA tipo IgM y 6 con anti-beta2GPI IgM; en posteriores determinaciones a los 12 y a los 18 meses, esos títulos positivos se mantuvieron o incrementaron, pero en ningún momento apareció clínica relacionada con ellos, ni tampoco se detectaron otros tipos de autoanticuerpos (*Elezoglou, Kafasi et al. 2007*). Del mismo modo, son múltiples los casos de psoriasis y erupciones psoriasiformes inducidas por los 3 agentes anti-TNF (sobre todo con infliximab), aunque esto no ha supuesto siempre la retirada del fármaco, ya que en muchos casos se mantuvo con tratamiento adicional anti-psoriásico, con buena respuesta en general (*Wollina, Hansel et al. 2008*).

1.7.3.6 Efecto del tratamiento anti-TNF en el metabolismo óseo.

En consonancia con la hipótesis de que el TNF- α tiene un efecto deletéreo sobre el metabolismo óseo en la EC, son varios los estudios que han intentado valorar si los fármacos anti-TNF, en concreto infliximab, al controlar el proceso inflamatorio, pudieran revertir esta acción. Previamente, *Reffitt et al* habían encontrado que los enfermos con EC en remisión con azatioprina tenían una mayor DMO tanto en columna lumbar como en cuello de fémur que aquellos que no lo estaban (*Reffitt, Meenan et al. 2003*).

Franchimont et al analizaron la evolución del metabolismo óseo en 71 pacientes con EC tratados con infliximab. Se midieron marcadores de formación y resorción basales y a las 8 semanas de completar el tratamiento

(una sola dosis en las formas luminales y 3 dosis en las fistulizantes). Se apreció incremento de los marcadores de formación (con una mediana de cambio del 14-51% según el marcador) y descenso del de resorción (mediana de cambio del 11%). Los autores encontraron un incremento clínicamente significativo (al menos 30%) de los marcadores de formación ósea en el 30-61% de los pacientes (según el marcador), mientras que un descenso clínicamente significativo (al menos del 30%) del marcador de resorción ósea estaba presente en el 38% de los pacientes. No se halló una asociación significativa con ninguno de los parámetros demográficos ni clínicos medidos (incluyendo la respuesta clínica o biológica a infliximab). Estos resultados, sin embargo, no fueron iguales en todos los pacientes, de tal modo que sólo un 8,5% de los pacientes presentó un incremento de marcadores de formación junto con un descenso del de formación. Los autores concluyen que el tratamiento con infliximab produce una mejoría rápida en el perfil de los marcadores de recambio óseo, independientemente de la respuesta clínica al mismo, aunque los efectos a largo plazo sobre el riesgo de fractura están por determinar (Franchimont, Putzeys et al. 2004). Del mismo modo, otro estudio con 24 pacientes con EC activa tratados con una única dosis de infliximab encontró un aumento significativo de los marcadores de formación ósea durante los cuatro meses de seguimiento; mientras que el descenso del marcador de resorción ósea medido no alcanzó significación estadística, como tampoco lo hizo las diferencias encontradas entre los respondedores y no respondedores (Ryan, Russel et al. 2004). *Abreu et al* también encontraron una asociación entre el tratamiento con una dosis de infliximab y el incremento del marcador de formación ósea medido a las cuatro semanas, independientemente de la respuesta al mismo o la toma de corticoides; no encontraron cambios con respecto al marcador de resorción (Abreu, Geller et al. 2006). Más recientemente, un estudio con 103 pacientes con EC en edad infantil tras 54 semanas de tratamiento con infliximab encontró un aumento de los marcadores de formación (que se asoció a un incremento del crecimiento lineal), lo que los autores consideran que iría a favor de un bloqueo de los efectos del TNF- α sobre los osteoblastos. Del mismo modo, también se encontró un aumento de los marcadores de resorción ósea, que los autores justifican como reflejo del

acoplamiento entre formación y resorción óseas y el incremento del crecimiento lineal (Thayu, Leonard et al. 2008).

Por otro lado, *Berstein et al* evaluaron el cambio de masa ósea en cuello de fémur y columna lumbar en 46 pacientes con EC tratados con infliximab como mantenimiento. Hubo una ganancia de densidad mineral ósea en todos los puntos de medición (2,4% en columna lumbar, 2,8% en trocánter y 2,6% en cuello de fémur), lo cual sucedió a pesar del tratamiento con corticoides (28%). Tampoco se encontró una correlación con la toma de suplementos de calcio y vitamina D, o con los cambios en la PCR. Posiblemente, este hecho se deba a una acción directa del agente anti-TNF sobre la osteoclastogénesis, a través de la activación de NF- κ B, promoviendo la apoptosis por la vía de la caspasa (Bernstein, Irwin et al. 2005). Otro estudio retrospectivo con 45 enfermos de Crohn (15 tratados con infliximab y 30 controles) encontró una mejoría de la masa ósea lumbar a lo largo del tiempo (medida mediante dos DXA separadas al menos 1 año), independientemente del estado nutricional y de la toma de corticoides (Mauro, Radovic et al. 2007).

Finalmente, *Miheller et al*, valoraron los posibles efectos del tratamiento con infliximab en 29 pacientes con EC sobre parámetros de formación y resorción ósea, y su posible relación con cambios en el sistema OPG/RANKL/RANK. Estos autores detectaron un incremento de los parámetros de formación y un descenso de la OPG (más en respondedores), a la vez que un descenso en los parámetros de resorción y un incremento del RANKL, si bien los cambios en estos últimos no eran estadísticamente significativos. Los autores concluyen que los niveles elevados de OPG pueden reflejar una respuesta contrarreguladora frente a factores como citocinas inflamatorias o pueden indicar una activación de los linfocitos T, pudiendo justificarse su disminución por la acción antiinflamatoria del infliximab (Miheller, Muzes et al. 2007).

Hasta la fecha, no existen estudios en la literatura que evalúen el efecto de adalimumab sobre el metabolismo óseo en enfermos con EC. No obstante, un estudio con 50 pacientes con AR tratados con adalimumab no encontró cambios en la DMO (ni en columna lumbar ni en cuello de fémur) a lo largo de un año, concluyendo los autores que el bloqueo del TNF- α podría detener la pérdida de masa ósea (Wijbrandts, Klaasen et al. 2009).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL.

Analizar si el tratamiento con adalimumab durante un periodo de 6 meses, en pacientes con EC activa, es capaz de incrementar la formación ósea, medida de forma indirecta por el incremento de los marcadores de formación ósea, y/o disminuir la resorción, medida igualmente de forma indirecta, mediante la disminución de los marcadores de resorción ósea.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Analizar posibles modificaciones en la DMO acompañantes.
2. Valorar la influencia del tratamiento con adalimumab en los niveles de OPG y RANKL, y su posible relación con el control de los parámetros inflamatorios.
3. Evaluar si las variaciones en los niveles de OPG y/o RANKL se relacionan con las posibles modificaciones en la masa ósea y los marcadores de metabolismo mineral.

3 MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO.

Pacientes con EC, seguidos en condiciones de práctica clínica habitual, en las consultas de Aparato Digestivo de los Hospitales Universitarios San Cecilio y Virgen de las Nieves de Granada. El estudio se realizó entre octubre de 2007 y octubre de 2009.

Se incluyeron en el estudio un total de 64 pacientes, de los cuales 20 eran casos y el resto controles. De los pacientes incluidos como casos, 2 no completaron el estudio, una por presentar una complicación infecciosa intercurrente y otra por presentar una complicación de su proceso de base (absceso intraabdominal). De los 44 controles, 21 abandonaron el estudio por decisión propia.

Los criterios de inclusión fueron:

- Pacientes con edad comprendida entre los 18 y 65 años, con régimen de vida ambulatorio.
- Aceptación y firma del consentimiento informado.

Estos pacientes se dividieron en dos grupos:

- Casos: en tratamiento con adalimumab, según indicaciones aceptadas internacionalmente, i.e.: a) fistula única o múltiple, enterocutánea o perianal, como consecuencia de la EC, resistente al tratamiento convencional mantenido durante al menos 3 meses; b) formas moderadas o graves de la enfermedad, de al menos 6 meses de duración, con colitis, ileitis o ileocolitis, confirmadas por radiografía o endoscopia, refractarias o corticodependientes y/o que no responden al tratamiento inmunosupresor habitual.
- Controles: sin tratamiento con adalimumab, en los cuales éste no estaba indicado.

Fueron excluidos del estudio aquellos pacientes que:

- No aceptasen participar.
- Los menores de 18 años o mayores de 65.

- Mujeres embarazadas.
- Hubiesen recibido tratamiento con algún fármaco anti-TNF en los dos años previos.
- Presentasen antecedentes de patología metabólica ósea, diferente de la osteoporosis, comprobado mediante la historia clínica, exploración y estudio analítico (determinaciones séricas de calcio, fósforo, creatinina y urea y en orina de calcio y creatinina).

3.2 INTERVENCIÓN FARMACOLÓGICA.

Los pacientes con formas resistentes al tratamiento convencional o formas fistulizantes fueron tratados con una dosis de carga de adalimumab de 180 miligramos subcutáneos la primera semana y 80 miligramos subcutáneos a los dos semanas, o bien 80 miligramos la primera semana y 40 miligramos la segunda, según la gravedad del cuadro, seguidos de una dosis de mantenimiento de 40 miligramos subcutáneos cada 2 semanas.

3.3 DISEÑO DEL ESTUDIO.

El diseño del estudio corresponde al de un estudio prospectivo de casos y controles.

Las variables analizadas en el estudio se han dividido en:

- 1) Variables demográficas: edad, sexo, índice de masa corporal (IMC, medido en Kg / m²) y consumo de tabaco (medido en paquetes/año)
- 2) Variables clínicas:
 - Forma de enfermedad: luminal o fistulizante.
 - Tiempo de evolución de la enfermedad: medido en años.
 - Existencia de posible resección intestinal.
 - Fármacos utilizados de forma concomitante.
 - Índice de actividad de la enfermedad (Crohn's Disease Activity Index o CDAI), que distingue entre formas inactivas (puntuación inferior a

150), leves (puntuación entre 150 y 250), moderadas (puntuación entre 250 y 350) y graves (puntuación superior a 350).

- Proteína C reactiva (PCR).
- Tiempo de tratamiento con adalimumab (considerando que algunos pacientes podrán abandonarlo antes de terminar el periodo de estudio).

3) Variables propias del metabolismo mineral

- a) Estándares: calcio, fósforo, 25OHD₃ y hormona paratiroidea intacta (PTHi)
- b) Marcadores de formación ósea en suero: isoenzima ósea de la fosfatasa alcalina (bALP) y osteocalcina (BGP).
- c) Marcadores de resorción en suero: actividad de la fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP) y telopéptidos carboxiterminales del colágeno tipo I (CTX).

4) Variables del sistema OPG/RANK/RANKL en suero: osteoprotegerina (OPG) y ligando de RANK (RANKL).

5) Niveles de sTNF-RI en suero.

6) Variables densitométricas:

- DMO en cuello de fémur.
- DMO en columna lumbar total (L1-L4).

En el protocolo de estudio se consideran 4 puntos de medición de las variables (figura 3.3.1):

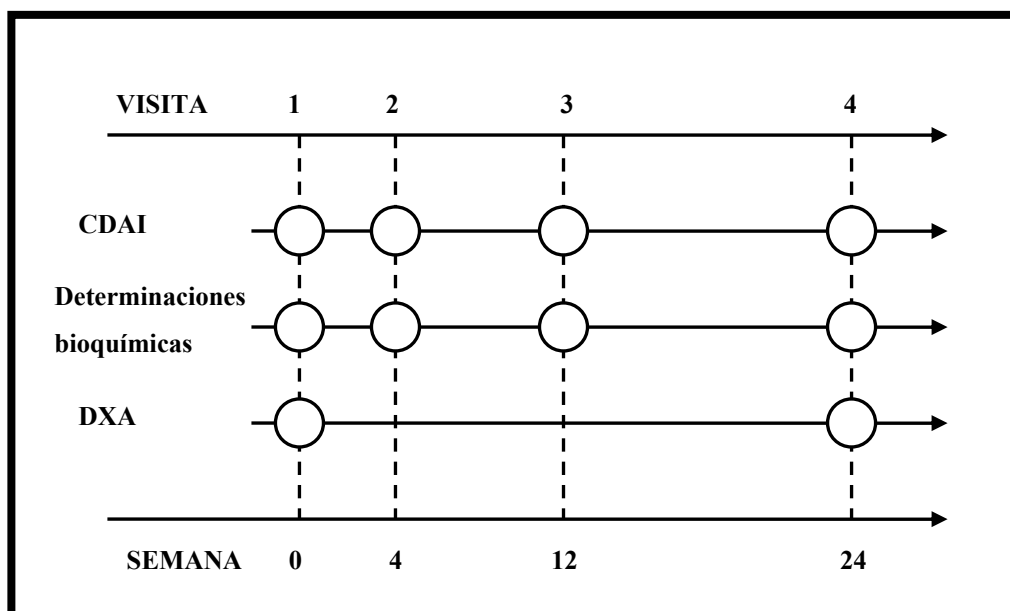
I. Basal. En el que se recogieron las variables demográficas, clínicas, de metabolismo mineral y densitométricas y, en los pacientes del grupo de casos se comenzó el tratamiento con adalimumab.

II. A las 4 semanas. En el que se medieron las variables del metabolismo mineral, del sistema OPG/RANK/RANKL, sTNF-RI, PCR y clínicas de carácter evolutivo

III. A las 12 semanas. En el que se medirán variables clínicas evolutivas, del metabolismo mineral, del sistema OPG/RANK/RANKL y sTNF-RI.

IV. A las 24 semanas en las que, aparte de las variables medidas en el punto 2 y 3, se realizará nueva densitometría ósea.

FIGURA 3.3.1 Esquema del diseño del estudio.



3.4 DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS.

3.4.1 Determinaciones hormonales.

PTHi

La PTHi ha sido determinada por el kit suministrado por Roche Diagnostics GmbH (Mannheim, Alemania), el cual se trata de un inmunoensayo de electroquimioluminiscencia. Este test se basa en la utilización de dos anticuerpos monoclonales anti-PTH, uno de ellos biotilnado, el cual reacciona con el fragmento N-terminal (1-37), y otro, marcado con quelato de rutenio, que reacciona con el fragmento C-terminal (38-34), formándose un complejo sándwich. Los valores de referencia se encuentran entre 15 y 65 pg/mL. Los coeficientes de variación intra e interensayo (CV%) son inferiores al 4% y 6,5%, respectivamente.

25OHD₃

La valoración de la 25OHD₃ se ha realizado mediante el kit LIAISON 25 OH Vitamin D TOTAL Assay suministrado por DiaSorin (Stillwater, Minnesota, EEUU). Éste consiste en un inmunoensayo competitivo directo por quimiluminiscencia para la determinación cuantitativa total de la 25OHD₃ en suero o plasma. El rango de normalidad que proporciona el kit es entre 30 y 100 ng/mL, aunque no existe consenso sobre cuáles serían los niveles óptimos de 25OHD₃ en suero. Para este estudio se ha utilizado como punto de corte 20 ng/ml. Los coeficientes de variación intra e interensayo (CV%) se encuentran por debajo de 5,5 y 12,9%, respectivamente (Holick 2007).

3.4.2 Determinación de la PCR.

Para la determinación de la PCR se ha empleado el kit CRPLX, suministrado por Roche Diagnostics GmbH (Mannheim, Alemania). Se trata de una prueba inmunturbidimétrica potenciada con partículas, en la que anticuerpos anti-PCR unidos a micropartículas de látex reaccionan con el antígeno de la muestra para formar un complejo antígeno-anticuerpo. La aglutinación resultante se mide turbidimétricamente. El rango de normalidad se sitúa por debajo de 0,5 mg/dL. Los coeficientes de variación intra e interensayo (CV%) son inferiores a 2,76% y 4,61%, respectivamente.

3.4.3 Determinación de los marcadores de remodelado óseo.

Formación ósea.

bALP: se empleó un ensayo inmunoenzimático con un anticuerpo monoclonal específico para la bALP y marcado con biotina en una fase sólida para la determinación cuantitativa de la bALP en el suero humano. El kit comercial (Ostase BAP) fue suministrado por Immunodiagnostic Systems Ltd. (Baldon, Reino Unido). Los valores normales (media ± DE) son 7,43-31,37 µg/L para hombres y 6,32-22,46 µg/L para mujeres premenopáusicas. La precisión intraensayo (CV%) es inferior a 6,5% y la de interensayo (CV%) inferior a 6,4%.

OC: su valoración se realizó mediante el kit LIAISON Osteocalcin, el cual se trata de un inmunoensayo directo por quimiluminiscencia de tipo sándwich

indicado para la determinación cuantitativa de OC en suero humano. Este kit fue suministrado por DiaSorin (Stillwater, Minnesota, EEUU). Los rangos de normalidad oscilan entre 12-52 ng/L en varones y 6,5-42,3 ng/L en mujeres premenopáusicas, siendo la variabilidad intraensayo (**CV%**) inferior al 8% y la interensayo (**CV%**) inferior a 9%.

Resorción ósea.

TRAP: sus niveles se midieron usando el kit BoneTRAP Assay (Immunodiagnostic Systems Ltd., Boldon, Reino Unido), que determina la isoforma 5b activa de la TRAP, mediante la técnica de ELISA. Los valores de normalidad oscilan entre 1,03 y 4,82 U/L en varones y 1,03 y 4,15 U/L en mujeres premenopáusicas. Los coeficientes de variación intra e interensayo (**CV%**) son inferiores a 13,9 y 9,2%, respectivamente.

CTX: su determinación se realizó mediante un inmunoensayo de electroquimioluminiscencia con el kit β -CrossLaps/serum, suministrado por Roche Diagnostics GmbH (Mannheim, Alemania). Se basa en la medición de la luz emitida producida por una reacción quimioluminiscente tras la unión de un anticuerpo específico monoclonal anti- β -CrossLaps marcado con quelato de rutenio, formándose un complejo sándwich. El rango de normalidad para los varones es de 0,158-0,442 ng/mL, mientras que en mujeres premenopáusicas es 0,157-0,440 ng/mL. La precisión intraensayo (**CV%**) es inferior a 5,5% y la de interensayo (**CV%**) inferior a 7,6%.

3.4.4 Determinación de marcadores de osteoclastogénesis.

OPG: se determinó mediante un enzimoimmunoensayo diseñado para la detección de forma cuantitativa de OPG en suero, plasma o sobrenadante de cultivos celulares (OPG ELISA, BIOMEDICA-GRUPPE, Wien, Austria). Se basa en la utilización de anticuerpos con afinidad específica para la molécula de OPG, que detecta las formas monoméricas y diméricas de la misma, incluso las unidas a su ligando. La precisión intraensayo es 10% y la interensayo 7%. El valor de la mediana del rango normal es 1,8 pmol/L (36 pg/mL), y el del rango de normalidad 0-30 pmol/L (600 pg/mL).

RANKL: su valoración se realizó mediante un enzimoimmunoensayo diseñado para determinar el RANKL en suero, plasma o sobrenadante de cultivos

celulares (ampli-sRANKL human, BIOMEDICA-GRUPPE, Wien, Austria). Está basado en la utilización de anticuerpos con afinidad específica para la molécula de RANKL con un sistema adicional de amplificación, dado que sus niveles suelen encontrarse bastante bajos en las muestras. La precisión intraensayo fue 8% e interensayo 6%. El valor de la mediana del rango normal es 0,46 pmol/L (9,2 pg/mL) para hombres y 0,37 pmol/L (7,4 pg/mL) para mujeres.

3.4.5 Determinación del sTNF-RI.

Para la determinación del sTNF-RI se empleó el kit Quantikine Human sTNF RI Immunoassay, suministrado por R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN, EEUU). Esta prueba consiste en una técnica de ELISA diseñada para la detección del sTNF-RI en suero, plasma, orina y sobrenadante de cultivos celulares, que emplea anticuerpos con afinidad específica para el sTNF-RI. La precisión intraensayo (CV%) es inferior a 5% y la de interensayo (CV%) inferior a 8,8%. La media de los valores de sTNF-RI obtenidos en muestras de suero procedente de sujetos aparentemente sanos fue de 1198 pg/mL, con un rango de 749-1966 pg/mL.

3.5 MEDICIÓN DE LA MASA ÓSEA.

La DMO se evaluó mediante absorciometría dual por rayos X (DXA), empleando para ello el equipo modelo Hologic QDR4500 (Hologic, Inc., Bedford, MA, EEUU). Este densitómetro utiliza radiografías digitales cuantitativas para medir de forma exacta y rápida el contenido mineral óseo (CMO) en gramos y la DMO en gr/cm^2 . En nuestro caso hicimos mediciones en la columna lumbar (vértebras L1-L4) y cuello de fémur. La precisión de la medida fue superior al 1% (CV=1,0% con DMO=1,0 gr/cm^2) y la resolución espacial de 1,5 mm.

El densitómetro se calibra a diario con una fantoma normalizado (Hologic X-Caliber, Hologic, Inc., Bedford, MA, EEUU).

3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El tratamiento estadístico se realizó mediante el programa STATA versión 10.0 (StataCorp LP College Station, TX, EEUU). Para la descripción de las variables categóricas se calcularon porcentajes, y para la de las variables continuas, se calcularon las medias \pm desviación estándar. Para la comparación de porcentajes se utilizó el test de la Chi cuadrado y para la comparación de medias se utilizó la t-student o el test de Welch, dependiendo de la existencia o no de homocedasticidad. Para ver la correlación entre dos variables cuantitativas se obtuvo el coeficiente de correlación de Spearman. Para ver el efecto del tratamiento con adalimumab en los diferentes tiempos de estudio (MRO, marcadores de osteoclastogénesis y STNF-RI), se empleó el análisis de la varianza. En el caso de la DMO, al sólo existir dos mediciones en el tiempo, se utilizó una comparación de medias.

4 RESULTADOS

4.1 DESCRIPCIÓN DEL GRUPO DE ESTUDIO

Las características basales referentes a la población de estudio se muestran en las tablas y gráficos que se ofrecen a continuación:

Tabla 4.1.1. Edad en años.

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|-----------|----|-------|------|--------|--------|
| Casos | 20 | 34,1 | 9,8 | 20 | 55 |
| Controles | 44 | 34,5 | 10,9 | 18 | 65 |
| Total | 64 | 34,4 | 10,5 | 18 | 65 |

Gráfico 4.1.1. Distribución de la población por sexos. A: total; B: por casos y controles.

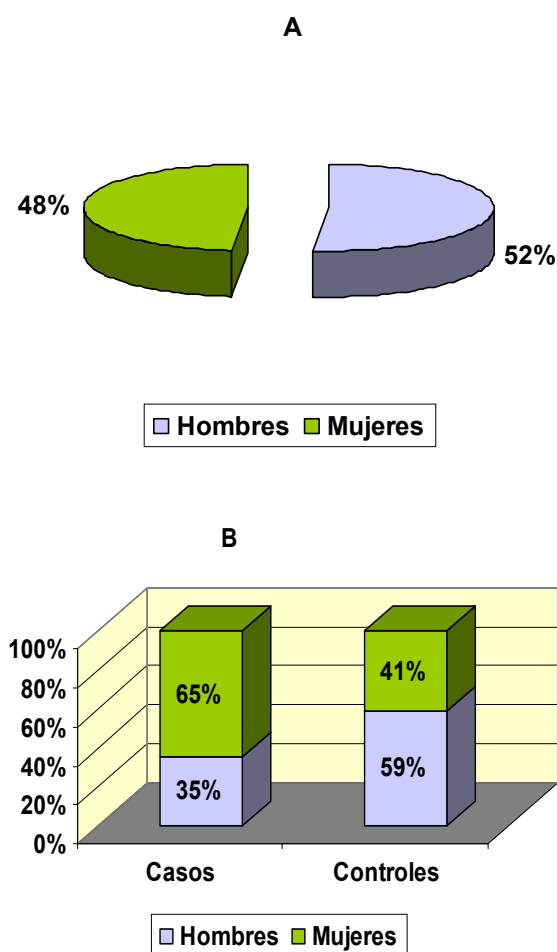


Tabla 4.1.2. IMC en kg/m² al comienzo del estudio.

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|-----------|----|-------|------|--------|--------|
| Casos | 20 | 21,9 | 2,8 | 18,8 | 30,1 |
| Controles | 44 | 23,9 | 4,4 | 16,4 | 34,9 |
| Total | 64 | 23,3 | 4,0 | 16,4 | 34,9 |

Gráfico 4.1.2. Hábito tabáquico. A: total; B: por casos y controles.

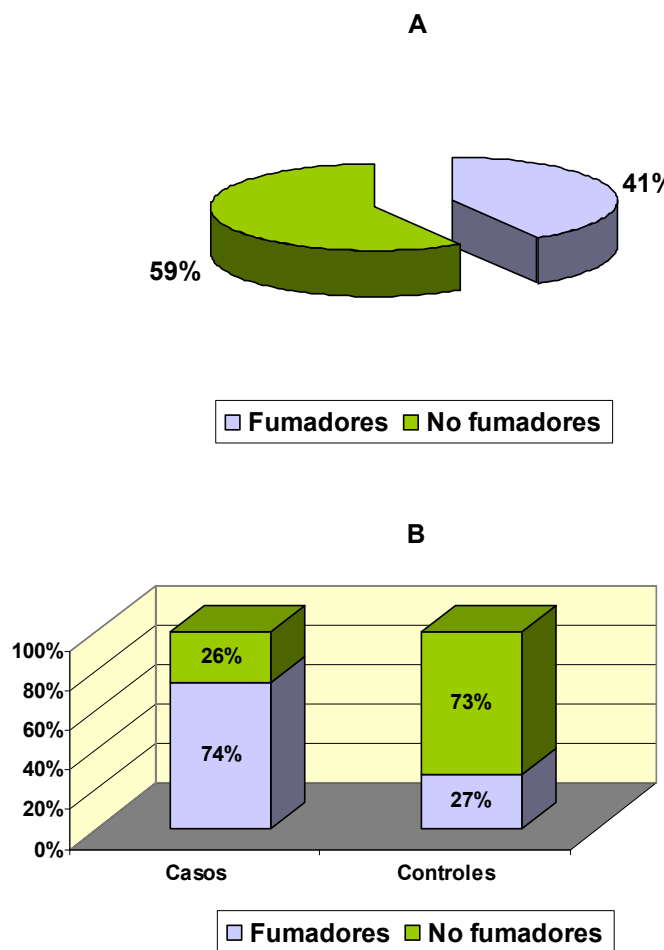


Tabla 4.1.3. Consumo de tabaco en paquetes / año.

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|--------------|----------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| Casos | 20 | 7,8 | 8,1 | 0 | 24,1 |
| Controles | 44 | 3,4 | 6,5 | 0 | 22 |
| <i>Total</i> | 64 | 4,7 | 7,2 | 0 | 24 |

Gráfico 4.1.3. Forma de la enfermedad. A: total; B: por casos y controles.

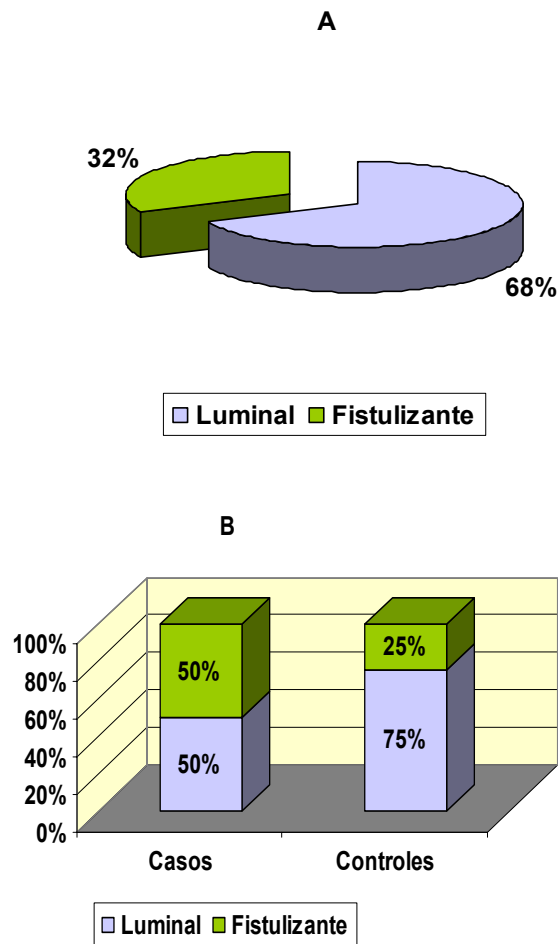


Tabla 4.1.4. Tiempo de evolución (años).

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|-----------|----|-------|------|--------|--------|
| Casos | 20 | 8,9 | 6,4 | 0,6 | 24 |
| Controles | 44 | 6,0 | 6,6 | 0,3 | 26 |
| Total | 64 | 6,9 | 6,6 | 0,3 | 26 |

Gráfico 4.1.4. Tiempo de evolución. A: total; B: por casos y controles.

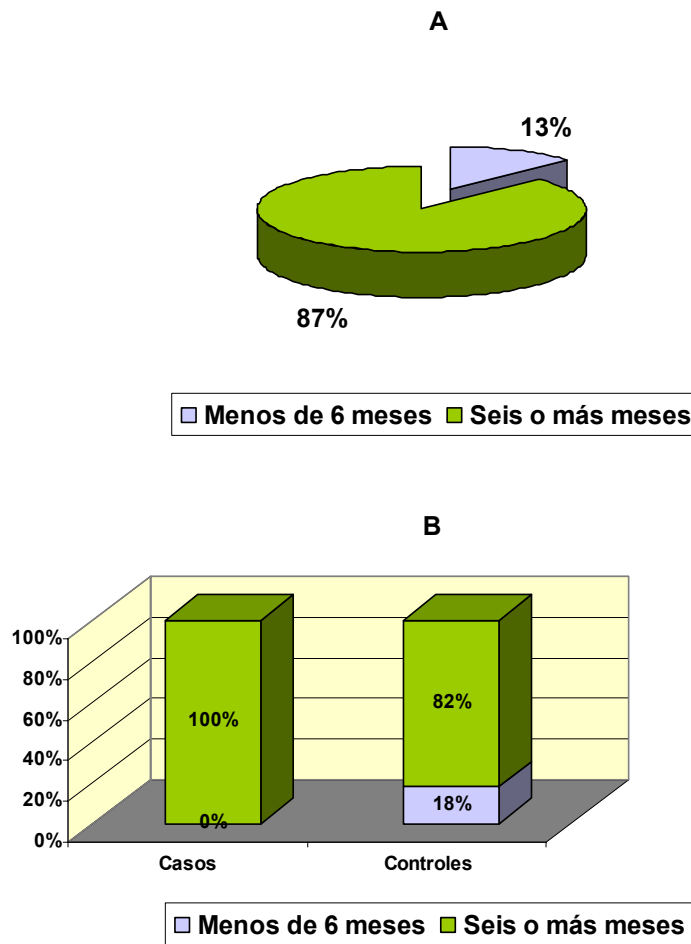


Gráfico 4.1.5. Tratamientos recibidos por los pacientes.

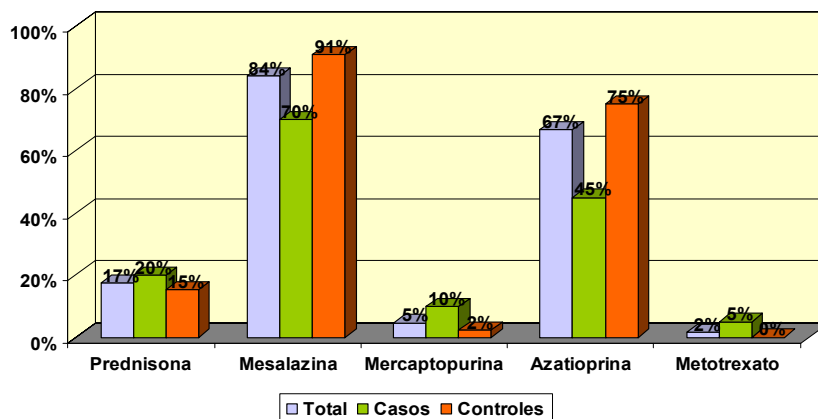


Tabla 4.1.5. Dosis acumulada de prednisona (en gramos) a lo largo del estudio.

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|--------------|----|-------|-------|--------|--------|
| Casos | 20 | 252,5 | 636,6 | 0,0 | 2520,0 |
| Controles | 44 | 75,2 | 406,8 | 0,0 | 2550,0 |
| <i>Total</i> | 64 | 134,3 | 497,0 | 0,0 | 2550,0 |

Gráfico 4.1.6. Tratamiento previo con infliximab en casos (más de 2 años antes del inicio del tratamiento con adalimumab).

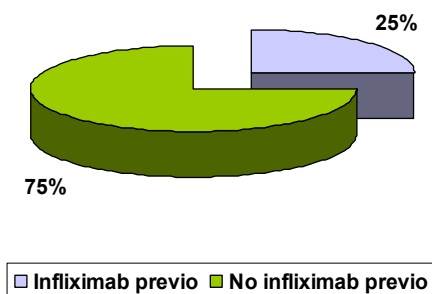
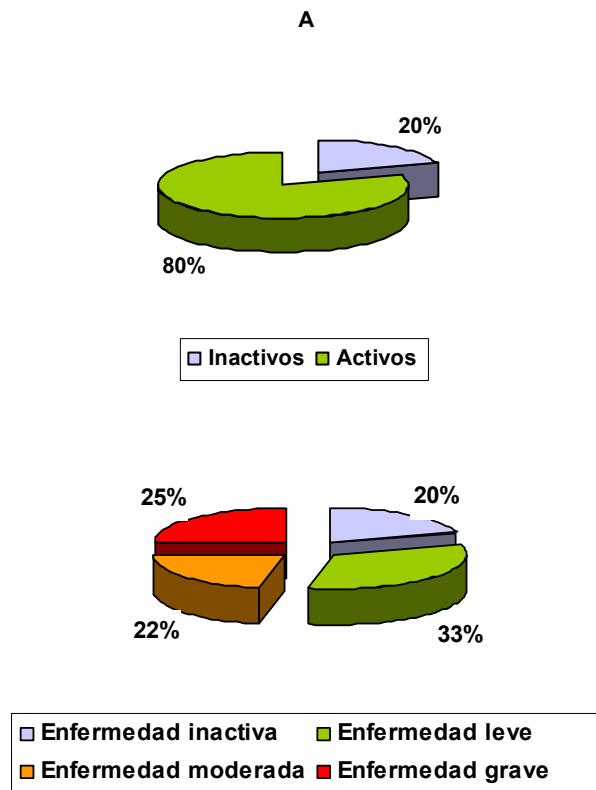


Tabla 4.1.6. Puntuación CDAI al comienzo del estudio (p=0,000).

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|--------------|----------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| Casos | 20 | 367,85 | 121,22 | 210,50 | 649,60 |
| Controles | 44 | 215,41 | 89,26 | 93,61 | 408,84 |
| <i>Total</i> | 64 | 263,05 | 122,23 | 93,61 | 649,60 |

Gráfico 4.1.6. Índice de actividad de la enfermedad (CDAI) al comienzo del estudio. A: total; B: por casos y controles.



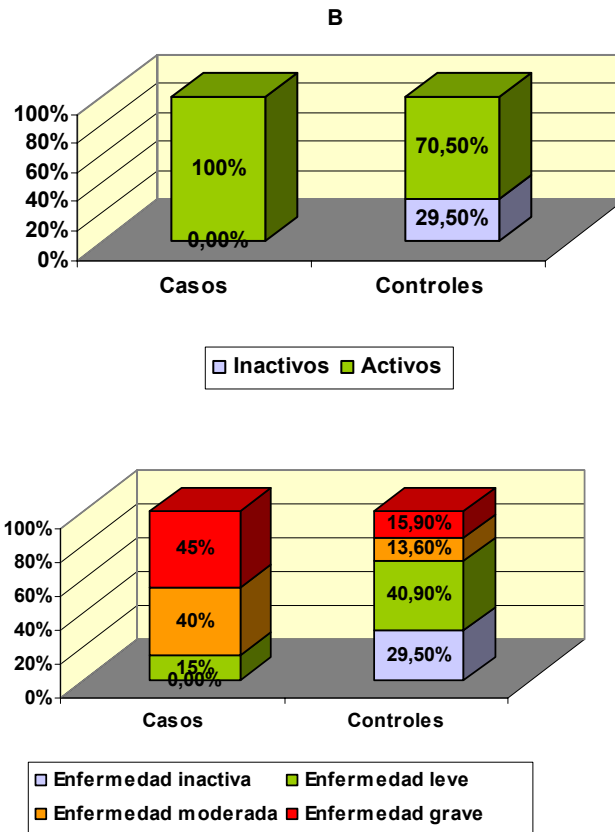


Tabla 4.1.7. Valor de la PCR (mg/dL) al comienzo del estudio (p=0,004).

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|--------------|----------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| Casos | 20 | 2,69 | 3,03 | 0,09 | 11,96 |
| Controles | 44 | 0,99 | 1,55 | 0,02 | 6,42 |
| <i>Total</i> | 64 | 1,52 | 2,24 | 0,02 | 11,96 |

Gráfico 4.1.7. Elevación de la PCR al comienzo del estudio.

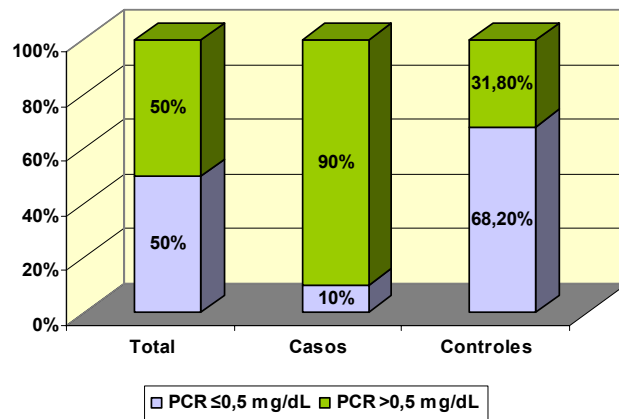


Tabla 4.1.8. Valor de la 25OHD₃ (ng/mL) al comienzo del estudio (p=NS).

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|--------------|----|-------|------|--------|--------|
| Casos | 20 | 19,7 | 9,5 | 5,0 | 44,4 |
| Controles | 44 | 18,4 | 9,9 | 4,0 | 54,7 |
| <i>Total</i> | 64 | 18,8 | 9,8 | 4,0 | 54,7 |

Gráfico 4.1.8. Hipovitaminosis D al comienzo del estudio.

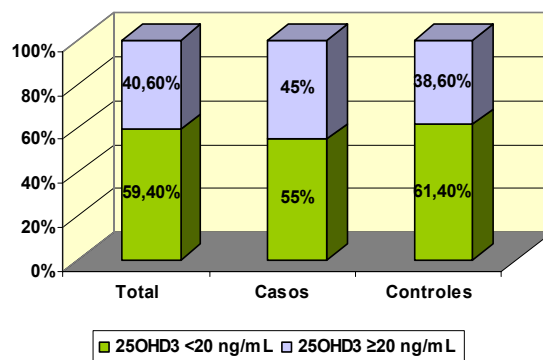


Tabla 4.1.9. Valor de la PTHi (pg/mL) al comienzo del estudio (p=NS).

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|--------------|----------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| Casos | 20 | 68,9 | 49,8 | 35,1 | 263,7 |
| Controles | 44 | 48,8 | 20,3 | 24,3 | 106,7 |
| <i>Total</i> | 64 | 55,3 | 33,8 | 24,3 | 263,7 |

Tabla 4.1.10. Valor de la bALP ($\mu\text{g/L}$) al comienzo del estudio (p=NS).

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|--------------|----------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| Casos | 20 | 12,7 | 4,1 | 3,2 | 20,2 |
| Controles | 44 | 15,5 | 7,3 | 5,7 | 42,1 |
| <i>Total</i> | 64 | 14,6 | 6,6 | 3,2 | 42,1 |

Tabla 4.1.11. Valor de la OC (ng/L) al comienzo del estudio (p=NS).

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|--------------|----------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| Casos | 20 | 20,1 | 16,4 | 5,3 | 75,1 |
| Controles | 44 | 17,4 | 10,7 | 6,5 | 68,4 |
| <i>Total</i> | 64 | 18,2 | 12,7 | 5,3 | 75,1 |

Tabla 4.1.12. Valor de la TRAP (U/L) al comienzo del estudio (p=NS).

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|--------------|----------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| Casos | 20 | 2,28 | 0,74 | 1,19 | 3,77 |
| Controles | 44 | 2,03 | 0,78 | 0,82 | 3,95 |
| <i>Total</i> | 64 | 2,10 | 0,77 | 0,82 | 3,95 |

Tabla 4.1.13. Valor del CTX (ng/mL) al comienzo del estudio (p=NS).

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|--------------|----------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| Casos | 20 | 0,561 | 0,254 | 0,203 | 1,230 |
| Controles | 44 | 0,542 | 0,387 | 0,090 | 1,890 |
| <i>Total</i> | 64 | 0,548 | 0,349 | 0,090 | 1,890 |

Tabla 4.1.14. Valor de la OPG (pmol/L) al comienzo del estudio (p=0,032).

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|--------------|----------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| Casos | 20 | 4,40 | 1,80 | 1,64 | 9,77 |
| Controles | 44 | 3,40 | 0,87 | 1,80 | 5,47 |
| <i>Total</i> | 64 | 3,85 | 1,45 | 1,64 | 9,77 |

Tabla 4.1.15. Valor del RANKL (pmol/L) al comienzo del estudio (p=NS).

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo | Indetectable (%) |
|--------------|----------|--------------|-------------|---------------|---------------|-------------------------|
| Casos | 20 | 0,07 | 0,10 | 0,00 | 0,38 | 45 |
| Controles | 44 | 0,05 | 0,076 | 0,00 | 0,26 | 54,2 |
| <i>Total</i> | 64 | 0,06 | 0,09 | 0,00 | 0,38 | 50 |

Tabla 4.1.16. Valor del sTNF-RI (pg/mL) al comienzo del estudio (p=NS).

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|--------------|----------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| Casos | 20 | 242,01 | 102,48 | 131,29 | 538,33 |
| Controles | 24 | 296,28 | 77,62 | 131,57 | 476,97 |
| <i>Total</i> | 44 | 271,61 | 92,79 | 131,29 | 538,33 |

Tabla 4.1.17. Valor de la DMO en cuello de fémur (gr/cm²) al comienzo del estudio (p=0,017).

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|--------------|----------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| Casos | 20 | 0,715 | 0,109 | 0,440 | 0,915 |
| Controles | 44 | 0,814 | 0,213 | 0,551 | 1,970 |
| <i>Total</i> | 64 | 0,783 | 0,192 | 0,440 | 1,970 |

Tabla 4.1.18. Valor del T-score en cuello de fémur al comienzo del estudio (p=0,025).

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|--------------|----------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| Casos | 20 | -1,4 | 0,8 | -3,6 | 0,2 |
| Controles | 44 | -0,8 | 0,9 | -2,8 | 2,3 |
| <i>Total</i> | 64 | -1,0 | 0,9 | -3,6 | 2,3 |

Tabla 4.1.19. Valor del Z-score en cuello de fémur al comienzo del estudio (p=0,014).

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|--------------|----------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| Casos | 20 | -1,1 | 0,1 | -3,3 | 0,2 |
| Controles | 44 | -0,5 | 0,9 | -2,3 | 2,3 |
| <i>Total</i> | 64 | -0,7 | 0,9 | -3,3 | 2,3 |

Tabla 4.1.20. Valor de la DMO en columna lumbar (gr/cm²) al comienzo del estudio (p=NS).

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|--------------|----------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| Casos | 20 | 0,944 | 0,156 | 0,611 | 1,159 |
| Controles | 44 | 0,961 | 0,131 | 0,706 | 1,156 |
| <i>Total</i> | 64 | 0,946 | 0,132 | 0,496 | 1,200 |

Tabla 4.1.21. Valor del T-score en columna lumbar al comienzo del estudio (p=NS).

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|--------------|----------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| Casos | 20 | -1,2 | 1,5 | -5,4 | 1,0 |
| Controles | 44 | -1,0 | 1,1 | -3,6 | 1,4 |
| <i>Total</i> | 64 | -1,1 | 1,2 | -5,4 | 1,4 |

Tabla 4.1.22. Valor del Z-score en columna lumbar al comienzo del estudio (p=NS).

| | N | Media | D.E. | Mínimo | Máximo |
|--------------|----------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| Casos | 20 | -1,0 | 1,5 | -5,4 | 1,1 |
| Controles | 44 | -0,9 | 1,1 | -3,6 | 1,5 |
| <i>Total</i> | 64 | -0,9 | 1,2 | -5,4 | 1,5 |

Gráfico 4.1.9. Prevalencia de una DMO dentro del rango esperado para su edad y por debajo del rango esperado para su edad atendiendo al Z-score (ISCD). A: en cuello de fémur; B: en columna lumbar; C: en cuello de fémur o columna lumbar

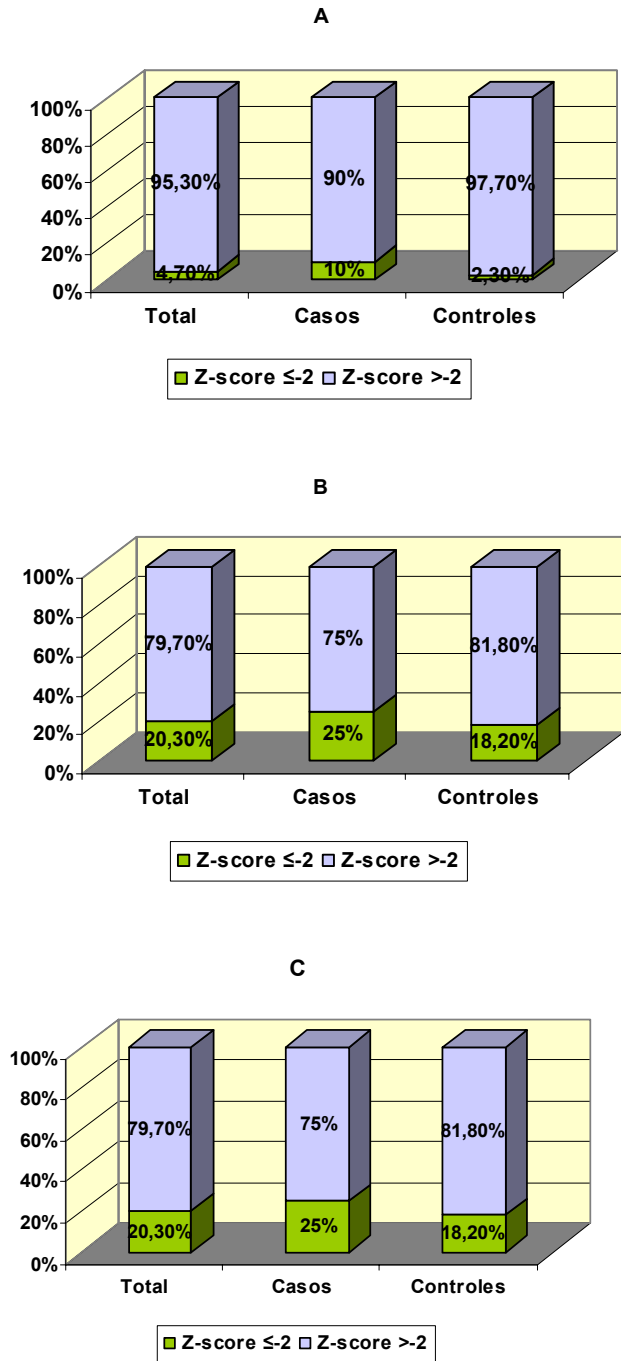


Gráfico 4.1.10. Prevalencia de la osteopenia y osteoporosis según el T-score. A: en cuello de fémur; B: en columna lumbar.

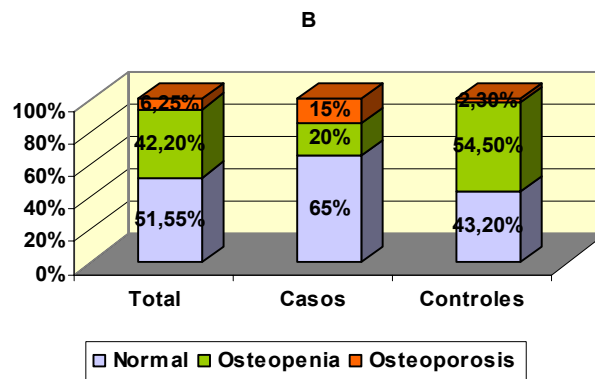
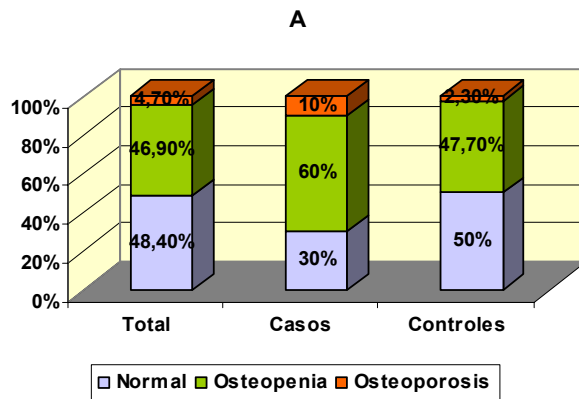


Tabla 4.1.23. Comparación de los niveles basales de MRO (expresados como media \pm desviación estándar) en función del tiempo de evolución.

| | Evolución <6 meses | Evolución \geq6 meses | p |
|---------------------------------|------------------------------|---|----------|
| Casos | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | | 13,4 \pm 4,8 | |
| <i>OC</i> (ng/L) | | 21,2 \pm 18,5 | |
| <i>TRAP</i> (U/L) | | 2,42 \pm 0,79 | |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | | 0,563 \pm 0,282 | |
| Controles | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 12,0 \pm 3,5 | 16,3 \pm 7,7 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 14,4 \pm 8,8 | 18,0 \pm 11,1 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 2,21 \pm 1,03 | 1,98 \pm 0,72 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,627 \pm 0,373 | 0,524 \pm 0,393 | NS |
| Total | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 12,0 \pm 3,5 | 14,9 \pm 6,8 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 14,4 \pm 8,8 | 18,8 \pm 13,1 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 2,21 \pm 1,03 | 2,10 \pm 0,74 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,627 \pm 0,373 | 0,537 \pm 0,348 | NS |

Tabla 4.1.24. Comparación de los niveles basales de MRO (expresados como media \pm desviación estándar) en función de la forma de la enfermedad.

| | Forma luminal | Forma fistulizante | p |
|---------------------------------|----------------------|---------------------------|----------|
| Casos | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 12,9 \pm 3,3 | 12,9 \pm 5,2 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 15,3 \pm 10,7 | 25,2 \pm 21,2 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 2,16 \pm 0,66 | 2,47 \pm 0,85 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,508 \pm 0,204 | 0,626 \pm 0,267 | NS |
| Controles | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 15,2 \pm 7,8 | 16,5 \pm 5,8 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 17,1 \pm 11,7 | 18,2 \pm 7,3 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 2,01 \pm 0,81 | 2,09 \pm 0,70 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,562 \pm 0,434 | 0,481 \pm 0,387 | NS |
| Total | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 14,6 \pm 7,0 | 14,6 \pm 5,6 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 16,7 \pm 11,4 | 21,4 \pm 14,8 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 2,04 \pm 0,77 | 2,23 \pm 0,76 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,549 \pm 0,391 | 0,544 \pm 0,250 | NS |

Tabla 4.1.25. Comparación de los niveles basales de MRO (expresados como media \pm desviación estándar) en función de la toma de prednisona.

| | No toma de prednisona | Toma de prednisona | p |
|---------------------------------|-----------------------|--------------------|-------|
| Casos | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 13,6 \pm 4,4 | 10,3 \pm 1,2 | 0,022 |
| <i>OC</i> (ng/L) | 23,5 \pm 17,4 | 7,05 \pm 1,7 | 0,003 |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 2,36 \pm 0,78 | 2,11 \pm 0,65 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,554 \pm 0,219 | 0,599 \pm 0,428 | NS |
| Controles | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 15,9 \pm 7,1 | 13,4 \pm 8,5 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 18,5 \pm 11,3 | 11,5 \pm 2,9 | 0,003 |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 1,99 \pm 0,76 | 2,23 \pm 0,90 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,506 \pm 0,369 | 0,730 \pm 0,458 | NS |
| Total | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 15,1 \pm 6,5 | 12,3 \pm 6,8 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 19,9 \pm 13,2 | 9,9 \pm 3,3 | 0,054 |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 2,09 \pm 0,77 | 2,18 \pm 0,79 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,520 \pm 0,328 | 0,682 \pm 0,430 | NS |

Tabla 4.1.26. Comparación de los niveles basales de MRO (expresados como media \pm desviación estándar) en función del IMC.

| | IMC <20 kg/m² | IMC \geq20 kg/m² | p |
|---------------------------------|------------------------------------|---|----------|
| Casos | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 12,5 \pm 3,0 | 12,8 \pm 4,4 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 21,3 \pm 15,9 | 19,8 \pm 17,0 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 1,61 \pm 0,42 | 2,44 \pm 0,71 | 0,016 |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,515 \pm 0,320 | 0,572 \pm 0,246 | NS |
| Controles | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 14,4 \pm 10,6 | 15,8 \pm 6,3 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 22,2 \pm 18,5 | 16,1 \pm 7,5 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 1,89 \pm 0,89 | 2,06 \pm 0,76 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,808 \pm 0,452 | 0,474 \pm 0,343 | NS |
| Total | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 13,8 \pm 8,9 | 14,8 \pm 5,9 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 21,9 \pm 17,1 | 17,3 \pm 11,3 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 1,80 \pm 0,77 | 2,20 \pm 0,76 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,718 \pm 0,426 | 0,504 \pm 0,317 | NS |

Tabla 4.1.27. Comparación de los niveles basales de MRO (expresados como media \pm desviación estándar) en función del hábito tabáquico.

| | Fumadores | No fumadores | p |
|---------------------------------|-------------------|---------------------|----------|
| Casos | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 12,7 \pm 3,9 | 12,9 \pm 4,9 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 16,2 \pm 9,1 | 29,3 \pm 25,7 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 2,25 \pm 0,74 | 2,34 \pm 0,80 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,546 \pm 0,272 | 0,595 \pm 0,228 | NS |
| Controles | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 14,3 \pm 6,9 | 15,9 \pm 7,5 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 14,9 \pm 7,2 | 18,3 \pm 11,7 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 1,82 \pm 0,76 | 2,11 \pm 0,79 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,377 \pm 0,181 | 0,604 \pm 0,426 | NS |
| Total | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 13,4 \pm 5,5 | 15,5 \pm 7,2 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 15,6 \pm 8,1 | 20,0 \pm 14,9 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 2,05 \pm 0,77 | 2,14 \pm 0,78 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,468 \pm 0,245 | 0,603 \pm 0,399 | NS |

Tabla 4.1.28. Comparación de los niveles basales de MRO (expresados como media \pm desviación estándar) en función del nivel de PCR.

| | PCR \leq 0,5 mg/dL | PCR $>$ 0,5 mg/dL | P |
|--------------------------|----------------------|-------------------|-------|
| Casos | | | |
| <i>bALP</i> (μ g/L) | 11,8 \pm 3,4 | 12,8 \pm 4,2 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 17,7 \pm 6,8 | 20,4 \pm 17,2 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 1,69 \pm 0,40 | 2,34 \pm 0,75 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,468 \pm 0,084 | 0,571 \pm 0,266 | NS |
| Controles | | | |
| <i>bALP</i> (μ g/L) | 16,1 \pm 7,6 | 14,1 \pm 6,7 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 17,5 \pm 12,0 | 17,0 \pm 7,7 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 1,92 \pm 0,76 | 2,26 \pm 0,79 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,522 \pm 0,384 | 0,584 \pm 0,404 | NS |
| Total | | | |
| <i>bALP</i> (μ g/L) | 15,9 \pm 7,4 | 13,4 \pm 5,4 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 17,5 \pm 11,6 | 18,9 \pm 13,8 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 1,90 \pm 0,74 | 2,31 \pm 0,76 | 0,036 |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,519 \pm 0,372 | 0,577 \pm 0,327 | NS |

Tabla 4.1.29. Comparación de los niveles basales de MRO (expresados como media \pm desviación estándar) en función de la actividad de la enfermedad.

| | CDAI <150 | CDAI \geq150 | P |
|---------------------------------|---------------------|----------------------------------|----------|
| Casos | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | | 12,7 \pm 4,1 | |
| <i>OC</i> (ng/L) | | 20,1 \pm 16,4 | |
| <i>TRAP</i> (U/L) | | 2,28 \pm 0,74 | |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | | 0,561 \pm 0,254 | |
| Controles | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 13,7 \pm 4,5 | 16,3 \pm 8,1 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 17,7 \pm 6,4 | 17,2 \pm 12,2 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 1,39 \pm 0,44 | 2,30 \pm 0,74 | 0,000 |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,456 \pm 0,195 | 0,758 \pm 0,441 | NS |
| Total | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 13,6 \pm 4,5 | 14,9 \pm 7,0 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 17,7 \pm 6,4 | 18,3 \pm 13,9 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 1,39 \pm 0,44 | 2,29 \pm 0,73 | 0,000 |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,456 \pm 0,195 | 0,571 \pm 0,376 | NS |

Tabla 4.1.30. Comparación de los niveles basales de MRO (expresados como media \pm desviación estándar) en función de los niveles de 25OHD₃.

| | 25OHD ₃ <20 ng/mL | 25OHD ₃ \geq 20 ng/mL | p |
|--------------------------|------------------------------|------------------------------------|-------|
| Casos | | | |
| <i>bALP</i> (μ g/L) | 12,1 \pm 4,5 | 13,5 \pm 3,6 | 0,455 |
| <i>OC</i> (ng/L) | 15,7 \pm 10,0 | 25,5 \pm 21,3 | 0,188 |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 1,94 \pm 0,59 | 2,69 \pm 0,72 | 0,018 |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,518 \pm 0,289 | 0,613 \pm 0,209 | 0,419 |
| Controles | | | |
| <i>bALP</i> (μ g/L) | 14,8 \pm 6,9 | 16,6 \pm 7,9 | 0,440 |
| <i>OC</i> (ng/L) | 15,5 \pm 7,5 | 20,3 \pm 10,7 | 0,154 |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 2,00 \pm 0,82 | 2,07 \pm 0,74 | 0,803 |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,469 \pm 0,355 | 0,658 \pm 0,417 | 0,132 |
| Total | | | |
| <i>bALP</i> (μ g/L) | 14,0 \pm 6,4 | 15,5 \pm 6,8 | 0,375 |
| <i>OC</i> (ng/L) | 15,6 \pm 8,2 | 22,1 \pm 16,7 | 0,074 |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 1,98 \pm 0,75 | 2,28 \pm 0,78 | 0,130 |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,483 \pm 0,334 | 0,643 \pm 0,355 | 0,072 |

Gráfico 4.1.11. Comparación del porcentaje de enfermos con un Z-score ≤ -2 en función del tiempo de evolución. A: en cuello de fémur; B: en columna lumbar.

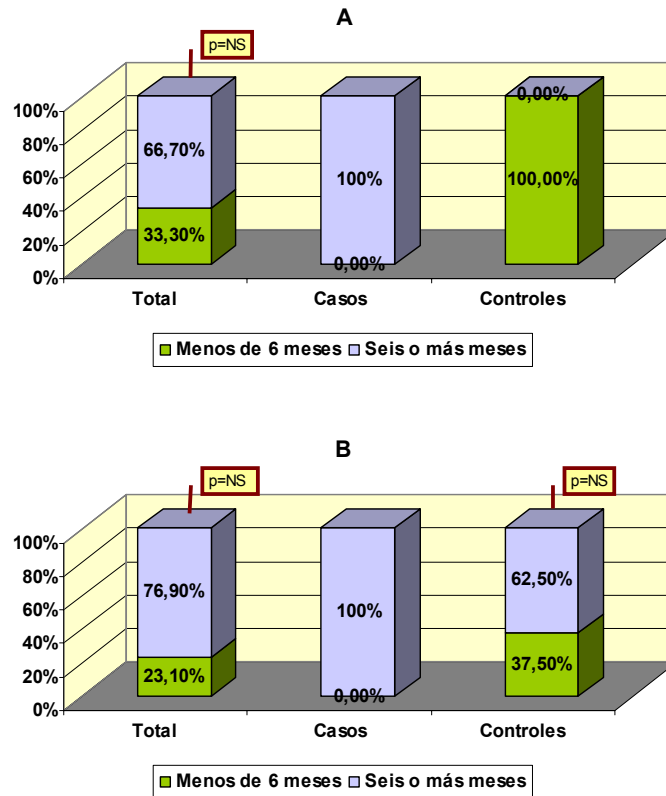
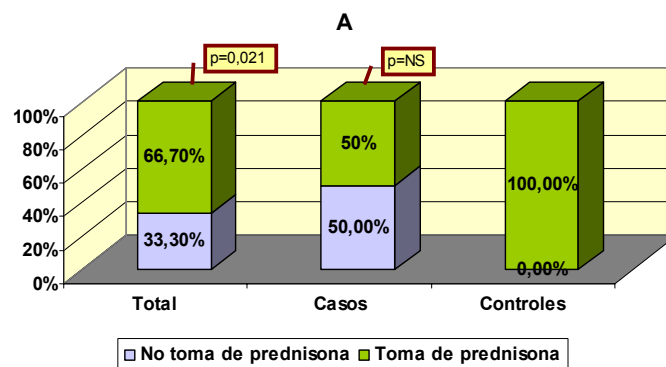


Gráfico 4.1.12. Comparación del porcentaje de enfermos con un Z-score ≤ -2 en función de la toma de prednisona. A: en cuello de fémur; B: en columna lumbar.



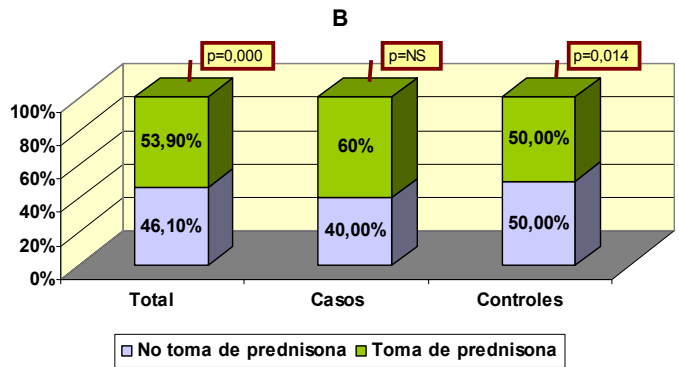


Gráfico 4.1.13. Comparación del porcentaje de enfermos con un Z-score ≤ -2 en función del IMC. A: en cuello de fémur; B: en columna lumbar.

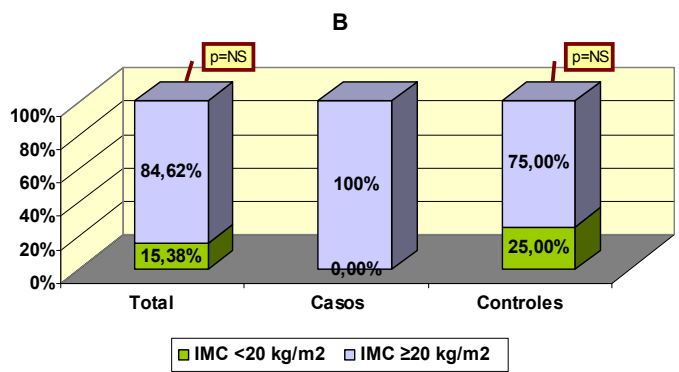
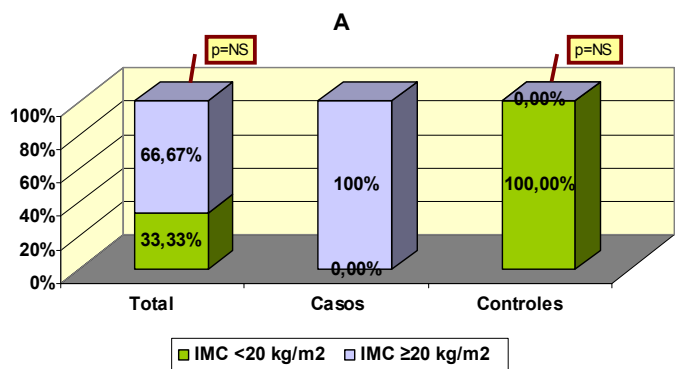


Gráfico 4.1.14. Comparación del porcentaje de enfermos con un Z-score ≤ -2 en función del hábito tabáquico. A: en cuello de fémur; B: en columna lumbar.

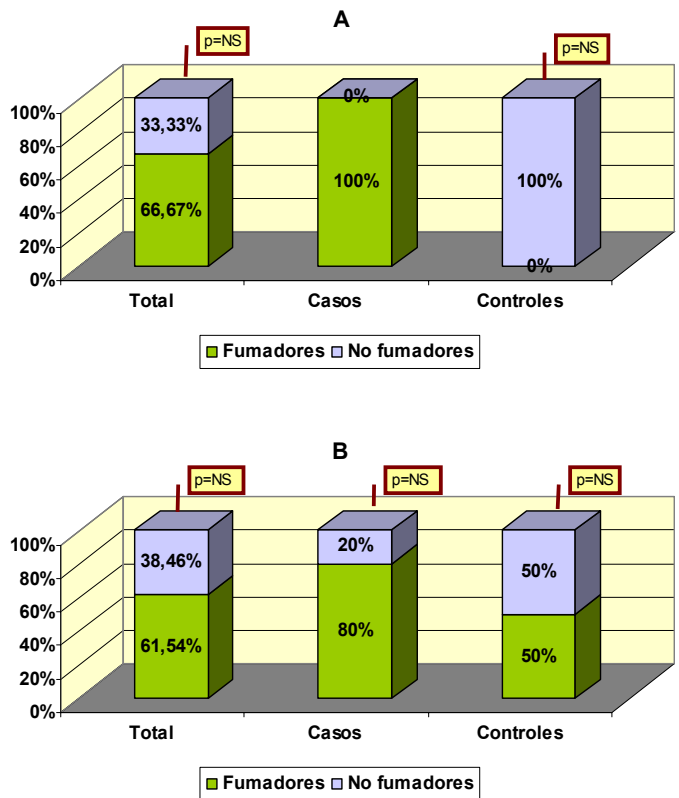
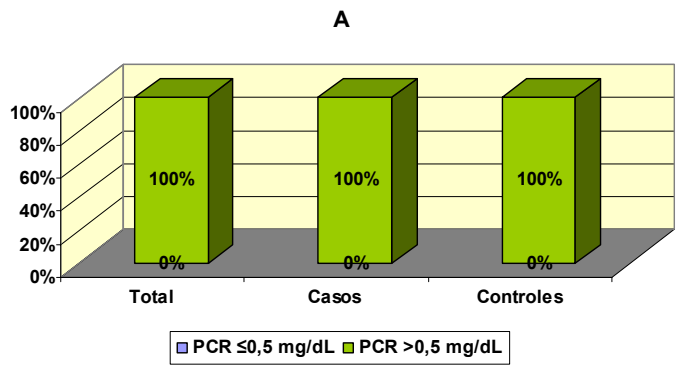


Gráfico 4.1.15. Comparación del porcentaje de enfermos con un Z-score ≤ -2 en función del nivel de PCR. A: en cuello de fémur; B: en columna lumbar.



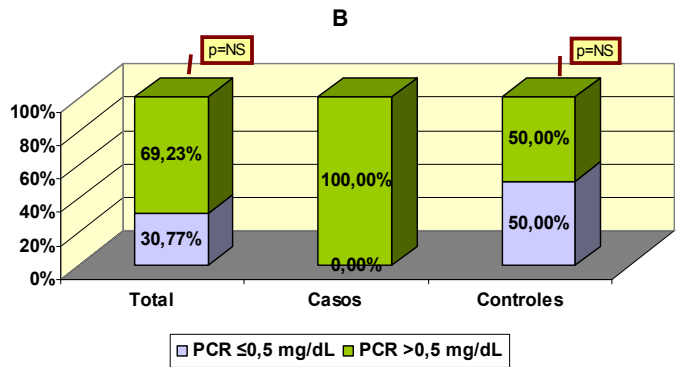


Gráfico 4.1.16. Comparación del porcentaje de enfermos con un Z-score ≤ -2 en función de la actividad de la enfermedad. A: en cuello de fémur; B: en columna lumbar.

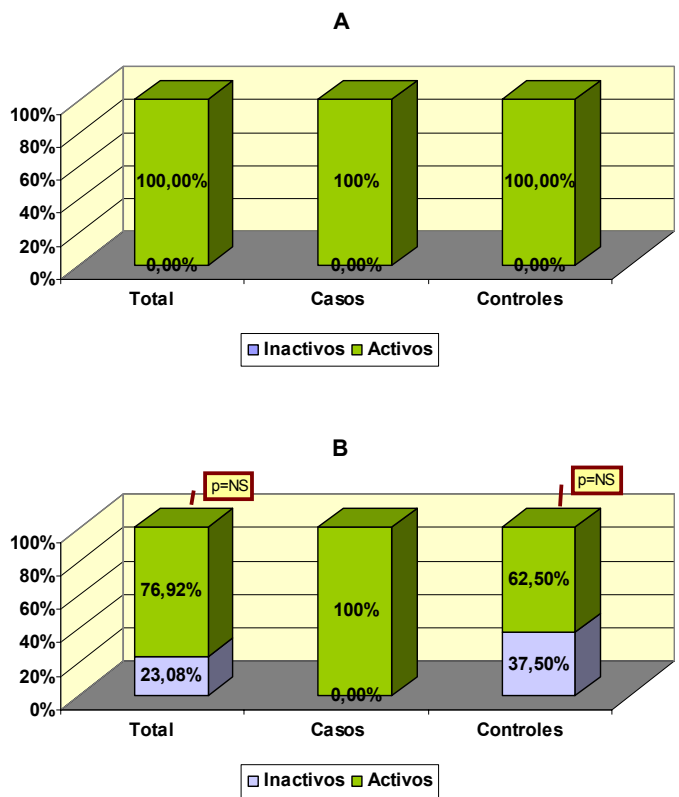


Gráfico 4.1.17. Comparación del porcentaje de enfermos con un Z-score ≤ -2 en función de los niveles de 25OHD₃. A: en cuello de fémur; B: en columna lumbar.

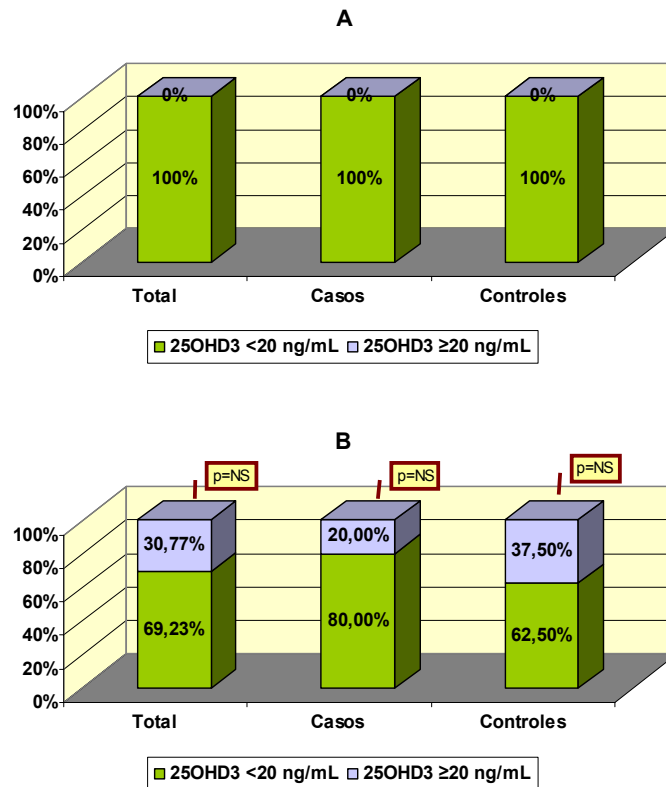


Tabla 4.1.31. Comparación de los niveles basales de MRO (expresados como media \pm desviación estándar) en función del Z-score en cabeza de fémur.

| | Z-score \leq-2 | Z-score $>$-2 | p |
|---------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|----------|
| Casos | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 6,5 \pm 4,7 | 13,4 \pm 3,4 | 0,019 |
| <i>OC</i> (ng/L) | 24,3 \pm 22,9 | 19,6 \pm 16,3 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 2,87 \pm 0,33 | 2,21 \pm 0,75 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,522 \pm 0,141 | 0,565 \pm 0,266 | NS |
| Controles | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 8,7 (un solo caso) | 15,6 \pm 7,3 | |
| <i>OC</i> (ng/L) | 9,0 (un solo caso) | 17,6 \pm 10,8 | |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 2,06 (un solo caso) | 2,03 \pm 0,79 | |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,632 (un solo caso) | 0,540 \pm 0,391 | |
| Total | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 7,3 \pm 3,5 | 14,9 \pm 6,5 | 0,045 |
| <i>OC</i> (ng/L) | 19,2 \pm 18,5 | 18,2 \pm 12,5 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 2,60 \pm 0,52 | 2,08 \pm 0,78 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,559 \pm 0,118 | 0,547 \pm 0,357 | NS |

Tabla 4.1.32. Comparación de los niveles basales de MRO (expresados como media \pm desviación estándar) en función del Z-score en columna lumbar.

| | Z-score ≤ -2 | Z-score > -2 | p |
|---------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|----------|
| Casos | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 10,4 \pm 6,0 | 13,5 \pm 3,2 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 15,4 \pm 14,4 | 21,7 \pm 17,1 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 2,44 \pm 0,48 | 2,22 \pm 0,82 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,659 \pm 0,329 | 0,528 \pm 0,228 | NS |
| Controles | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 16,0 \pm 7,1 | 15,4 \pm 7,4 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 19,5 \pm 9,5 | 16,9 \pm 11,0 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 1,99 \pm 0,74 | 2,04 \pm 0,80 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,506 \pm 0,144 | 0,550 \pm 0,424 | NS |
| Total | | | |
| <i>bALP</i> ($\mu\text{g/L}$) | 13,8 \pm 7,0 | 14,8 \pm 6,5 | NS |
| <i>OC</i> (ng/L) | 17,9 \pm 11,2 | 18,3 \pm 13,1 | NS |
| <i>TRAP</i> (U/L) | 2,17 \pm 0,67 | 2,09 \pm 0,80 | NS |
| <i>CTX</i> (ng/mL) | 0,565 \pm 0,233 | 0,543 \pm 0,375 | NS |

Tabla 4.1.33. Comparación de los niveles basales de OPG, RANKL y sTNF-RI (expresados como media \pm desviación estándar) en función del Z-score en cabeza de fémur.

| | Z-score \leq-2 | Z-score $>$-2 | p |
|------------------------|------------------------------------|------------------------------------|----------|
| Casos | | | |
| <i>OPG (pmol/L)</i> | 2,10 \pm 0,66 | 4,65 \pm 1,71 | 0,056 |
| <i>RANKL (pmol/L)</i> | 0,02 \pm 0,03 | 0,08 \pm 0,11 | NS |
| <i>sTNF-RI (pg/mL)</i> | 202,28 \pm 2,19 | 246,42 \pm 107,39 | NS |
| Controles | | | |
| <i>OPG (pmol/L)</i> | 3,68 (un solo caso) | 3,39 \pm 0,89 | |
| <i>RANKL (pmol/L)</i> | 0,00 (un solo caso) | 0,05 \pm 0,08 | |
| <i>sTNF-RI (pg/mL)</i> | 398,97 (un solo caso) | 291,82 \pm 76,15 | |
| Total | | | |
| <i>OPG (pmol/L)</i> | 2,63 \pm 1,02 | 3,94 \pm 1,44 | NS |
| <i>RANKL (pmol/L)</i> | 0,01 \pm 0,02 | 0,07 \pm 0,09 | NS |
| <i>sTNF-RI (pg/mL)</i> | 267,84 \pm 92,79 | 267,84 \pm 113,57 | NS |

Tabla 4.1.34. Comparación de los niveles basales de OPG, RANKL y sTNF-RI (expresados como media \pm desviación estándar) en función del Z-score en columna lumbar.

| | Z-score \leq-2 | Z-score $>$-2 | p |
|------------------------|------------------------------------|------------------------------------|----------|
| Casos | | | |
| <i>OPG (pmol/L)</i> | 3,46 \pm 1,45 | 4,71 \pm 1,83 | NS |
| <i>RANKL (pmol/L)</i> | 0,02 \pm 0,02 | 0,09 \pm 0,11 | NS |
| <i>sTNF-RI (pg/mL)</i> | 241,67 \pm 51,16 | 242,12 \pm 116,21 | NS |
| Controles | | | |
| <i>OPG (pmol/L)</i> | 3,63 \pm 0,22 | 3,36 \pm 0,95 | NS |
| <i>RANKL (pmol/L)</i> | 0,00 \pm 0,00 | 0,06 \pm 0,08 | NS |
| <i>sTNF-RI (pg/mL)</i> | 330,33 \pm 84,87 | 289,47 \pm 76,57 | NS |
| Total | | | |
| <i>OPG (pmol/L)</i> | 3,53 \pm 1,06 | 3,93 \pm 1,53 | NS |
| <i>RANKL (pmol/L)</i> | 0,01 \pm 0,02 | 0,08 \pm 0,1 | 0,045 |
| <i>sTNF-RI (pg/mL)</i> | 281,077 \pm 78,70 | 269,18 \pm 96,97 | NS |

4.2 REPUESTA CLÍNICA Y BIOLÓGICA AL TRATAMIENTO CON ADALIMUMAB.

En la figura 4.2.1 se muestra la evolución en el tiempo de la puntuación en la escala CDAI (A) y los niveles de PCR (B) de los pacientes tratados con adalimumab. La respuesta clínica y biológica de los mismos tras las 24 semanas del estudio se presenta en la tabla 4.2.1. Una respuesta clínica completa se ha definido como una puntuación en la escala CDAI inferior a 150 puntos a las 24 semanas de tratamiento, mientras que una respuesta clínica parcial se ha definido como un descenso superior a 100 puntos con respecto a la puntuación inicial. Una respuesta biológica completa se ha definido como la

normalización de los niveles de PCR (<0,5mg/mL) a las 24 semanas de tratamiento, y una respuesta parcial un descenso superior al 25% con respecto al valor inicial.

Figura 4.2.1. Evolución en el tiempo de la puntuación en la escala CDAI (A) y los niveles de PCR (B) de los pacientes tratados con adalimumab.

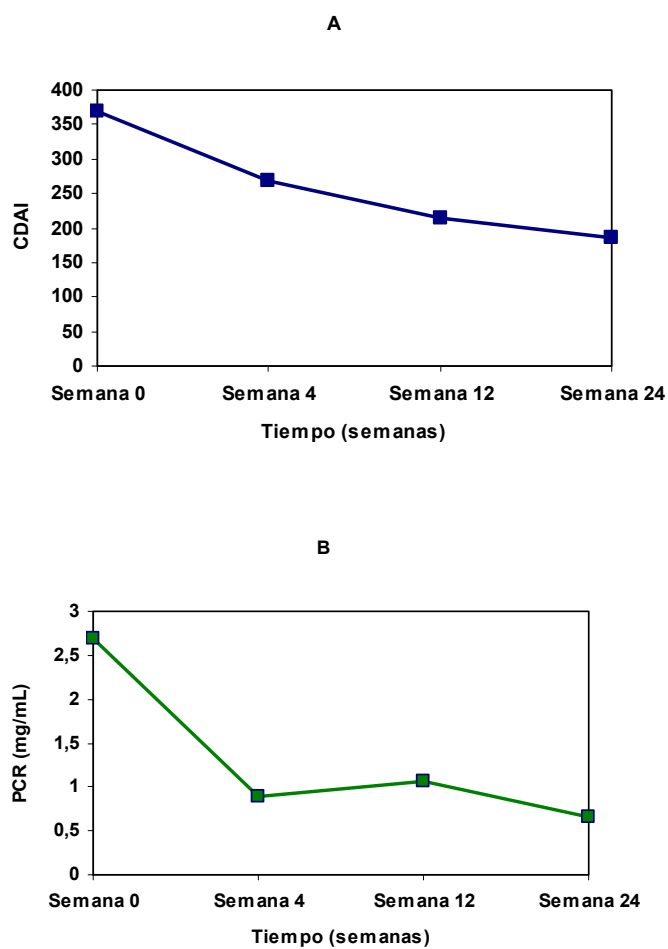


Tabla 4.2.1. Porcentaje de pacientes con respuesta clínica y biológica tras 24 semanas de tratamiento con adalimumab.

| | Respuesta clínica | Respuesta biológica |
|----------|--------------------------|----------------------------|
| Parcial | 60% | 55% |
| Completa | 30% | 60% |

4.3 CAMBIOS EN LOS MARCADORES DE RECAMBIO ÓSEO.

Los cambios en los MRO en los casos y controles se exponen en las figuras 4.3.1., 4.3.2., 4.3.3. y 4.3.4. Los niveles de bALP y OC presentaron un aumento no significativo en los pacientes tratados con adalimumab, presentando éstos unos niveles superiores a los de los controles a partir de la 4ª semana. En el caso de la OC, esta diferencia fue estadísticamente significativa a las 24 semanas de tratamiento ($p=0,0066$). Los niveles de TRAP descendieron en los controles de forma paralela a los de los casos (aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas); los niveles de CTX, en cambio, apenas se modificaron en los pacientes con adalimumab, mientras que descendieron en los controles, en ningún caso de forma significativa. La diferencia de los niveles de CTX al final del periodo de estudio sí fue estadísticamente significativa ($p=0,0339$).

Figura 4.3.1. Evolución de los niveles de la bALP en los casos y en los controles a las 4, 12 y 24 semanas tras el inicio del tratamiento con adalimumab.

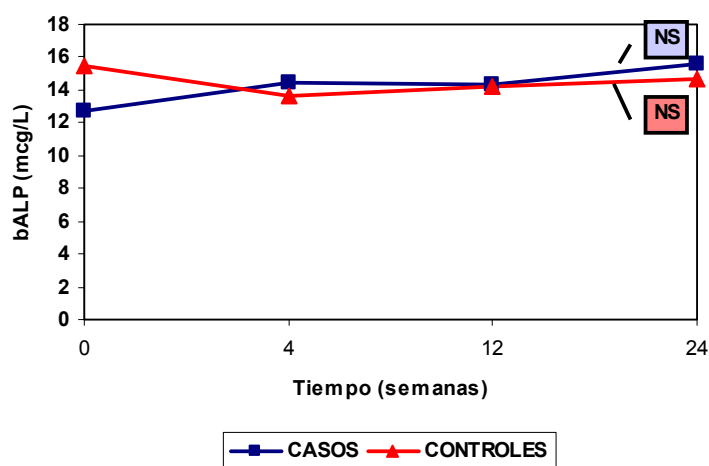


Figura 4.3.2. Evolución de los niveles de la OC en los casos y en los controles a las 4, 12 y 24 semanas tras el inicio del tratamiento con adalimumab.

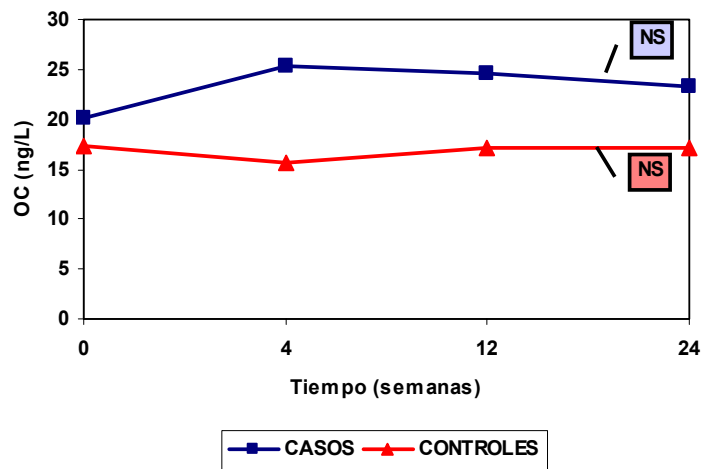


Figura 4.3.3. Evolución de los niveles de la TRAP en los casos y en los controles a las 4, 12 y 24 semanas tras el inicio del tratamiento con adalimumab.

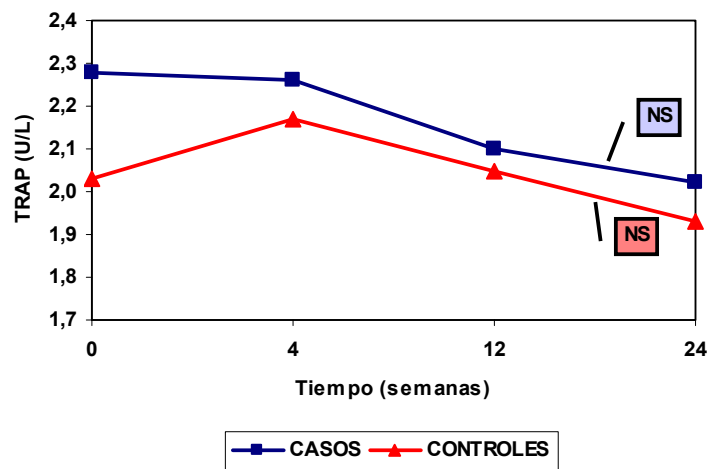
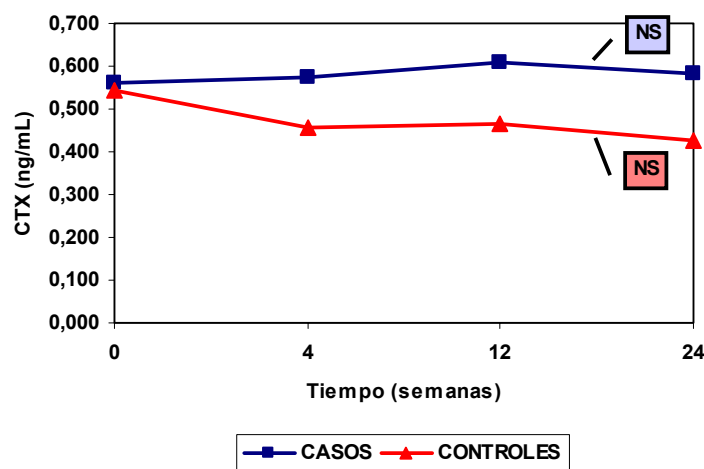


Figura 4.3.4. Evolución de los niveles de los CTX en los casos y en los controles a las 4, 12 y 24 semanas tras el inicio del tratamiento con adalimumab.



En las tablas 4.3.1 y 4.3.2 se refleja el porcentaje de enfermos en los que se produce un cambio relevante de los MRO (entendido como incremento de al menos un 30% en el caso de los marcadores de formación, y un descenso de al menos un 30% en el caso de los de resorción) a las 24 semanas de inicio del tratamiento con adalimumab. Solamente en un único sujeto (control) se produjo un cambio relevante simultáneo en marcadores de formación y de resorción.

Tabla 4.3.1. Cambios relevantes en los MRO (con respecto a la población total de casos y de controles, respectivamente).

| | bALP | OC | TRAP | CTX |
|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Casos | 33,3% (N=6) | 27,8% (N=5) | 5,6% (N=1) | 27,8% (N=5) |
| Controles | 4,4% (N=1) | 17,4% (N=4) | 21,7% (N=5) | 26,1% (N=6) |

Tabla 4.3.2. Cambios relevantes en los MRO (con respecto al total de la población en la que se produce un cambio relevante).

| | bALP | OC | TRAP | CTX |
|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Casos | 85,7% (N=6) | 55,6% (N=5) | 16,7% (N=1) | 45,5% (N=5) |
| Controles | 14,3% (N=1) | 44,4% (N=4) | 83,3% (N=5) | 54,5% (N=6) |

4.4 CAMBIOS EN LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA.

La evolución de la DMO a lo largo del estudio se muestra en las figuras 4.4.1., 4.4.2., 4.4.3. y 4.4.4. Los pacientes tratados con adalimumab presentaron una discreta mejoría (Z-score) o no empeoramiento (T-score) de la masa ósea a nivel del CF con respecto a los no tratados, mientras que a nivel de la CL no se encontraron diferencias en la evolución de la masa ósea entre ambos grupos. En ningún caso se alcanzó la significación estadística. Los cambios en la DMO expresados en términos porcentuales se presentan en la tabla 4.4.1.

Figura 4.4.1. Evolución de los valores del Z-score en el CF en los casos y en los controles tras 24 semanas de inicio del tratamiento con adalimumab.

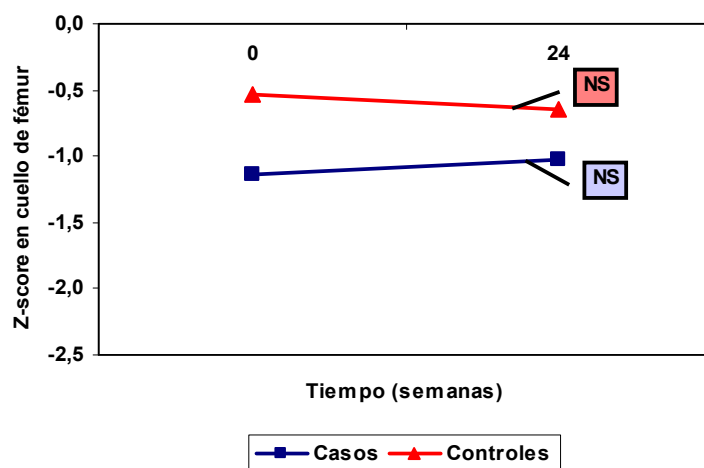


Figura 4.4.2. Evolución de los valores del Z-score en la CL en los casos y en los controles tras 24 semanas de inicio del tratamiento con adalimumab.

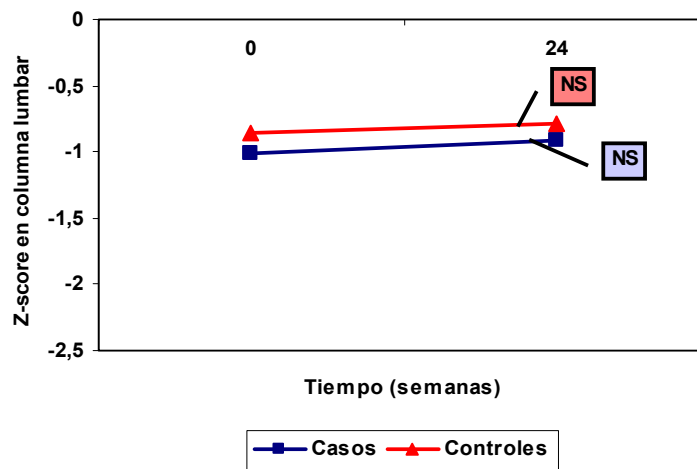


Figura 4.4.3. Evolución de los valores del T-score en el CF en los casos y en los controles tras 24 semanas de inicio del tratamiento con adalimumab.

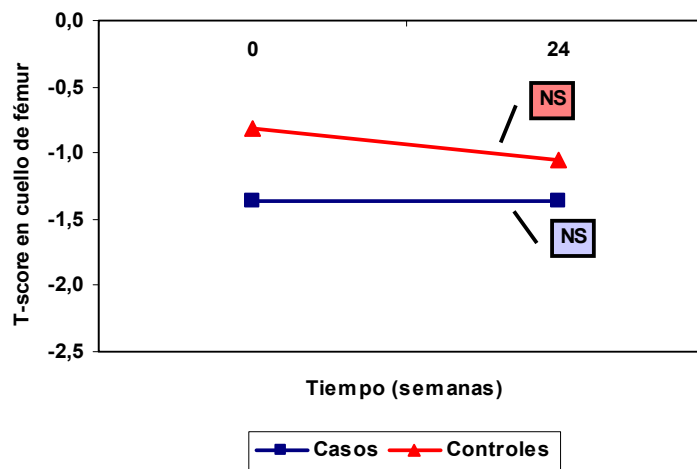


Figura 4.4.4. Evolución de los valores del T-score en la CL en los casos y en los controles tras 24 semanas de inicio del tratamiento con adalimumab.

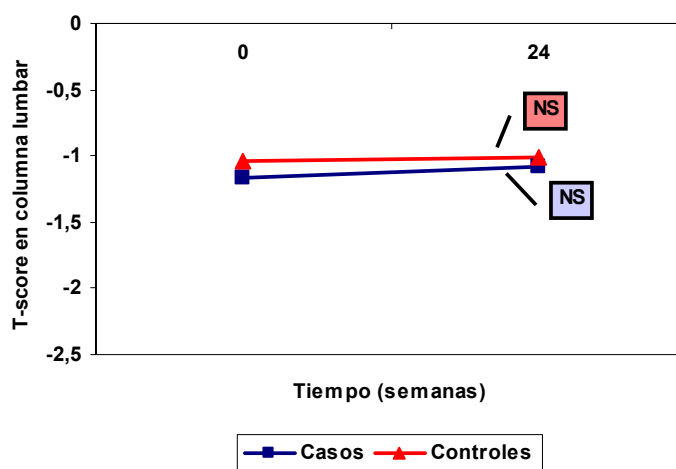


Tabla 4.4.1. Cambios porcentuales en la DMO tras 24 semanas de tratamiento con adalimumab.

| | Z-score en CF | Z-score en CL | T-score en CF | T-score en CL |
|-----------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Casos | 0,68%±0,91% | 0,89%±1,44% | 0,71%±0,48% | 0,85%±1,12% |
| Controles | 0,50%±1,00% | 0,78%±1,74% | 0,48%±0,61% | 0,79%±1,36% |

4.5 CAMBIOS EN LOS MARCADORES DE OSTEOCLASTOGÉNESIS Y EL sTNF-RI.

La evolución de los niveles de OPG, RANKL y sTNF-RI se presentan en las tablas 4.5.1., 4.5.2. y 4.5.3. Durante el estudio, se produjo un descenso no significativo de los niveles de OPG en los pacientes que recibieron tratamiento con adalimumab, mientras que en los controles aquéllos se mantuvieron prácticamente estables. Los niveles de RANKL, en cambio, aumentaron en ambos grupos (de forma más marcada en los pacientes que recibieron adalimumab), pero de forma no estadísticamente significativa. Tampoco hubo diferencias significativas en la evolución de los niveles del sTNF-RI, ni en los casos (se produjo un descenso de los mismos) ni en los controles (los niveles a las 24 semanas fueron similares a los del comienzo). Al final del estudio, las

diferencias entre grupos sí eran estadísticamente significativas tanto para la OPG ($p=0,0001$) como para el STNF-RI ($p=0,0000$), pero no para el RANKL.

Figura 4.5.1. Evolución de los niveles de la OPG en los casos y en los controles a las 4, 12 y 24 semanas tras el inicio del tratamiento con adalimumab.

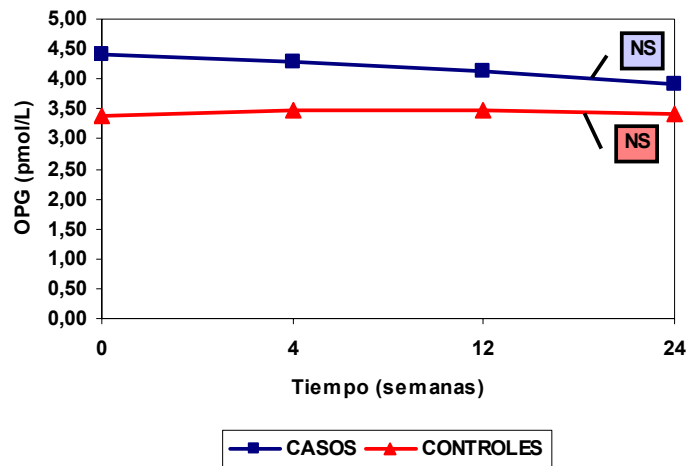


Figura 4.5.2. Evolución de los niveles del RANKL en los casos y en los controles a las 4, 12 y 24 semanas tras el inicio del tratamiento con adalimumab.

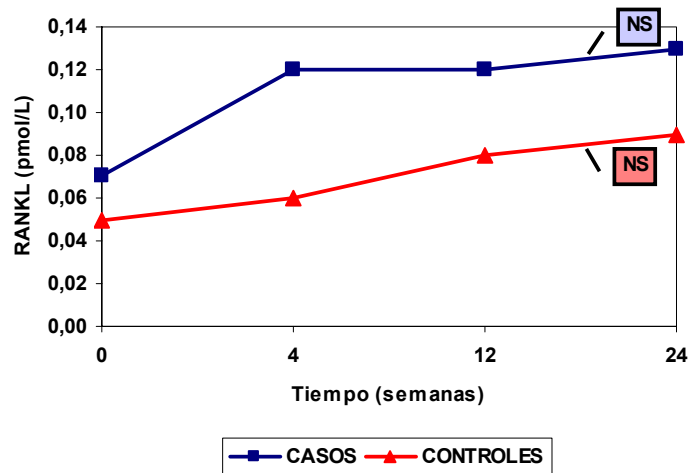
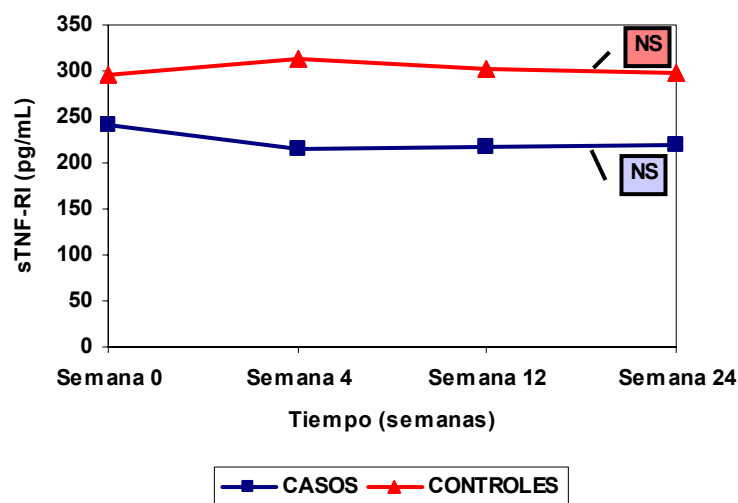


Figura 4.5.3. Evolución de los niveles del sTNF-RI en los casos y en los controles a las 4, 12 y 24 semanas tras el inicio del tratamiento con adalimumab.



Al valorar la relación entre la evolución en el tiempo de los marcadores de osteoclastogénesis y el sTNF-RI, y la de los niveles de PCR y la puntuación en la escala CDAI en los pacientes tratados con adalimumab, sólo encontramos una correlación estadísticamente significativa entre el sTNF-RI y la PCR (tabla 4.4.1).

Tabla 4.5.1. Relación (coeficiente de correlación de Spearman) entre los cambios en los marcadores de osteoclastogénesis y el sTNF-RI y en la puntuación de la escala CDAI y los niveles de PCR entre la semana 0 y la semana 24.

| | OPG | RANKL | sTNF-RI |
|------|------|-------|---------|
| CDAI | 0,30 | 0,13 | 0,39 |
| PCR | 0,44 | 0,25 | 0,59* |

*p=0,0094

Tabla 4.5.1. Relación (coeficiente de correlación de Spearman) entre los cambios en los marcadores de osteoclastogénesis y el sTNF-RI y en los niveles de los MRO entre la semana 0 y la semana 24.

| | OPG | RANKL | sTNF-RI |
|------|------------|--------------|----------------|
| bALP | -0,00 | 0,25 | -0,24 |
| OC | -0,08 | -0,52* | -0,15 |
| TRAP | -0,29 | 0,38 | 0,29 |
| CTX | -0,40 | 0,00 | 0,30 |

*p=0,05

4.6 RELACIÓN ENTRE LOS CAMBIOS EN LA MASA ÓSEA, MARCADORES DE REMODELADO ÓSEO, OPG, RANKL Y sTNF-RI.

No se observó ninguna correlación significativa entre los niveles de los marcadores de osteoclastogénesis y el sTNF-RI, y la DMO, ni al principio ni al final del estudio, y ni en los casos ni en los controles (tablas 4.6.1 y 4.6.2). Tampoco se observó entre los niveles de los marcadores de osteoclastogénesis y el sTNF-RI, y los de los MRO (tablas 4.6.3 y 4.6.4).

Tabla 4.6.1. Relación (coeficiente de correlación de Spearman) entre los niveles de los marcadores de osteoclastogénesis y el sTNF-RI, y la DMO en las semana 0 y la semana 24 para los casos.

| | Z-score en CF | | Z-score en CL | | T-score en CF | | T-score en CL | |
|----------------|----------------------|---------------|----------------------|---------------|----------------------|---------------|----------------------|---------------|
| | Sem 0 | Sem 24 | Sem 0 | Sem 24 | Sem 0 | Sem 24 | Sem 0 | Sem 24 |
| OPG | 0,30 | 0,13 | 0,39 | 0,38 | 0,34 | -0,02 | 0,39 | 0,41 |
| RANKL | -0,36 | -0,39 | 0,07 | 0,13 | -0,32 | -0,48 | 0,17 | 0,14 |
| sTNF-RI | 0,05 | -0,39 | -0,01 | 0,05 | -0,20 | -0,45 | -0,02 | -0,00 |

Efecto de adalimumab sobre el metabolismo mineral óseo en la enfermedad de Crohn

Tabla 4.6.2. Relación (coeficiente de correlación de Spearman) entre los niveles de los marcadores de osteoclastogénesis y el sTNF-RI, y la DMO en las semana 0 y la semana 24 para los controles.

| | Z-score en CF | | Z-score en CL | | T-score en CF | | T-score en CL | |
|----------------|----------------------|---------------|----------------------|---------------|----------------------|---------------|----------------------|---------------|
| | Sem 0 | Sem 24 | Sem 0 | Sem 24 | Sem 0 | Sem 24 | Sem 0 | Sem 24 |
| OPG | -0,34 | -0,20 | -0,30 | -0,25 | -0,50 | -0,35 | -0,36 | -0,29 |
| RANKL | -0,13 | -0,18 | 0,22 | -0,04 | -0,16 | -0,21 | 0,12 | -0,05 |
| sTNF-RI | -0,01 | -0,05 | -0,10 | -0,09 | -0,10 | -0,13 | -0,21 | -0,13 |

Tabla 4.6.4. Relación (coeficiente de correlación de Spearman) entre los niveles de los marcadores de osteoclastogénesis y el sTNF-RI, y los de los MRO en las semana 0 y la semana 24 para los casos.

| | bALP | | OC | | TRAP | | CTX | |
|----------------|--------------|---------------|--------------|---------------|--------------|---------------|--------------|---------------|
| | Sem 0 | Sem 24 | Sem 0 | Sem 24 | Sem 0 | Sem 24 | Sem 0 | Sem 24 |
| OPG | 0,27 | -0,27 | -0,11 | -0,43 | 0,18 | -0,43 | -0,12 | -0,27 |
| RANKL | 0,13 | 0,00 | 0,44 | 0,37 | -0,10 | 0,11 | 0,35 | 0,06 |
| sTNF-RI | 0,03 | 0,02 | 0,00 | -0,04 | -0,08 | 0,03 | 0,16 | -0,08 |

Tabla 4.6.4. Relación (coeficiente de correlación de Spearman) entre los niveles de los marcadores de osteoclastogénesis y el sTNF-RI, y los de los MRO en las semana 0 y la semana 24 para los controles.

| | bALP | | OC | | TRAP | | CTX | |
|----------------|--------------|---------------|--------------|---------------|--------------|---------------|--------------|---------------|
| | Sem 0 | Sem 24 | Sem 0 | Sem 24 | Sem 0 | Sem 24 | Sem 0 | Sem 24 |
| OPG | 0,02 | 0,28 | 0,07 | 0,19 | -0,08 | 0,19 | -0,10 | -0,06 |
| RANKL | -0,04 | -0,12 | 0,02 | -0,31 | -0,19 | -0,24 | -0,18 | -0,43 |
| sTNF-RI | 0,11 | -0,11 | 0,20 | 0,07 | 0,03 | 0,23 | -0,05 | 0,06 |

4.7 INFLUENCIA DE LA TOMA DE CORTICOIDES Y LA FORMA DE LA ENFERMEDAD EN LOS CAMBIOS PRODUCIDOS POR ADALIMUMAB.

El comportamiento a lo largo del estudio de los MRO, los marcadores de osteoclastogénesis, el sTNF-RI y la DMO, atendiendo a la toma de prednisona y la forma de la enfermedad (luminal o fistulizante) en los pacientes que han recibido tratamiento con adalimumab se refleja en las tablas 4.7.1, 4.7.2, 4.7.3, y 4.7.4.

Tabla 4.7.1. Evolución de los niveles de los MRO en los pacientes tratados con adalimumab atendiendo a la toma de prednisona.

| | | BALP | OC | TRAP | CTX |
|------------------------------|-----------|---------------|---------------|--------------|----------------|
| | | (µg/L) | (ng/L) | (U/L) | (ng/mL) |
| No toma de prednisona | Semana 0 | 13,32±4,36 | 23,4±16,8 | 2,32±0,77 | 0,551±0,212 |
| | Semana 4 | 14,76±7,31 | 28,3±31,1 | 2,35±0,84 | 0,645±0,361 |
| | Semana 12 | 14,37±6,18 | 26,6±19,3 | 2,12±1,04 | 0,659±0,289 |
| | Semana 24 | 15,59±6,35 | 24,9±20,9 | 2,17±0,75 | 0,597±0,322 |
| Toma de prednisona | Semana 0 | 10,3±1,21 | 7,0±1,7 | 2,10±0,65 | 0,599±0,423 |
| | Semana 4 | 13,26±7,94 | 13,7±9,9 | 1,95±0,55 | 0,300±0,092 |
| | Semana 12 | 13,62±10,67 | 14,7±8,2 | 1,52±0,11 | 0,354±0,076 |
| | Semana 24 | 15,93±10,63 | 14,9±4,6 | 1,27±0,28 | 0,512±0,187 |
| p | | NS | 0,031 | 0,029 | NS |

Efecto de adalimumab sobre el metabolismo mineral óseo en la enfermedad de Crohn

Tabla 4.7.2. Evolución de los niveles de los MRO en los pacientes tratados con adalimumab atendiendo a la forma de la enfermedad.

| | | BALP ($\mu\text{g/L}$) | OC (ng/L) | TRAP (U/L) | CTX (ng/mL) |
|---------------------------|-----------|------------------------------------|--------------------------------|-------------------|----------------------------------|
| Forma luminal | Semana 0 | 12,87 \pm 3,29 | 15,3 \pm 10,7 | 2,16 \pm 0,66 | 0,508 \pm 0,204 |
| | Semana 4 | 11,77 \pm 3,27 | 17,1 \pm 9,1 | 2,14 \pm 0,51 | 0,526 \pm 0,263 |
| | Semana 12 | 11,43 \pm 3,78 | 18,3 \pm 9,8 | 2,13 \pm 0,67 | 0,605 \pm 0,210 |
| | Semana 24 | 13,58 \pm 6,02 | 19,2 \pm 7,7 | 2,02 \pm 0,82 | 0,617 \pm 0,173 |
| Forma fistulizante | Semana 0 | 12,57 \pm 4,96 | 24,9 \pm 20,0 | 2,39 \pm 0,83 | 0,613 \pm 0,298 |
| | Semana 4 | 17,14 \pm 9,18 | 33,7 \pm 38,6 | 2,38 \pm 1,02 | 0,626 \pm 0,433 |
| | Semana 12 | 16,50 \pm 7,85 | 29,7 \pm 22,3 | 2,07 \pm 1,22 | 0,612 \pm 0,350 |
| | Semana 24 | 17,30 \pm 7,27 | 26,5 \pm 25,3 | 2,02 \pm 0,77 | 0,556 \pm 0,382 |
| p | | 0,018 | 0,020 | NS | NS |

Tabla 4.7.3. Evolución de los niveles de los marcadores de osteoclastogénesis y el sTNF-RI en los pacientes tratados con adalimumab atendiendo a la toma de prednisona.

| | | OPG (pmol/L) | RANKL (pmol/L) | STNF-RI (pg/mL) |
|------------------------------|-----------|---------------------|-----------------------|------------------------|
| No toma de prednisona | Semana 0 | 4,4 \pm 1,9 | 0,01 \pm 0,11 | 243,91 \pm 112,64 |
| | Semana 4 | 4,2 \pm 1,7 | 0,15 \pm 0,39 | 221,56 \pm 126,50 |
| | Semana 12 | 4,1 \pm 1,4 | 0,15 \pm 0,40 | 224,05 \pm 122,13 |
| | Semana 24 | 3,8 \pm 1,2 | 0,15 \pm 0,40 | 226,84 \pm 121,11 |
| Toma de prednisona | Semana 0 | 4,4 \pm 1,3 | 0,01 \pm 0,03 | 234,41 \pm 54,60 |
| | Semana 4 | 4,4 \pm 1,0 | 0,00 \pm 0,01 | 192,51 \pm 55,24 |
| | Semana 12 | 4,4 \pm 0,6 | 0,00 \pm 0,01 | 178,94 \pm 36,03 |
| | Semana 24 | 4,3 \pm 0,6 | 0,02 \pm 0,03 | 181,42 \pm 32,24 |
| p | | NS | NS | NS |

Efecto de adalimumab sobre el metabolismo mineral óseo en la enfermedad de Crohn

Tabla 4.7.3. Evolución de los niveles de los marcadores de osteoclastogénesis y el sTNF-RI en los pacientes tratados con adalimumab atendiendo a la forma de la enfermedad.

| | | OPG (pmol/L) | RANKL (pmol/L) | STNF-RI (pg/mL) |
|---------------------------|-----------|--------------|----------------|-----------------|
| Forma luminal | Semana 0 | 4,1±1,3 | 0,09±0,13 | 222,03±73,94 |
| | Semana 4 | 4,0±1,1 | 0,19±0,51 | 196,58±36,16 |
| | Semana 12 | 4,2±1,3 | 0,21±0,55 | 190,41±32,06 |
| | Semana 24 | 3,8±0,8 | 0,22±0,55 | 191,07±36,80 |
| Forma fistulizante | Semana 0 | 4,7±2,3 | 0,06±0,08 | 261,99±125,77 |
| | Semana 4 | 4,6±1,8 | 0,05±0,06 | 232,42±156,10 |
| | Semana 12 | 4,1±1,3 | 0,05±0,6 | 237,44±148,88 |
| | Semana 24 | 3,9±1,4 | 0,06±0,07 | 241,83±145,93 |
| p | | NS | 0,051 | NS |

Tabla 4.7.3. Evolución de la DMO en los pacientes tratados con adalimumab atendiendo a la toma de prednisona.

| | No toma de prednisona | Toma de prednisona | p |
|------------|-----------------------|--------------------|----|
| Z-score CF | 0,05±0,40 | 0,13±0,06 | NS |
| Z-score CL | 0,07±0,39 | 0,19±0,02 | NS |
| T-score CF | -0,06±0,34 | 0,01±0,02 | NS |
| T-score CL | 0,06±0,35 | 0,18±0,03 | NS |

Efecto de adalimumab sobre el metabolismo mineral óseo en la enfermedad de Crohn

Tabla 4.7.3. Evolución de la DMO en los pacientes tratados con adalimumab atendiendo a la forma de la enfermedad.

| | Forma luminal | Forma fistulizante | p |
|------------|----------------------|---------------------------|----------|
| Z-score CF | 0,38±0,23 | 0,01±0,45 | NS |
| Z-score CL | -0,05±0,30 | 0,20±0,38 | NS |
| T-score CF | -0,75±0,18 | -0,02±0,39 | NS |
| T-score CL | -0,05±0,26 | 0,19±0,34 | NS |

5 DISCUSIÓN

La EC es un proceso inflamatorio crónico que puede presentar, además de la afectación gastrointestinal, diversas manifestaciones extraintestinales, entre las que se encuentra la osteoporosis. Diversos factores pueden contribuir al desarrollo de una DMO baja en la EC, si bien la fisiopatología y los mecanismos por los cuales se produce esta pérdida ósea aún no están esclarecidos. Aunque el análisis histomorfométrico de biopsias de cresta iliaca de pacientes con EII sugieren que la osteoporosis sería el resultado de una reducción de la formación ósea, y por tanto, un desequilibrio negativo del remodelado óseo (Hessov, Mosekilde et al. 1984; Croucher, Vedi et al. 1993), otros estudios concluyen que esta pérdida de masa ósea sería la consecuencia de un aumento de la resorción ósea sin un incremento compensatorio de la formación ósea (Silvennoinen, Risteli et al. 1996; Bjarnason, Macpherson et al. 1997; Robinson, Iqbal et al. 1998).

Uno de los posibles factores que influyen en el desarrollo de una DMO baja en la EC sería el proceso inflamatorio en sí. El sistema constituido por el RANKL y la OPG, junto con la citoquina TNF- α , representan un potencial nexo de unión entre la inflamación y la homeostasis ósea.

Adalimumab es un fármaco anti-TNF indicado en el tratamiento de pacientes con EC activa de moderada a grave y pacientes con EC fistulizante, que no han respondido a la terapia convencional. El efecto del bloqueo del TNF- α sobre el metabolismo óseo no está aún bien establecido. En el presente estudio se analiza longitudinalmente el efecto del tratamiento con adalimumab sobre la DMO, los MRO, el sistema OPG/RANKL y el sTNF-RI en una cohorte de pacientes con EC, comparándola con un grupo control constituido por enfermos con EC en la que dicho agente no está indicado.

5.1 CARACTERÍSTICAS BASALES DEL GRUPO DE ESTUDIO.

5.1.1 VARIABLES DENSITOMÉTRICAS.

Los datos obtenidos en nuestro estudio (un 4,7% de pacientes con un Z-score ≤ -2 en CF, un 20,3% en CL, y un 20,3% en CF o CL), revelan que la prevalencia de una DMO baja es importante entre los enfermos de Crohn de nuestro medio, sobre todo en hueso trabecular. Esta prevalencia es significativa, teniendo en cuenta la edad de la población de estudio y la ausencia de mujeres postmenopáusicas. Desde la descripción de una DMO baja en la EII por *Genant et al* en 1976 (Genant, Mall et al. 1976), son numerosos los estudios que han permitido documentar la presencia de una pérdida de masa ósea, que puede alcanzar hasta el 42%, según el estudio (Driscoll, Meredith et al. 1982; Compston, Judd et al. 1987; Motley, Crawley et al. 1988; Clements, Motley et al. 1992; Pigot, Roux et al. 1992; Silvennoinen, Karttunen et al. 1995; Bjarnason, Macpherson et al. 1997; Pollack, Karmelli et al. 1998; Staun, Tjellesen et al. 1998; Martínez, López-Rodríguez et al. 2001). La amplia variabilidad en los resultados obtenidos en los mismos podría estar influenciada por diversos factores, incluyendo los criterios utilizados para el diagnóstico, el método y la localización del esqueleto donde se llevan a cabo las mediciones y la selección de los pacientes, entre otros. No obstante, estos datos han venido a poner de manifiesto que los pacientes con EII tienen una menor masa ósea cuando se comparan con una población de controles sanos (Silvennoinen, Karttunen et al. 1995; Jahnsen, Falch et al. 1997; Robinson, al-Azzawi et al. 1997; Schulte, Dignass et al. 1998).

Dentro los factores que se han valorado en relación a una baja DMO, sólo los pacientes que toman glucocorticoides orales han presentado una menor DMO de forma estadísticamente significativa (excepto en el grupo de casos a nivel de CF), como se ha observado en otros estudios (Abitbol, Roux et al. 1995; van Staa, Leufkens et al. 2000). No obstante, es difícil distinguir el grado de contribución del uso de estos fármacos sobre el hueso, como ya se ha comentado previamente (ver epígrafe 1.2.5.2.3). El resto de factores valorados (tiempo de evolución de la enfermedad ≥ 6 meses, tabaquismo, PCR $>0,5\text{mg/dL}$, niveles de $25\text{OHD}_3 <20\text{ng/mL}$, y una enfermedad activa de acuerdo al CDAI), si bien no alcanzaron una significación estadística, podrían tener algún efecto sobre la pérdida de masa ósea en nuestros pacientes, en consonancia con otros estudios (Bartram, Peaston et al. 2006). Llama la atención los datos referentes al IMC, que resultan un tanto contradictorios, ya que la DMO parece relacionarse de forma directamente proporcional a la masa corporal (sobre todo magra y a nivel de CL) (Leslie, Miller et al. 2009), sin que podamos dar una explicación lógica a los mismos, salvo la posible participación de un factor confundente no controlado.

5.1.2 MARCADORES DE REMODELADO ÓSEO.

En nuestro estudio, sólo los niveles de CTX se encontraban elevados, mientras que los de bALP, OC y TRAP se encontraban dentro de los límites de la normalidad (si bien, los marcadores de formación se encuentran más próximos al límite inferior de la normalidad). Por otro lado, hemos encontrado que los niveles de TRAP eran significativamente más elevados en aquellos pacientes con una PCR $>0,5\text{mg/dL}$ y en aquellos con una enfermedad activa medida por el CDAI, pero no se encontraron diferencias significativas en otras

circunstancias. Los pacientes que tomaban prednisona presentaban niveles más bajos de OC que los que no ($9,9 \pm 3,3$ vs. $19,9 \pm 13,2$ ng/L), rozando esta diferencia la significación estadística. No hubo diferencias significativas en los niveles de bALP en ninguna de las circunstancias. Si valoramos los MRO en relación a la DMO, los pacientes con Z-score ≤ -2 presentaron niveles ligeramente menores de OC y bALP, y similares de TRAP y CTX con respecto a los que presentaban un Z-score > -2 , pero sin alcanzarse la significación estadística. Aunque estos resultados no son concluyentes, podría deducirse que en nuestros pacientes existe un desequilibrio en el metabolismo mineral óseo. De este modo, la resorción ósea estaría incrementada, posiblemente en relación a la actividad de la enfermedad, sin que se produjese un aumento compensatorio de la formación, si no más bien, al contrario.

Los estudios existentes en relación a los niveles de MRO en la EII, tanto de formación como de resorción, no han aportado resultados concluyentes sobre si aquéllos se encuentran alterados o no. Esta confusión se debe, en parte, a lo heterogéneo de los estudios, muchos de ellos de carácter transversal, con enfermos unos en fase activa y otros en fase inactiva, no siempre comparando con controles sanos, y con diferentes tratamientos, como los glucocorticoides o inmunosupresores, que pueden tener una influencia sobre los marcadores de metabolismo mineral superior a la provocada por la propia enfermedad. Además, no hay uniformidad en los marcadores de formación y recambio óseos medidos (Gilman, Shanahan et al. 2006). De este modo, existe un grupo de autores que han detectado niveles bajos de OC en suero y elevación del NTX en orina (Pollak, Karmeli et al. 1998; Bregenzer, Erban et al. 2002; Gilman, Shanahan et al. 2006), aunque algunos sólo en la CU y no en la EC (Ardizzone,

Bollani et al. 2000), o incluso también elevación de la bALP (Gilman, Shanahan et al. 2006). Otros, en cambio, encontraron una elevación en suero del CTX y en orina de la DPD (Silvennoinen, Risteli et al. 1996; Robinson, Iqbal et al. 1998; Miheller, Toth et al. 2001; Turk, Cukovic-Cavka et al. 2009), mientras que otros no encontraron alteración en los niveles de OC, CTX y/o DPD (Silvennoinen, Risteli et al. 1996; Robinson, Iqbal et al. 1998; Bartram, Peaston et al. 2006). Existen también matizaciones en estos hallazgos, como la existencia de niveles elevados de OC y CTX sólo en los pacientes activos en el estudio de *Silvennoinen et al*, o también niveles de NTX más elevados en los pacientes con osteoporosis en el estudio de *Bartram et al* (Silvennoinen, Risteli et al. 1996; Bartram, Peaston et al. 2006).

5.1.3 MARCADORES DE OSTEOCLASTOGÉNESIS Y sTNF-RI.

Los niveles de OPG y RANKL detectados fueron menores en los pacientes con un Z-score tanto en CF como en CL ≤ -2 con respecto a los que presentaban un Z-score > -2 , si bien sólo en el caso de los niveles de RANKL se alcanzó significación estadística. Este hallazgo podría reflejar un incremento de la actividad resortiva osteoclástica sin una respuesta compensatoria por parte de los osteoblastos en nuestros pacientes. En relación a los niveles de sTNF-RI, éstos fueron algo más elevados en los pacientes con un Z-score tanto en CF como en CL ≤ -2 respecto a los que presentaban un Z-score > -2 , aunque sin alcanzarse la significación estadística. Esto podría ir en consonancia con la teoría de la influencia de la actividad inflamatoria sobre la pérdida de masa ósea en la EC.

En la literatura, tampoco existe unanimidad con respecto a los hallazgos en relación al sistema OPG/RANKL. Mientras que *Moschen et al* encontraron una elevación de los niveles de OPG con respecto a la población sana, que se correlacionaba negativamente con la DMO, pero sin encontrar diferencias con respecto al RANKL, *Berstein et al* sólo hallaron niveles elevados de OPG, y únicamente en mujeres con EC (Bernstein, Sargent et al. 2005; Moschen, Kaser et al. 2005). Posteriormente, en el estudio de *Turk et al*, los niveles de OPG y RANKL se encontraban elevados en los pacientes con EC, los cuales presentaban una correlación negativa y estadísticamente significativa con la DMO. En este mismo estudio, los niveles de TNF- α también estaban elevados en los pacientes que presentaban una DMO baja, los cuales además presentaban una fuerte asociación con los niveles de RANKL, y una correlación negativa con la DMO (Turk, Cukovic-Cavka et al. 2009).

5.2 CAMBIOS TRAS EL TRATAMIENTO CON ADALIMUMAB.

5.2.1 Cambios en la densidad mineral ósea.

En nuestro estudio, los pacientes tratados con adalimumab presentaron en el CF una ligera pero no significativa mejoría del Z-score y no experimentaron cambios en términos de T-score, mientras que los no tratados con adalimumab presentaron un discreto empeoramiento tanto en términos de Z-score como de T-score. A nivel de la CL, apenas hubo modificaciones ni en el Z-score ni en el T-score, siendo éstas paralelas entre los casos y los controles. La evolución de la DMO en los casos no se vio influenciada de forma significativa ni por la toma de prednisona ni por la forma de la enfermedad.

Si bien el tiempo transcurrido entre ambas mediciones densitométricas es menor a lo recomendado (al menos un año), y por tanto esto podría justificar la ausencia de resultados significativos, los datos obtenidos harían pensar que adalimumab podría frenar, al menos, el deterioro de la masa ósea en el CF.

Los datos existentes en la literatura respecto al efecto del tratamiento anti-TNF sobre la DMO son poco concluyentes, sobre todo teniendo en cuenta la heterogeneidad del método y localización de las determinaciones presentadas y del tiempo transcurrido entre mediciones. Además, algunos estudios son retrospectivos, y en alguno se incluye el efecto de los bifosfonatos. Así, *Bernstein et al* encontraron un aumento significativo de la DMO, tanto a nivel de CF ($2,6\% \pm 0,7\%$) como de CL ($2,4\% \pm 0,7\%$), en pacientes con EC tras un año de tratamiento con infliximab, si bien sólo se midió el T-score. Esta mejoría fue independiente de la toma de prednisona (Bernstein, Irwin et al. 2005). Por otro lado, *Pazianas et al*, en un estudio retrospectivo de enfermos con Crohn, encontró una mejoría en el T-score en CL (con una media de diferencia entre las dos DEXA de 2 años; no se valoró ni el CF ni el Z-score) sólo en aquellos pacientes que habían recibido infliximab junto con bifosfonatos ($6,7\%/año$), pero no en aquellos únicamente tratados con infliximab. Este incremento fue superior al tratamiento sólo con bifosfonatos, por lo que los autores concluyen que infliximab tendría un efecto adicional a los bifosfonatos (Pazianas, Rhim et al. 2006). En otro estudio retrospectivo, *Mauro et al* encontraron un aumento significativo de la DMO a nivel de CL ($8,13\% \pm 7,7\%$) entre las dos valoraciones densitométricas (separadas al menos 12 meses) en comparación con los controles ($1,55\% \pm 4\%$) (Mauro, Radovic et al. 2007).

No existen datos en la literatura sobre el efecto de adalimumab sobre la DMO en los enfermos con EC. Existe un estudio, sin embargo, en el que los autores no encuentran cambios en la DMO ni en CL ni en CF de enfermos con AR tras un año de tratamiento, sugiriéndose la posibilidad que el tratamiento con adalimumab frene la pérdida de masa ósea. Además, se hace referencia al posible efecto beneficioso de dosis bajas de glucocorticoides en estos enfermos (por su acción antiinflamatoria), al encontrar un incremento relativo de masa ósea en CF mayor en los pacientes con prednisona (2,5% VS. -0,7%) (Wijbrandts, Klaasen et al. 2009).

5.2.2 Cambios en los marcadores de remodelado óseo.

Los niveles de los marcadores de formación aumentaron de forma no significativa en los pacientes tratados con adalimumab, presentando éstos unos niveles superiores a los de los controles a partir de la 4ª semana. Solo en el caso de la OC, esta diferencia fue estadísticamente significativa a las 24 semanas de tratamiento ($p=0,0066$). El porcentaje de enfermos tratados con adalimumab en los que se produjo un incremento relevante (entendido como incremento de al menos un 30% con respecto a los niveles iniciales) fue de un 30% y un 28% para la bALP y para la OC, respectivamente.

En cuanto a los marcadores de resorción, los niveles de TRAP descendieron en los controles de forma paralela a los de los casos (aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas). Los niveles de CTX, en cambio, apenas se modificaron en los pacientes con adalimumab, mientras que descendieron en los controles, en ningún caso de forma significativa. La diferencia de los niveles de CTX entre pacientes tratados con adalimumab y

no tratados al final del periodo de estudio sí fue estadísticamente significativa ($p=0,0339$). El porcentaje de enfermos tratados con adalimumab en los que se produjo un descenso relevante (entendido como disminución de al menos un 30% con respecto a los niveles iniciales) fue de un 6% y un 28% para la TRAP y para el CTX, respectivamente.

En nuestro estudio, los niveles de los MRO medidos no se correlacionaron con ninguno de los marcadores de osteoclastogénesis ni tampoco con los del sTNF-RI.

Al valorar el comportamiento del subgrupo de enfermos tratados con adalimumab que recibían tratamiento concomitante con prednisona, éstos presentaron un incremento mayor de la OC y un descenso mayor de la TRAP, ambos estadísticamente significativos. Atendiendo a la forma de la enfermedad, los niveles de OC aumentaron más de forma significativa en los pacientes tratados con adalimumab con una forma luminal, mientras que los niveles de bALP lo hicieron en los que tenían una forma fistulizante; no hubo diferencias significativas con respecto a los marcadores de resorción.

Los resultados de nuestro estudio, aunque no concluyentes, sugieren que adalimumab podría inducir un incremento de la formación ósea, sin apenas modificación de la resorción, lo que compensaría la resorción ósea aumentada que se observaba al inicio del estudio. No queda claro la influencia que podría tener en esto el sistema OPG/RANKL, si bien, el hecho de que estas modificaciones sean más marcadas y significativas en los pacientes que tomaban prednisona, sugieren que el control del proceso inflamatorio podría tener alguna influencia (por el efecto antiinflamatorio de los glucocorticoides).

Estos resultados están en consonancia con los hallazgos de otros estudios con enfermos de EC a los que se trató con infliximab (no existen estudios hasta la fecha con adalimumab). Por ejemplo, *Franchimont et al* encontraron un aumento significativo de los marcadores de formación, con un descenso igualmente significativo, pero de menor magnitud, de los de resorción, normalizándose los niveles de ambos tipos de marcadores con respecto a los de los controles sanos (Franchimont, Putzeys et al. 2004). En otros estudios sólo se detectó un aumento significativo de los marcadores de formación ósea, mientras que los de resorción mostraron un descenso no significativo, o no aumentaron (Ryan, Russel et al. 2004; Abreu, Geller et al. 2006; Miheller, Muzes et al. 2007). Otro estudio, en este caso con pacientes pediátricos encontró, en cambio, un incremento tanto de los marcadores de formación como de los de resorción, aunque el de éstos últimos fue menos marcado (Thayu, Leonard et al. 2008). Los autores aducen tres posibles mecanismos para explicar el efecto de infliximab sobre el metabolismo mineral óseo. En primer lugar, el efecto inhibitorio de este fármaco sobre el TNF- α , con el consiguiente bloqueo de su acción favorecedora de la diferenciación de los osteoclastos e inhibitoria de la de los osteoblastos. En segundo lugar, la reducción de la respuesta inflamatoria en intestino, disminuyéndose así la producción de diversas citoquinas (IL-6, IL-1 β ,...) con un efecto deletéreo sobre el metabolismo óseo. Finalmente, la mejoría del estado general de los enfermos tras el tratamiento, junto con el aumento de la actividad física y una mejor alimentación, también podrían influir en la formación neta de hueso (Franchimont, Putzeys et al. 2004; Ryan, Russel et al. 2004).

5.2.3 Cambios en los marcadores de osteoclastogénesis y el sTNF-RI.

El tratamiento con adalimumab produjo un descenso no significativo de los niveles de OPG, siendo la diferencia entre grupos al final del estudio estadísticamente significativa ($p=0,0001$). Los niveles de RANKL, en cambio, aumentaron de forma más marcada que en los pacientes que no recibieron adalimumab, aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Finalmente, el tratamiento con adalimumab indujo un descenso no significativo de los niveles del sTNF-RI, siendo la diferencia con respecto a los controles a las 24 semanas de tratamiento estadísticamente significativa ($p=0,0000$).

En nuestro estudio, encontramos una correlación positiva estadísticamente significativa entre el descenso de los niveles de PCR y el de los niveles de sTNF-RI tras el tratamiento con adalimumab, pero no con respecto al descenso de la puntuación CDAI (aunque la correlación fue igualmente positiva). El comportamiento del sistema OPG/RANKL tras el tratamiento con infliximab también presentó una correlación significativa con ambas circunstancias, aunque no de forma significativa.

No se logró constatar ninguna correlación significativa entre los niveles de los marcadores de osteoclastogénesis y el sTNF-RI, y la DMO, ni al principio ni al final del estudio. No obstante, se observó una tendencia a una correlación positiva entre la OPG y la DMO tanto a nivel de CL como de CF, y a una correlación negativa entre el RANKL y la DMO a nivel de CF. Tampoco se consiguió constatar ninguna correlación significativa entre los niveles de los marcadores de osteoclastogénesis y el sTNF-RI, y los de los MRO.

El tratamiento con prednisona no influyó de forma significativa en el efecto de adalimumab sobre los niveles de los marcadores de osteoclastogénesis ni en los del sTNF-RI. Los niveles de RANKL sí experimentaron un incremento significativamente mayor en los pacientes con una enfermedad luminal con respecto a los que presentaban una forma fistulizante.

La información disponible respecto al comportamiento del sistema OPG/RANKL tras el tratamiento con terapia anti-TNF es muy escasa. De hecho, sólo existe un estudio en enfermos con EC tratados con infliximab, en los que se observa un descenso significativo de los niveles de OPG y un ascenso no significativo de los niveles de RANKL. No se detectó un comportamiento diferente de los niveles de marcadores de osteoclastogénesis atendiendo a la forma de la enfermedad (Miheller, Muzes et al. 2007). Los autores consideran que el descenso de los niveles de OPG podría ser debido al efecto antiinflamatorio de infliximab, bien por bloqueo el del TNF- α , o bien por el bloqueo de otras citoquinas liberadas por los osteoblastos y que incrementan los niveles de OPG. Con respecto al incremento de los niveles de RANKL, los autores consideran que podría explicarse por el hecho de que infliximab puede modificar la actividad de determinadas metaloproteasas de la matriz del tejido inetestinal que liberarían el RANKL anclado a la membrana de los linfocitos T activados (Meijer, Mieremet-Ooms et al. 2007), o bien ser simplemente el reflejo del descenso de los niveles de OPG, la cual tiene un efecto inhibitorio sobre la liberación del RANKL anclado a la membrana de los osteoblastos. Teniendo en cuenta que infliximab y adalimumab comparten el mismo mecanismo de acción, podríamos considerar igualmente válidas estas

explicaciones para el comportamiento detectado de los niveles de OPG y RANKL en nuestro estudio.

Con respecto al sTNF-RI, los datos sobre su comportamiento tras el tratamiento con terapia anti-TNF son inexistentes. No obstante, el comportamiento observado en nuestro estudio podría ser el esperado, al correlacionarse sus niveles con la actividad de la enfermedad (Spoetl, Hausmann et al. 2007), y como refleja la correlación significativa encontrada con el cambio en los niveles de PCR (y en la puntuación en la escala CDAI, aunque de forma no significativa).

6 CONCLUSIONES

- I. La prevalencia de una DMO baja es importante entre los enfermos de Crohn de nuestro medio, sobre todo en hueso trabecular, y entre aquellos que toman glucocorticoides orales.
- II. En nuestros pacientes, la resorción ósea estaría incrementada, posiblemente en relación a la actividad de la enfermedad, sin un incremento compensatorio de la formación.
- III. Los niveles de OPG y RANKL detectados podrían reflejar un incremento de la actividad resortiva osteoclástica sin una respuesta compensatoria por parte de los osteoblastos, mientras que los del sTNF-RI podrían reflejar la influencia de la actividad inflamatoria sobre la pérdida de masa ósea en la EC.
- IV. Adalimumab parece frenar el deterioro de la masa ósea en el CF, sin efecto aparente sobre la CL, tras 6 meses de tratamiento.
- V. El tratamiento con adalimumab podría inducir un incremento de la formación ósea, sin prácticamente ejercer efecto sobre la resorción, compensando el incremento de esta última observada inicialmente.
- VI. El descenso de los niveles de la OPG podría ser el reflejo del efecto antiinflamatorio de adalimumab, mientras que el aumento del RANKL podría ser consecuencia directa o indirecta de dicho tratamiento.
- VII. El descenso de los niveles del sTNF-RI también parece ser reflejo del control del proceso inflamatorio por parte de adalimumab, lo cual se ve apoyado por la correlación negativa con la evolución de los niveles de la PCR.

7 RESUMEN

TESIS DOCTORAL: EFECTO DE ADALIMUMAB SOBRE EL METABOLISMO MINERAL ÓSEO EN LA ENFERMEDAD DE CROHN.

INTRODUCCIÓN: Los pacientes con enfermedad de Crohn (EC) se encuentran en riesgo de desarrollar osteoporosis. Uno de los posibles factores que influyen en el desarrollo de una DMO baja en la EC sería el proceso inflamatorio en sí. El sistema constituido por el RANKL y la OPG, junto con la citoquina TNF- α , representan un potencial nexo de unión entre la inflamación y la homeostasis ósea. Adalimumab es un fármaco anti-TNF indicado en el tratamiento de la EC que no han respondido a la terapia convencional. El efecto del bloqueo del TNF- α sobre el metabolismo óseo no está aún bien establecido.

OBJETIVOS: Evaluar el efecto del tratamiento con adalimumab (dosis de carga según la gravedad del cuadro, seguida de mantenimiento con 40 miligramos subcutáneos cada 2 semanas) sobre la DMO, los marcadores de remodelado óseo, el sistema OPG/RANKL y el sTNF-RI en una cohorte de pacientes con EC, comparándola con un grupo control constituido por enfermos con EC en la que dicho agente no está indicado.

PACIENTES: Tipo de estudio: longitudinal. Tamaño de la muestra: 64 pacientes (20 casos y 44 controles). Sujetos de estudio: pacientes con EC procedentes de las consultas de Aparato Digestivo de los Hospitales Universitarios San Cecilio y Virgen de las Nieves de Granada (octubre de 2007-octubre de 2009). Criterios de inclusión: edad comprendida entre los 18 y 65 años, con régimen de vida ambulatorio, aceptación y firma del

consentimiento informado, y, para tratamiento con adalimumab, presentar alguna de las indicaciones aceptadas internacionalmente. Criterios de exclusión: embarazo, tratamiento con algún fármaco anti-TNF en los dos años previos o antecedentes de patología metabólica ósea, diferente de la osteoporosis.

MÉTODOS: Se determinaron variables clínicas (incluyendo índice de actividad de la EC y PCR), variables propias del metabolismo mineral óseo (25OHD₃, PTHi, marcadores de remodelado óseo), OPG (OPG ELISA, BIOMEDICA-GRUPPE, Wien, Austria), RANKL (ampli-sRANKL human, BIOMEDICA-GRUPPE, Wien, Austria) y sTNF-RI (Quantikine Human sTNF RI Immunoassay, R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, EEUU), basal y a las 4, 12 y 24 semanas de tratamiento. Se realizó además DEXA de cuello de fémur y columna lumbar basal y a las 24 semanas de tratamiento.

CONCLUSIONES: Tras 24 semanas de tratamiento con adalimumab, se observó lo siguiente: 1) La DMO en cuello de fémur no empeoró, sin efecto aparente sobre la de la columna lumbar. 2) Incremento de los marcadores de formación ósea sin apenas modificación de los de remoción. 3) Descenso de los niveles de OPG con aumento de los del RANKL. 4) Reducción de los niveles del sTNF-RI, que se correlacionaron negativamente con el descenso de los niveles de PCR. En conclusión, el tratamiento con adalimumab podría compensar las alteraciones del metabolismo mineral óseo en los pacientes con EC a través del control del proceso inflamatorio; a largo plazo, podría frenar la pérdida de masa ósea en estos pacientes.

8 BIBLIOGRAFÍA

- (2003). Risk assessment. Physician's Guide for the prevention and treatment of osteoporosis. , National Osteoporosis Foundation (NOF).
- Abitbol, V., C. Roux, et al. (1995). "Metabolic bone assessment in patients with inflammatory bowel disease." Gastroenterology **108**(2): 417-22.
- Abreu, M. T., J. L. Geller, et al. (2006). "Treatment with infliximab is associated with increased markers of bone formation in patients with Crohn's disease." J Clin Gastroenterol **40**(1): 55-63.
- Alarcon Alarcon, T. and J. I. Gonzalez-Montalvo (2004). "[Osteoporotic hip fracture. Predictive factors of short-and long-term functional recovery]." An Med Interna **21**(2): 87-96.
- Ali, T., D. Lam, et al. (2009). "Osteoporosis in inflammatory bowel disease." Am J Med **122**(7): 599-604.
- Allali, F., M. Breban, et al. (2003). "Increase in bone mineral density of patients with spondyloarthritis treated with anti-tumour necrosis factor alpha." Ann Rheum Dis **62**(4): 347-9.
- Ardizzone, S., S. Bollani, et al. (2000). "Altered bone metabolism in inflammatory bowel disease: there is a difference between Crohn's disease and ulcerative colitis." J Intern Med **247**(1): 63-70.
- Aubin, J. E. and E. Bonnelye (2000). "Osteoprotegerin and its ligand: a new paradigm for regulation of osteoclastogenesis and bone resorption." Osteoporos Int **11**(11): 905-13.
- Bartram, S. A., R. T. Peaston, et al. (2006). "Multifactorial analysis of risk factors for reduced bone mineral density in patients with Crohn's disease." World J Gastroenterol **12**(35): 5680-6.
- Baumgart, D. C. and W. J. Sandborn (2007). "Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies." Lancet **369**(9573): 1641-57.
- Bekker, P. J., D. Holloway, et al. (2001). "The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women." J Bone Miner Res **16**(2): 348-60.
- Bernstein, C. N., J. F. Blanchard, et al. (2000). "The incidence of fracture among patients with inflammatory bowel disease. A population-based cohort study." Ann Intern Med **133**(10): 795-9.
- Bernstein, C. N., M. Sargent, et al. (2005). "Serum osteoprotegerin is increased in Crohn's disease: a population-based case control study." Inflamm Bowel Dis **11**(4): 325-30.
- Bernstein, C. N., L. L. Seeger, et al. (1995). "Decreased bone density in inflammatory bowel disease is related to corticosteroid use and not disease diagnosis." J Bone Miner Res **10**(2): 250-6.
- Bernstein, M., S. Irwin, et al. (2005). "Maintenance infliximab treatment is associated with improved bone mineral density in Crohn's disease." Am J Gastroenterol **100**(9): 2031-5.

- Best, W. R., J. M. Becketl, et al. (1976). "Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study." Gastroenterology **70**(3): 439-44.
- Bingham, C. O., 3rd (2002). "The pathogenesis of rheumatoid arthritis: pivotal cytokines involved in bone degradation and inflammation." J Rheumatol Suppl **65**: 3-9.
- Binkley, N., J. P. Bilezikian, et al. (2006). "Official positions of the International Society for Clinical Densitometry and Executive Summary of the 2005 Position Development Conference." J Clin Densitom **9**(1): 4-14.
- Bjarnason, I., A. Macpherson, et al. (1997). "Reduced bone density in patients with inflammatory bowel disease." Gut **40**(2): 228-33.
- Bjarnason, N. H., S. Sarkar, et al. (2001). "Six and twelve month changes in bone turnover are related to reduction in vertebral fracture risk during 3 years of raloxifene treatment in postmenopausal osteoporosis." Osteoporos Int **12**(11): 922-30.
- Blake, G. M. and I. Fogelman (1998). "Applications of bone densitometry for osteoporosis." Endocrinol Metab Clin North Am **27**(2): 267-88.
- Bonnick, S. L. and L. Shulman (2006). "Monitoring osteoporosis therapy: bone mineral density, bone turnover markers, or both?" Am J Med **119**(4 Suppl 1): S25-31.
- Bord, S., D. C. Ireland, et al. (2003). "The effects of estrogen on osteoprotegerin, RANKL, and estrogen receptor expression in human osteoblasts." Bone **32**(2): 136-41.
- Boyle, W. J., W. S. Simonet, et al. (2003). "Osteoclast differentiation and activation." Nature **423**(6937): 337-42.
- Bregenzler, N., P. Erban, et al. (2002). "Screening for osteoporosis in patients with inflammatory bowel disease by using urinary N-telopeptides." Eur J Gastroenterol Hepatol **14**(6): 599-605.
- Bringhurst, F. R. (2002). "PTH receptors and apoptosis in osteocytes." J Musculoskelet Neuronal Interact **2**(3): 245-51.
- Brossa, A., J. Tobias, et al. (2005). "Mortalidad a los tres años de pacientes con fractura de fémur." Med Clin(124): 53-4.
- Browner, W. S., L. Y. Lui, et al. (2001). "Associations of serum osteoprotegerin levels with diabetes, stroke, bone density, fractures, and mortality in elderly women." J Clin Endocrinol Metab **86**(2): 631-7.
- Calvo Hernán, F. and J. Hinojosa del Val (2008). "Enfermedad inflamatoria del tubo digestivo. Enfermedad de Crohn." Medicine **10**(5): 275-283.
- Clements, D., R. J. Motley, et al. (1992). "Longitudinal study of cortical bone loss in patients with inflammatory bowel disease." Scand J Gastroenterol **27**(12): 1055-60.
- Compston, J. E., D. Judd, et al. (1987). "Osteoporosis in patients with inflammatory bowel disease." Gut **28**(4): 410-5.

- Cordero-Coma, M., M. F. Benito, et al. (2008). "Serpiginous choroiditis." Ophthalmology **115**(9): 1633, 1633 e1-2.
- Cosman, F. and R. Lindsay (2004). "Therapeutic potential of parathyroid hormone." Curr Osteoporos Rep **2**(1): 5-11.
- Croucher, P. I., S. Vedi, et al. (1993). "Reduced bone formation in patients with osteoporosis associated with inflammatory bowel disease." Osteoporos Int **3**(5): 236-41.
- Cummings, S. R., D. Bates, et al. (2002). "Clinical use of bone densitometry: scientific review." Jama **288**(15): 1889-97.
- Cummings, S. R. and L. J. Melton (2002). "Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures." Lancet **359**(9319): 1761-7.
- Cheng, X. G., G. Lowet, et al. (1998). "Prediction of vertebral and femoral strength in vitro by bone mineral density measured at different skeletal sites." J Bone Miner Res **13**(9): 1439-43.
- Chevalley, T., P. Hoffmeyer, et al. (2002). "An osteoporosis clinical pathway for the medical management of patients with low-trauma fracture." Osteoporos Int **13**(6): 450-5.
- Dallas, S. L., J. L. Rosser, et al. (2002). "Proteolysis of latent transforming growth factor-beta (TGF-beta)-binding protein-1 by osteoclasts. A cellular mechanism for release of TGF-beta from bone matrix." J Biol Chem **277**(24): 21352-60.
- De Rosa, M., L. Paesano, et al. (2001). "Bone mineral density and bone markers in hypogonadotropic and hypergonadotropic hypogonadal men after prolonged testosterone treatment." J Endocrinol Invest **24**(4): 246-52.
- Dovio, A., V. Data, et al. (2005). "Circulating osteoprotegerin and soluble RANKL: do they have a future in clinical practice?" J Endocrinol Invest **28**(10 Suppl): 14-22.
- Driscoll, R. H., Jr., S. C. Meredith, et al. (1982). "Vitamin D deficiency and bone disease in patients with Crohn's disease." Gastroenterology **83**(6): 1252-8.
- Duggan, P., M. O'Brien, et al. (2004). "Vitamin K status in patients with Crohn's disease and relationship to bone turnover." Am J Gastroenterol **99**(11): 2178-85.
- Elezoglou, A., N. Kafasi, et al. (2007). "Infliximab treatment-induced formation of autoantibodies is common in Behcet's disease." Clin Exp Rheumatol **25**(4 Suppl 45): S65-9.
- Ensrud, K. E., D. E. Thompson, et al. (2000). "Prevalent vertebral deformities predict mortality and hospitalization in older women with low bone mass. Fracture Intervention Trial Research Group." J Am Geriatr Soc **48**(3): 241-9.
- Faulkner, K. G. (2000). "Bone matters: are density increases necessary to reduce fracture risk?" J Bone Miner Res **15**(2): 183-7.

- Fechtenbaum, J., C. Cropet, et al. (2005). "The severity of vertebral fractures and health-related quality of life in osteoporotic postmenopausal women." Osteoporos Int **16**(12): 2175-9.
- Ferrar, L., G. Jiang, et al. (2005). "Identification of vertebral fractures: an update." Osteoporos Int **16**(7): 717-28.
- Fiore, C. E., P. Pennisi, et al. (2001). "Response of biochemical markers of bone turnover to estrogen treatment in post-menopausal women: evidence against an early anabolic effect on bone formation." J Endocrinol Invest **24**(6): 423-9.
- Formiga, F. and R. Pujol (2005). "Mortalidad por fractura de fémur: analizando las causas de un viejo problema." Med Clin(124): 55-6.
- Franchimont, N., V. Putzeys, et al. (2004). "Rapid improvement of bone metabolism after infliximab treatment in Crohn's disease." Aliment Pharmacol Ther **20**(6): 607-14.
- Franchimont, N., C. Reenaers, et al. (2004). "Increased expression of receptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL), its receptor RANK and its decoy receptor osteoprotegerin in the colon of Crohn's disease patients." Clin Exp Immunol **138**(3): 491-8.
- Garrido, A., M. J. Martinez, et al. (2004). "Epidemiology of chronic inflammatory bowel disease in the Northern area of Huelva." Rev Esp Enferm Dig **96**(10): 687-91; 691-4.
- Gass, M. and B. Dawson-Hughes (2006). "Preventing osteoporosis-related fractures: an overview." Am J Med **119**(4 Suppl 1): S3-S11.
- Genant, H. K., J. C. Mall, et al. (1976). "Skeletal demineralization and growth retardation in inflammatory bowel disease." Invest Radiol **11**(6): 541-9.
- Gerdhem, P., K. K. Ivaska, et al. (2004). "Biochemical markers of bone metabolism and prediction of fracture in elderly women." J Bone Miner Res **19**(3): 386-93.
- Ghosh, S., S. Cowen, et al. (1994). "Low bone mineral density in Crohn's disease, but not in ulcerative colitis, at diagnosis." Gastroenterology **107**(4): 1031-9.
- Gilman, J., F. Shanahan, et al. (2006). "Altered levels of biochemical indices of bone turnover and bone-related vitamins in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis." Aliment Pharmacol Ther **23**(7): 1007-16.
- Goldring, S. R. (2003). "Pathogenesis of bone and cartilage destruction in rheumatoid arthritis." Rheumatology (Oxford) **42 Suppl 2**: ii11-6.
- Gonzalez-Calvin, J. L., F. Gallego-Rojo, et al. (2004). "Osteoporosis, mineral metabolism, and serum soluble tumor necrosis factor receptor p55 in viral cirrhosis." J Clin Endocrinol Metab **89**(9): 4325-30.
- González Macías, J. and J. Olmos Martínez (2006). "Fisiopatología de la osteoporosis." Medicine **9**(Extr. 1): 1-7.
- Graves, J. E., K. Nunley, et al. (2007). "Off-label uses of biologics in dermatology: rituximab, omalizumab, infliximab, etanercept,

adalimumab, efalizumab, and alefacept (part 2 of 2)." J Am Acad Dermatol **56**(1): e55-79.

- Gurlek, A., M. R. Pittelkow, et al. (2002). "Modulation of growth factor/cytokine synthesis and signaling by 1alpha,25-dihydroxyvitamin D(3): implications in cell growth and differentiation." Endocr Rev **23**(6): 763-86.
- Gustot, T., A. Lemmers, et al. (2005). "Profile of soluble cytokine receptors in Crohn's disease." Gut **54**(4): 488-95.
- Hadziselimovic, F., L. R. Emmons, et al. (1995). "Soluble tumour necrosis factor receptors p55 and p75 in the urine monitor disease activity and the efficacy of treatment of inflammatory bowel disease." Gut **37**(2): 260-3.
- Hessov, I., L. Mosekilde, et al. (1984). "Osteopenia with normal vitamin D metabolites after small-bowel resection for Crohn's disease." Scand J Gastroenterol **19**(5): 691-6.
- Hofbauer, L. C. and A. E. Heufelder (2000). "Clinical review 114: hot topic. The role of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin in the pathogenesis and treatment of metabolic bone diseases." J Clin Endocrinol Metab **85**(7): 2355-63.
- Hofbauer, L. C. and A. E. Heufelder (2001). "Role of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin in bone cell biology." J Mol Med **79**(5-6): 243-53.
- Hofbauer, L. C. and M. Schoppet (2004). "Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases." Jama **292**(4): 490-5.
- Hoffman, G. S., M. C. Cid, et al. (2007). "Infliximab for maintenance of glucocorticosteroid-induced remission of giant cell arteritis: a randomized trial." Ann Intern Med **146**(9): 621-30.
- Holick, M. F. (2007). "Vitamin D deficiency." N Engl J Med **357**(3): 266-81.
- Holtmann, M. H., E. Douni, et al. (2002). "Tumor necrosis factor-receptor 2 is up-regulated on lamina propria T cells in Crohn's disease and promotes experimental colitis in vivo." Eur J Immunol **32**(11): 3142-51.
- Honkanen, R. J., K. Honkanen, et al. (2000). "Risk factors for perimenopausal distal forearm fracture." Osteoporos Int **11**(3): 265-70.
- Indridason, O. S., L. Franzson, et al. (2005). "Serum osteoprotegerin and its relationship with bone mineral density and markers of bone turnover." Osteoporos Int **16**(4): 417-23.
- Jahnsen, J., J. A. Falch, et al. (1997). "Bone mineral density is reduced in patients with Crohn's disease but not in patients with ulcerative colitis: a population based study." Gut **40**(3): 313-9.
- Jahnsen, J., J. A. Falch, et al. (2002). "Vitamin D status, parathyroid hormone and bone mineral density in patients with inflammatory bowel disease." Scand J Gastroenterol **37**(2): 192-9.

- Jilka, R. L. (2003). "Biology of the basic multicellular unit and the pathophysiology of osteoporosis." Med Pediatr Oncol **41**(3): 182-5.
- Johnell, O. and J. Kanis (2005). "Epidemiology of osteoporotic fractures." Osteoporos Int **16 Suppl 2**: S3-7.
- Johnell, O., J. A. Kanis, et al. (2005). "Predictive value of BMD for hip and other fractures." J Bone Miner Res **20**(7): 1185-94.
- Johnell, O., J. A. Kanis, et al. (2004). "Mortality after osteoporotic fractures." Osteoporos Int **15**(1): 38-42.
- Johnell, O., W. H. Scheele, et al. (2002). "Additive effects of raloxifene and alendronate on bone density and biochemical markers of bone remodeling in postmenopausal women with osteoporosis." J Clin Endocrinol Metab **87**(3): 985-92.
- Kanis, J., O. Johnell, et al. (2001). "Ten year probabilities of osteoporotic fractures according to BMD and diagnostic thresholds." Osteoporos Int(12): 989-995.
- Kanis, J., A. Oden, et al. (2003). "The components of excess mortality after hip fracture." Bone(32): 468-473.
- Kanis, J. A., O. Johnell, et al. (2006). "The use of multiple sites for the diagnosis of osteoporosis." Osteoporos Int **17**(4): 527-34.
- Kawaguchi, J., P. J. Mee, et al. (2005). "Osteogenic and chondrogenic differentiation of embryonic stem cells in response to specific growth factors." Bone **36**(5): 758-69.
- Khosla, S. (2001). "Minireview: the OPG/RANKL/RANK system." Endocrinology **142**(12): 5050-5.
- Khosla, S. (2002). "Leptin-central or peripheral to the regulation of bone metabolism?" Endocrinology **143**(11): 4161-4.
- Khosla, S., E. J. Atkinson, et al. (2002). "Effect of estrogen versus testosterone on circulating osteoprotegerin and other cytokine levels in normal elderly men." J Clin Endocrinol Metab **87**(4): 1550-4.
- Khosla, S., L. J. Melton, 3rd, et al. (2002). "Clinical review 144: Estrogen and the male skeleton." J Clin Endocrinol Metab **87**(4): 1443-50.
- Klein, R. F., J. Allard, et al. (2004). "Regulation of bone mass in mice by the lipoxigenase gene *Alox15*." Science **303**(5655): 229-32.
- Kourbeti, I. S. and D. T. Boumpas (2005). "Biological therapies of autoimmune diseases." Curr Drug Targets Inflamm Allergy **4**(1): 41-6.
- Kudlacek, S., B. Schneider, et al. (2003). "Serum levels of osteoprotegerin increase with age in a healthy adult population." Bone **32**(6): 681-6.
- Kwan Tat, S., M. Padrines, et al. (2004). "IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology." Cytokine Growth Factor Rev **15**(1): 49-60.
- Langub, M. C., M. C. Monier-Faugere, et al. (2001). "Parathyroid hormone/parathyroid hormone-related peptide type 1 receptor in human bone." J Bone Miner Res **16**(3): 448-56.

- Leslie, W. D., N. Miller, et al. (2009). "Body mass and composition affect bone density in recently diagnosed inflammatory bowel disease: the Manitoba IBD Cohort Study." Inflamm Bowel Dis **15**(1): 39-46.
- Lewis, N. and B. Scott (2007). "Guidelines for osteoporosis in inflammatory bowel disease and celiac disease." BSG Guidelines in Gastroenterology(14): 1-16.
- Lichtenstein, G. R. (2003). "Evaluation of bone mineral density in inflammatory bowel disease: current safety focus." Am J Gastroenterol **98**(12 Suppl): S24-30.
- Lindsay, R., R. T. Burge, et al. (2005). "One year outcomes and costs following a vertebral fracture." Osteoporos Int **16**(1): 78-85.
- Lochmuller, E. M., F. Eckstein, et al. (1998). "Prediction of vertebral failure loads from spinal and femoral dual-energy X-ray absorptiometry, and calcaneal ultrasound: an in situ analysis with intact soft tissues." Bone **23**(5): 417-24.
- Loftus, E. V., Jr. (2004). "Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences." Gastroenterology **126**(6): 1504-17.
- Loftus, E. V., Jr., S. J. Achenbach, et al. (2003). "Risk of fracture in ulcerative colitis: a population-based study from Olmsted County, Minnesota." Clin Gastroenterol Hepatol **1**(6): 465-73.
- Looker, A. C., H. W. Wahner, et al. (1995). "Proximal femur bone mineral levels of US adults." Osteoporos Int **5**(5): 389-409.
- Lopez Miguel, C., B. Sicilia, et al. (1999). "[Incidence of inflammatory bowel disease in Aragon: outcome of a prospective population-based study]." Gastroenterol Hepatol **22**(7): 323-8.
- Louis, E., A. Collard, et al. (2001). "Behaviour of Crohn's disease according to the Vienna classification: changing pattern over the course of the disease." Gut **49**(6): 777-82.
- Lubberts, E., L. van den Bersselaar, et al. (2003). "IL-17 promotes bone erosion in murine collagen-induced arthritis through loss of the receptor activator of NF-kappa B ligand/osteoprotegerin balance." J Immunol **170**(5): 2655-62.
- Manolagas, S. C. (2000). "Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis." Endocr Rev **21**(2): 115-37.
- Marshall, D., O. Johnell, et al. (1996). "Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures." Bmj **312**(7041): 1254-9.
- Martínez, N., F. López-Rodríguez, et al. (2001). "Factores relacionados con la pérdida de masa ósea en pacientes diagnosticados de enfermedad inflamatoria intestinal." Endocrinología **48** (Supl. 2)

45-46.

- Mauro, M., V. Radovic, et al. (2007). "Improvement of lumbar bone mass after infliximab therapy in Crohn's disease patients." Can J Gastroenterol **21**(10): 637-42.
- Meijer, M. J., M. A. Mieremet-Ooms, et al. (2007). "Effect of the anti-tumor necrosis factor-alpha antibody infliximab on the ex vivo mucosal matrix metalloproteinase-proteolytic phenotype in inflammatory bowel disease." Inflamm Bowel Dis **13**(2): 200-10.
- Miheller, P., G. Muzes, et al. (2007). "Changes of OPG and RANKL concentrations in Crohn's disease after infliximab therapy." Inflamm Bowel Dis **13**(11): 1379-84.
- Miheller, P., M. Toth, et al. (2001). "[Serum bone marker measurements in bone metabolism disorders associated with inflammatory bowel diseases]." Orv Hetil **142**(29): 1557-60.
- Miller, P. D., M. C. Hochberg, et al. (2005). "How useful are measures of BMD and bone turnover?" Curr Med Res Opin **21**(4): 545-54.
- Moschen, A. R., A. Kaser, et al. (2005). "The RANKL/OPG system is activated in inflammatory bowel disease and relates to the state of bone loss." Gut **54**(4): 479-87.
- Motley, R. J., E. O. Crawley, et al. (1988). "Increased rate of spinal trabecular bone loss in patients with inflammatory bowel disease." Gut **29**(10): 1332-6.
- Munteis-Olivas, E., C. Perez-Garcia, et al. (2005). "[Multiple sclerosis after treatment with anti-TNF-alpha antibodies]." Med Clin (Barc) **125**(19): 759.
- Muñoz Torres, M., G. Alonso, et al. (2003). "Prevención y tratamiento de la osteoporosis." Endocrinología y Nutrición **50**(1): 1-7.
- Murphy, M. G., S. Weiss, et al. (2001). "Effect of alendronate and MK-677 (a growth hormone secretagogue), individually and in combination, on markers of bone turnover and bone mineral density in postmenopausal osteoporotic women." J Clin Endocrinol Metab **86**(3): 1116-25.
- Nanes, M. S. (2003). "Tumor necrosis factor-alpha: molecular and cellular mechanisms in skeletal pathology." Gene **321**: 1-15.
- Nash, P. T. and T. H. Florin (2005). "Tumour necrosis factor inhibitors." Med J Aust **183**(4): 205-8.
- Naves, M., J. B. Diaz-Lopez, et al. (2005). "Determinants of incidence of osteoporotic fractures in the female Spanish population older than 50." Osteoporos Int **16**(12): 2013-7.
- Naves, M., J. B. Diaz-Lopez, et al. (2005). "Prevalence of osteoporosis in men and determinants of changes in bone mass in a non-selected Spanish population." Osteoporos Int **16**(6): 603-9.
- NIH, C. (2001). "NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy." Jama **285**(6): 785-95.
- Odell, W. D. (1996). "Testosterone treatment of men treated with glucocorticoids." Arch Intern Med **156**(11): 1133-4.

- Ott, S. M., A. Oleksik, et al. (2002). "Bone histomorphometric and biochemical marker results of a 2-year placebo-controlled trial of raloxifene in postmenopausal women." J Bone Miner Res **17**(2): 341-8.
- Parfitt, A. M. (2002). "Targeted and nontargeted bone remodeling: relationship to basic multicellular unit origination and progression." Bone **30**(1): 5-7.
- Parra Ruiz, J., N. Ortego Centeno, et al. (2003). "Development of tuberculosis in a patient treated with infliximab who had received prophylactic therapy with isoniazid." J Rheumatol **30**(7): 1657-8.
- Pavalko, F. M., S. M. Norvell, et al. (2003). "A model for mechanotransduction in bone cells: the load-bearing mechanosomes." J Cell Biochem **88**(1): 104-12.
- Pazianas, M., A. D. Rhim, et al. (2006). "The effect of anti-TNF-alpha therapy on spinal bone mineral density in patients with Crohn's disease." Ann N Y Acad Sci **1068**: 543-56.
- Pigot, F., C. Roux, et al. (1992). "Low bone mineral density in patients with inflammatory bowel disease." Dig Dis Sci **37**(9): 1396-403.
- Pollack, R., F. Karmelli, et al. (1998). "Femoral neck osteopenia in patients with inflammatory bowel disease." Am J Gastroenterol **93**: 1483-90.
- Pollak, R. D., F. Karmeli, et al. (1998). "Femoral neck osteopenia in patients with inflammatory bowel disease." Am J Gastroenterol **93**(9): 1483-90.
- Quint, A. R. and F. E. Kaiser (1985). "Gonadotropin determinations and thyrotropin-releasing hormone and luteinizing hormone-releasing hormone testing in critically ill postmenopausal women with hypothyroxinemia." J Clin Endocrinol Metab **60**(3): 464-71.
- Raisz, L. G. (2005). "Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects." J Clin Invest **115**(12): 3318-25.
- Ramos-Casals, M., P. Brito-Zeron, et al. (2007). "Autoimmune diseases induced by TNF-targeted therapies: analysis of 233 cases." Medicine (Baltimore) **86**(4): 242-51.
- Recker, R. R. and M. J. Barger-Lux (2004). "The elusive concept of bone quality." Curr Osteoporos Rep **2**(3): 97-100.
- Reffitt, D. M., J. Meenan, et al. (2003). "Bone density improves with disease remission in patients with inflammatory bowel disease." Eur J Gastroenterol Hepatol **15**(12): 1267-73.
- Riggs, B. L., S. Khosla, et al. (2002). "Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton." Endocr Rev **23**(3): 279-302.
- Riis, B. J., J. Ise, et al. (2001). "Ibandronate: a comparison of oral daily dosing versus intermittent dosing in postmenopausal osteoporosis." J Bone Miner Res **16**(10): 1871-8.
- Ritchlin, C. T., S. A. Haas-Smith, et al. (2003). "Mechanisms of TNF-alpha and RANKL-mediated osteoclastogenesis and bone resorption in psoriatic arthritis." J Clin Invest **111**(6): 821-31.

- Robinson, R. J., F. al-Azzawi, et al. (1997). "The relation of hand skin-fold thickness to bone mineral density in patients with Crohn's disease." Eur J Gastroenterol Hepatol **9**(10): 945-9.
- Robinson, R. J., S. J. Iqbal, et al. (1998). "Increased bone resorption in patients with Crohn's disease." Aliment Pharmacol Ther **12**(8): 699-705.
- Rodrigo, L., S. Riestra, et al. (2004). "A population-based study on the incidence of inflammatory bowel disease in Oviedo (Northern Spain)." Rev Esp Enferm Dig **96**(5): 296-305.
- Rogers, A. and R. Eastell (2005). "Circulating osteoprotegerin and receptor activator for nuclear factor kappaB ligand: clinical utility in metabolic bone disease assessment." J Clin Endocrinol Metab **90**(11): 6323-31.
- Rogers, A., G. Saleh, et al. (2002). "Circulating estradiol and osteoprotegerin as determinants of bone turnover and bone density in postmenopausal women." J Clin Endocrinol Metab **87**(10): 4470-5.
- Rosen, C. J. (2005). "Clinical practice. Postmenopausal osteoporosis." N Engl J Med **353**(6): 595-603.
- Rothfuss, K. S., E. F. Stange, et al. (2006). "Extraintestinal manifestations and complications in inflammatory bowel diseases." World J Gastroenterol **12**(30): 4819-31.
- Roux, C., P. Garnero, et al. (2005). "Recommendations for monitoring antiresorptive therapies in postmenopausal osteoporosis." Joint Bone Spine **72**(1): 26-31.
- Roy, D. K., T. W. O'Neill, et al. (2003). "Determinants of incident vertebral fracture in men and women: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS)." Osteoporos Int **14**(1): 19-26.
- Ryan, B. M., M. G. Russel, et al. (2004). "Effect of antitumour necrosis factor-alpha therapy on bone turnover in patients with active Crohn's disease: a prospective study." Aliment Pharmacol Ther **20**(8): 851-7.
- Sanchez-Cano, D., J. L. Callejas-Rubio, et al. (2006). "Urticaria and angioedema in a patient with Behcet's disease treated with adalimumab." Clin Exp Rheumatol **24**(5 Suppl 42): S128.
- Sands, B. E. (2004). "From symptom to diagnosis: clinical distinctions among various forms of intestinal inflammation." Gastroenterology **126**(6): 1518-32.
- Saro Gismera, C., M. Lacort Fernandez, et al. (2000). "[Incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in Gijon, Asturias, Spain]." Gastroenterol Hepatol **23**(7): 322-7.
- Sawczenko, A. and B. K. Sandhu (2003). "Presenting features of inflammatory bowel disease in Great Britain and Ireland." Arch Dis Child **88**(11): 995-1000.
- Schoon, E. J., M. C. Muller, et al. (2001). "Low serum and bone vitamin K status in patients with longstanding Crohn's disease: another pathogenetic factor of osteoporosis in Crohn's disease?" Gut **48**(4): 473-7.

- Schulte, C., A. U. Dignass, et al. (1998). "Reduced bone mineral density and unbalanced bone metabolism in patients with inflammatory bowel disease." Inflamm Bowel Dis **4**(4): 268-75.
- Schwartz, D. A., E. V. Loftus, Jr., et al. (2002). "The natural history of fistulizing Crohn's disease in Olmsted County, Minnesota." Gastroenterology **122**(4): 875-80.
- Seibel, M. J. (2003). "Biochemical markers of bone remodeling." Endocrinol Metab Clin North Am **32**(1): 83-113, vi-vii.
- Shivananda, S., J. Lennard-Jones, et al. (1996). "Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD)." Gut **39**(5): 690-7.
- Siffledeen, J. S., K. Siminoski, et al. (2007). "Vertebral fractures and role of low bone mineral density in Crohn's disease." Clin Gastroenterol Hepatol **5**(6): 721-8.
- Siffledeen, J. S., K. Siminoski, et al. (2003). "The frequency of vitamin D deficiency in adults with Crohn's disease." Can J Gastroenterol **17**(8): 473-8.
- Silvennoinen, J., L. Risteli, et al. (1996). "Increased degradation of type I collagen in patients with inflammatory bowel disease." Gut **38**(2): 223-8.
- Silvennoinen, J. A., T. J. Karttunen, et al. (1995). "A controlled study of bone mineral density in patients with inflammatory bowel disease." Gut **37**(1): 71-6.
- Simonet, W. S., D. L. Lacey, et al. (1997). "Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density." Cell **89**(2): 309-19.
- Sornay-Rendu, E., F. Munoz, et al. (2005). "Rate of forearm bone loss is associated with an increased risk of fracture independently of bone mass in postmenopausal women: the OFELY study." J Bone Miner Res **20**(11): 1929-35.
- Sornay-Rendu, E., F. Munoz, et al. (2005). "Identification of osteopenic women at high risk of fracture: the OFELY study." J Bone Miner Res **20**(10): 1813-9.
- Sosa Henriquez, M. and A. Díez Pérez (2006). "Osteoporosis. Concepto. Etiopatogenia. Clínica." Medicine **9**(Extr. 1): 8-14.
- Spoetl, T., M. Hausmann, et al. (2007). "Serum soluble TNF receptor I and II levels correlate with disease activity in IBD patients." Inflamm Bowel Dis **13**(6): 727-32.
- Srivastava, A. K., E. L. Vliet, et al. (2005). "Clinical use of serum and urine bone markers in the management of osteoporosis." Curr Med Res Opin **21**(7): 1015-26.
- Staun, M., L. Tjellesen, et al. (1998). "Bone mineral density in patients with Crohn's disease." Scand J Gastroenterol **93**: 1483-90.

- Stepan, J. J. (2003). "Clinical utility of bone markers in the evaluation and follow-up of osteoporotic patients: why are the markers poorly accepted by clinicians?" J Endocrinol Invest **26**(5): 458-63.
- Stroup, G. B., S. J. Hoffman, et al. (2001). "Changes in bone turnover following gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist administration and estrogen treatment in cynomolgus monkeys: a short-term model for evaluation of antiresorptive therapy." Bone **28**(5): 532-7.
- Szulc, P., L. C. Hofbauer, et al. (2001). "Osteoprotegerin serum levels in men: correlation with age, estrogen, and testosterone status." J Clin Endocrinol Metab **86**(7): 3162-5.
- Takayanagi, H. (2005). "Mechanistic insight into osteoclast differentiation in osteoimmunology." J Mol Med **83**(3): 170-9.
- Teitelbaum, S. L. (2000). "Bone resorption by osteoclasts." Science **289**(5484): 1504-8.
- Thayu, M., M. B. Leonard, et al. (2008). "Improvement in biomarkers of bone formation during infliximab therapy in pediatric Crohn's disease: results of the REACH study." Clin Gastroenterol Hepatol **6**(12): 1378-84.
- Tilg, H., A. R. Moschen, et al. (2008). "Gut, inflammation and osteoporosis: basic and clinical concepts." Gut **57**(5): 684-94.
- Turk, N., S. Cukovic-Cavka, et al. (2009). "Proinflammatory cytokines and receptor activator of nuclear factor kappaB-ligand/osteoprotegerin associated with bone deterioration in patients with Crohn's disease." Eur J Gastroenterol Hepatol **21**(2): 159-66.
- van Leeuwen, J. P., M. van Driel, et al. (2001). "Vitamin D control of osteoblast function and bone extracellular matrix mineralization." Crit Rev Eukaryot Gene Expr **11**(1-3): 199-226.
- van Staa, T. P., H. G. Leufkens, et al. (2000). "Oral corticosteroids and fracture risk: relationship to daily and cumulative doses." Rheumatology (Oxford) **39**(12): 1383-9.
- van Staa, T. P., H. G. Leufkens, et al. (2002). "Does a fracture at one site predict later fractures at other sites? A British cohort study." Osteoporos Int **13**(8): 624-9.
- Vestergaard, P., K. Krogh, et al. (2000). "Fracture risk is increased in Crohn's disease, but not in ulcerative colitis." Gut **46**(2): 176-81.
- Wagner, A. D., J. Andresen, et al. (2002). "Sustained response to tumor necrosis factor alpha-blocking agents in two patients with SAPHO syndrome." Arthritis Rheum **46**(7): 1965-8.
- Watts, N. B., D. K. Jenkins, et al. (2001). "Comparison of bone and total alkaline phosphatase and bone mineral density in postmenopausal osteoporotic women treated with alendronate." Osteoporos Int **12**(4): 279-88.
- Weber, T. J. and M. K. Drezner (2001). "Effect of alendronate on bone mineral density in male idiopathic osteoporosis." Metabolism **50**(8): 912-5.

- WHO (1994). World Health Organisation. Assessment of fractures risk in screening for osteoporosis. WHO technical report series 843. Geneva, WHO.
- Wijbrandts, C. A., R. Klaasen, et al. (2009). "Bone mineral density in rheumatoid arthritis patients 1 year after adalimumab therapy: arrest of bone loss." Ann Rheum Dis **68**(3): 373-6.
- Winkler, D. G., M. K. Sutherland, et al. (2003). "Osteocyte control of bone formation via sclerostin, a novel BMP antagonist." Embo J **22**(23): 6267-76.
- Wollina, U., G. Hansel, et al. (2008). "Tumor necrosis factor-alpha inhibitor-induced psoriasis or psoriasiform exanthemata: first 120 cases from the literature including a series of six new patients." Am J Clin Dermatol **9**(1): 1-14.
- Yano, K., E. Tsuda, et al. (1999). "Immunological characterization of circulating osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor: increased serum concentrations in postmenopausal women with osteoporosis." J Bone Miner Res **14**(4): 518-27.
- Yasuda, H., N. Shima, et al. (1998). "Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro." Endocrinology **139**(3): 1329-37.
- Zaidi, M., H. C. Blair, et al. (2003). "Osteoclastogenesis, bone resorption, and osteoclast-based therapeutics." J Bone Miner Res **18**(4): 599-609.
- Zaidi, M., B. S. Moonga, et al. (2002). "Calcitonin and bone formation: a knockout full of surprises." J Clin Invest **110**(12): 1769-71.
- Ziolkowska, M., M. Kurowska, et al. (2002). "High levels of osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor kappa B ligand in serum of rheumatoid arthritis patients and their normalization after anti-tumor necrosis factor alpha treatment." Arthritis Rheum **46**(7): 1744-53.
- Zwerina, J., S. Hayer, et al. (2004). "Single and combined inhibition of tumor necrosis factor, interleukin-1, and RANKL pathways in tumor necrosis factor-induced arthritis: effects on synovial inflammation, bone erosion, and cartilage destruction." Arthritis Rheum **50**(1): 277-90.