



# UNIVERSIDAD DE GRANADA

Programa de Doctorado en Medicina Clínica y Salud Pública

Tesis Doctoral

**ESCLEROSTINA COMO  
BIOMARCADOR SÉRICO DE  
ATEROSCLEROSIS SUBCLINICA EN  
PACIENTES CON LUPUS  
ERITEMATOSO SISTÉMICO**

Carlos García de los Ríos

Dirigida por Dr. D. José Mario Sabio Sánchez

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales  
Autor: Carlos García de los Ríos  
ISBN: 978-84-1117-751-1  
URI: <https://hdl.handle.net/10481/80706>





## AGRADECIMIENTOS

Sin lugar a dudas, esta Tesis Doctoral va dedicada a José Mario Sabio, Director de este proyecto y apreciado compañero. Este trabajo, del cual ha sido ideólogo y motor para superar todos los obstáculos que se han presentado en el camino, no habría llegado a puerto sin ti. Por ello te estaré siempre agradecido. En estos tiempos, te deseo toda la fuerza y ánimo para superar cuanto antes los nuevos retos a los que te enfrentas, sabiendo que siempre podrás contar conmigo.

Por supuesto, gracias sin excepción a todos los compañeros del servicio de Medicina Interna, porque siempre me habéis apoyado y me habéis hecho sentir que tengo un hogar en el que refugiarme en el hospital. Quiero agradecer de esta forma a todas y todos los compañeros auxiliares y de enfermería, especialmente de la novena y cuarta planta, que siempre han respondido con una sonrisa cuando les pedía algún favor relacionado con este trabajo, y que siempre hacen un poquito mejor el día a día. Raquel, Caro, Sebas, Susana, Eli, María Jesús, Esther, Caty, Rosa, Maribel, Estrella, Poten, y un largo etcétera siendo imposible nombrar a todos, gracias de veras.

También quiero destacar como parte fundamental del servicio y como ayuda totalmente inestimable para llevar a cabo este proyecto, a Fernando y Rafa, los secretarios y organizadores, que siempre han estado ahí cuando los he necesitado. Quiero agradecer también a todas las compañeras auxiliares de las distintas consultas que participaron en este trabajo, personificadas en Ana, Patro y Conchi.

Por supuesto, destacar la figura de nuestro Jefe de Servicio, Juan Diego Mediavilla, que me ha permitido llevar a cabo este proyecto de investigación ofreciéndome siempre sus consejos, su ánimo y consiguiendo las fórmulas para que pueda seguir siendo parte de esta casa.

Gracias a todos los compañeros médicos del servicio. Imposible nombrarlos a todos personalmente, pero quiero agradecer a Isabel Sánchez por su papel como residente mayor, por ayudarme con este proyecto y saber que puedo contar con ella. A Antonio Díaz, por ser parte de este trabajo, y haber realizado todas las ecografías que fueron necesarias, siempre con la mejor disposición. A Lucía Cantero, por su ejemplo, alegría y ejercer muchas veces de guía en todo este trabajo. Y, por supuesto, a José Vargas, por sus consejos y por contar siempre conmigo en sus proyectos, por tener esa capacidad de buscar lo mejor de mí y por tener la paciencia de esperarlo.

También agradecer a los compañeros que actualmente conforman la unidad de Medicina Interna del Hospital de Neurotraumatología. Especialmente a Ramiro y Pepe, por ser compañeros excepcionales de práctica asistencial y jamón.

En esta línea, quiero destacar también a toda la Unidad de HTA y Riesgo Vascular, por hacerme sentir siempre parte del equipo y, por supuesto, por permitirme disponer de su consulta para el estudio. A Fernando Jaén agradecerle siempre su papel como tutor y

amigo, y por llenar nuestra profesión no únicamente de ciencia, de la cual también profesa, sino también de una gran humanidad. A Pablo González y Ricardo Roa por ser los impares, compañeros de incontables batallas, amigos de profesión y de vida, y espejos mayores en los que siempre he intentado mirarme para intentar ser un poco mejor cada día.

No puedo dejar de agradecer a todas las pacientes que han participado en este trabajo por su disponibilidad y su trato para llevar a cabo esta investigación, algunas con una larga experiencia en estudios previos, y que siguen ofreciéndose sin dudar para intentar mejorar la atención de esta enfermedad. También quiero agradecer a todas las amigas, familiares y compañeras que se ofrecieron para ser los controles sanos y que siempre estuvieron dispuestas a colaborar.

Gracias de veras a Marta Medina Casado, enfermera de este estudio, por su disponibilidad y por ser una excepcional compañera de trabajo, facilitando la organización a pesar de las dificultades y siempre con la mejor de las sonrisas.

Mi agradecimiento más especial es para el Dr. Pablo Lardelli Claret porque sin él hubiera sido imposible completar este proyecto de Tesis Doctoral. No sólo por su sapiencia epidemiológica y por su infinita paciencia conmigo, sino también por el cariño paternal mostrado en todo momento y la facilidad con la que he podido abusar de su confianza siempre que lo he necesitado. De veras gracias.

Por último, quiero agradecer a mi familia. A todos los que viven en Antequera y me han hecho sentir en casa desde el mismo día que llegué. Especialmente destacar a Paco y Yayi, a Espe y Curro, "abus" y "titis", porque he ganado unos padres y unos hermanos, como jamás me había imaginado. Y, por supuesto, al resto del "clan" Sierras-Jiménez.

A mis abuelos, que ya no están y que siempre han cuidado de mí, regalándome lo mejor de cada uno de ellos.

A mi hermana Mar, por ser tan auténtica y enseñarnos que no siempre el camino es recto, y que las curvas también se pueden disfrutar y hacernos mejores. Gracias por estar siempre ahí. A mis padres, Ana y Manolo, gracias por lo afortunado que me habéis hecho ser y regalarme esta vida maravillosa, ahora empiezo a entender lo difícil que es.

A Carlos y el futuro, esos seres que han tambaleado los cimientos de todo y llenado mi vida de sentido y amor, gracias por hacer que cada día quiera ser la mejor versión de mí para que la podáis ver. Y gracias a mi compañera de la vida, a ti María, sabes que esto sería imposible sin ti, y no me refiero sólo a este proyecto, sino a mi propia felicidad. Gracias por cada segundo a tu lado.



## RESUMEN

En las últimas décadas, se ha observado una mayor incidencia de enfermedad cardiovascular en los pacientes con lupus eritematoso sistémico. El aumento de esta incidencia cobra aún mayor importancia en el intervalo de edad donde es más frecuente esta enfermedad, es decir, en mujeres en edad fértil. Al tratarse de una población minoritaria y joven, las escalas que utilizamos de forma habitual para valorar el riesgo cardiovascular fallan a la hora de identificar qué pacientes tienen más probabilidades de tener un evento. En este sentido, numerosos estudios apuntan a la necesidad de generar nuevos algoritmos donde intervengan formas de identificar la aterosclerosis subclínica y nuevos biomarcadores que puedan suplir en las escalas clásicas al factor determinante que es la edad. En este sentido, la esclerostina es un marcador precoz de calcificación vascular que se ha testado de forma eficaz en distintos grupos poblaciones.

Este trabajo establece, por primera vez, que la esclerostina puede ser un biomarcador fiable de aterosclerosis subclínica en pacientes con lupus eritematoso sistémico. Además, hemos analizado qué factores de riesgo cardiovascular clásicos o derivados directamente de la propia enfermedad puedan estar detrás de dicha relación. También, hemos objetivado una mayor concentración de esclerostina en la población con lupus que no se explica completamente atendiendo sólo al riesgo cardiovascular, pudiendo tratarse de un factor implicado en el eje óseo-vascular que se suele ver afectado en los pacientes con lupus eritematoso sistémico, y abriendo la puerta a futuras investigaciones para intentar descubrir los mecanismos fisiopatológicos que aumentan la calcificación vascular de estos pacientes.



## ÍNDICE

<b>Capítulo I. Introducción</b> .....	21
1. Historia del lupus eritematoso sistémico .....	22
2. Epidemiología del lupus eritematoso sistémico .....	23
3. Fisiopatología del lupus eritematoso sistémico	
3.1. Factores genéticos y epigenéticos .....	24
3.2. Factores ambientales .....	25
3.3. Factores hormonales .....	26
3.4. Patogenia .....	27
4. Manifestaciones clínicas del lupus eritematoso sistémico	
4.1 Mucocutáneas .....	28
4.2 Musculoesqueléticas .....	30
4.3 Hematológicas .....	30
4.4 Renales .....	31
4.5 Otras manifestaciones .....	33
5. Criterios de clasificación del lupus eritematoso sistémico .....	34
6. Tratamiento del lupus eritematoso sistémico .....	35
7. Pronóstico del lupus eritematoso sistémico .....	38
8. Riesgo cardiovascular en pacientes con lupus eritematoso sistémico	
8.1. La patogenia de la aterosclerosis .....	40
8.2. Factores de riesgo cardiovascular tradicionales o clásicos .....	42
8.3 Factores de riesgo cardiovascular asociados al lupus eritematoso sistémico .....	44
8.4. Estratificación del riesgo cardiovascular .....	48
8.5. Enfermedad cardiovascular subclínica .....	50

9. El remodelado óseo	
9.1 Concepto, etapas y utilidad .....	53
9.2 Vías fisiológicas fundamentales: osteoclastogénesis y osteoblastogénesis .....	55
9.3 Vía Wnt .....	57
9.4 DKK-1 .....	59
9.5 Esclerostina .....	59
9.6 Eje óseo-vascular .....	62
10. Esclerostina y riesgo cardiovascular .....	64
<b>Capítulo II. Justificación del estudio .....</b>	<b>67</b>
<b>Capítulo III. Hipótesis y Objetivos .....</b>	<b>71</b>
<b>Capítulo IV. Métodos .....</b>	<b>75</b>
1. Diseño del estudio .....	76
2. Ámbito del estudio .....	76
3. Poblaciones del estudio	
3.1. Serie de mujeres con LES .....	77
3.2. Serie de mujeres sin LES .....	77
3.3. Tamaños muestrales .....	79
4. Protocolo de recogida de información y variables del estudio	
4.1 Primera visita .....	80
4.2 Segunda visita .....	84
5. Análisis de los datos	
5.1 Estudio descriptivo .....	85
5.2 Estudio analítico	
5.2.1 Planteamiento del análisis .....	86
5.2.2 Técnicas de análisis .....	89

<b>Capítulo V. Resultados</b> .....	93
1. Descripción de las características de los casos y los controles incluidos en el estudio	
1.1. Características demográficas .....	94
1.2. Comorbilidad y tratamientos habituales .....	94
1.3. Características antropométricas y exploratorias .....	98
1.4. Características antropométricas, cardiovasculares y analíticas .....	101
2. Estudio analítico	
2.1. Objetivo principal: asociación entre los niveles de esclerostina y los marcadores de daño cardiovascular subclínico	
2.1.1 Asociación entre los distintos marcadores de daño cardiovascular subclínico empleados .....	104
2.1.2 Asociación entre los niveles de esclerostina y la presencia de placa carotídea .....	106
2.1.3 Asociación entre los niveles de esclerostina y la velocidad de onda de pulso .....	107
2.1.3 Asociación entre los niveles de esclerostina y el grosor de íntima media .....	109
2.2. Objetivos secundarios	
2.2.1. Primero: Asociación entre la presencia de LES y los marcadores de daño cardiovascular subclínico .....	111
2.2.2. Segundo: Asociación entre los factores de riesgo cardiovascular propios del lupus y los marcadores de daño cardiovascular subclínico .....	114
2.2.3. Tercero: Asociación del lupus con los valores de esclerostina .....	117
2.2.4. Cuarto: Asociación de las características del lupus con los valores de esclerostina .....	119
2.2.5. Quinto: Cuantificación del posible efecto del lupus sobre la asociación de los niveles de esclerostina con los marcadores de daño cardiovascular subclínico .....	121

<b>Capítulo VI. Discusión</b> .....	123
1. Discusión de los resultados .....	124
2. Discusión de la metodología. Limitaciones del estudio. ....	129
3. Relevancia y aplicación práctica de los resultados. Propuestas de investigación. ....	131
<b>Capítulo VII. Conclusiones</b> .....	133
<b>Capítulo VIII. Bibliografía</b> .....	137
<b>Capítulo IX. Anexos</b> .....	159
1. Hoja de información al paciente y consentimiento informado .....	160
2. Cuaderno de recogida de datos que incluye el índice de actividad SLEDAI y el índice de cronicidad SLICC .....	163
3. Cuaderno de recogida de datos de controles .....	175
4. Aprobación del estudio por el Comité Ético de la Junta de Andalucía .....	181
<b>Capítulo X. Copia íntegra del trabajo publicado</b> .....	185



## GLOSARIO DE ABREVIATURAS

- ACR - American College of Rheumatology
- ACV - Accidente cerebrovascular
- ADN - Ácido desoxirribonucleico
- AINEs - Antiinflamatorios no esteroideos
- ANA - Anticuerpos antinucleares
- ApoB - Apolipoproteína B
- ARA-II - Antagonistas de los receptores de angiotensina II
- AUC - Área bajo la curva
- BMP - Proteínas morfogénicas óseas
- CA/C - Cociente albúmina/creatinina
- CMV - Citomegalovirus
- CT - Colesterol total
- DAG - Gráfico acíclico dirigido
- DHEA - Dehidroepiandrosterona
- DKK-1- Proteína relacionada con Dickkopf 1
- DM - Diabetes mellitus
- EAP - Enfermedad arterial periférica
- EC - Ecografía carotídea
- ECV - Eventos cardiovasculares
- ERC - Enfermedad renal crónica
- ESC - Sociedad Europea de Cardiología
- EULAR - Alianza Europea de Asociaciones de Reumatología
- FRCV - Factores de riesgo cardiovascular
- GC - Glucocorticoides
- GIM - Grosor de íntima media
- HCQ - Hidroxicloroquina
- HDL - Lipoproteínas de alta densidad
- HsTn - Troponina I ultrasensible
- HTA - Hipertensión arterial
- IAM - Infarto agudo de miocardio
- IC - Intervalo de confianza
- IECA - Inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina
- IFN – Interferón
- IL - Interleucina
- IMC - Índice de masa corporal
- IS - Inmunosupresores
- ITB - Índice tobillo-brazo
- LCA - Lupus cutáneo agudo
- LDL - Lipoproteínas de baja densidad
- LECS - Lupus eritematoso cutáneo subagudo
- LED - Lupus eritematoso discoide
- LES - Lupus eritematoso sistémico
- LRP - Receptores relacionados con las lipoproteínas de baja densidad
- MAPA - Monitorización ambulatoria de la presión arterial
- MDCS - Marcadores de daño cardiovascular subclínico
- NL - Nefritis lúpica
- OP - Objetivo primario
- OR - Odds ratio
- OS - Objetivo secundario
- PA - Presión arterial
- PAD - Presión arterial diastólica
- PAS - Presión arterial sistólica
- PC - Placa carotídea
- PCR - Proteína C reactiva
- PTH - Hormona paratiroidea
- RANKL - Activador del receptor del ligando del factor nuclear kB
- RCV - Riesgo cardiovascular
- RMN - Resonancia magnética nuclear
- ROC - Característica operativa receptor
- Síndrome antifosfolípido – SAF
- SLEDAI - Índice de actividad del lupus eritematoso sistémico
- SLICC - Índice de daño del lupus eritematoso sistémico
- Runx - Factor de transcripción de dominio *Runt*
- SD - Desviación estándar
- TAC - Tomografía axial computarizada
- TG - Triglicéridos
- TGF - Factor de crecimiento transformador
- TNF - Factor de necrosis tumoral
- VCAM - Moléculas de adhesión vascular
- VEB - Virus de Epstein-Barr
- VLDL - Lipoproteínas de muy baja densidad
- VOP - Velocidad de onda de pulso
- VOPd - Velocidad de onda de pulso dicotomizada
- VSG - Velocidad de sedimentación glomerular
- Wnt - Wingless-related integration site



**CAPÍTULO I:  
INTRODUCCIÓN**

## I. INTRODUCCIÓN

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune que puede dañar potencialmente cualquier órgano o sistema. La gran diversidad de manifestaciones clínicas se debe a la complejidad de los factores (genéticos, hormonales y ambientales) que la causan, así como a la gran diversidad de mecanismos que derivan finalmente en la expresión clínica. La multitud de campos que afecta hace que su estudio y tratamiento supongan un enorme reto científico en toda la práctica clínica, desde la investigación científica hasta la consulta médica (1).

### 1. Historia del lupus eritematoso sistémico

La palabra *lupus* proviene del latín y significa *lobo*, describiendo de esta forma las lesiones cutáneas agresivas que recuerdan en algunos casos a la mordedura producida por este animal. La primera vez que aparece escrita la enfermedad con este nombre data del siglo X en la biografía de San Martín, aunque es Hipócrates el que generalmente se ha considerado como el primero en describirla como la “dermatosis que roe”. Incluso en la Edad Media se llegó a suponer que los pacientes con LES eran personas capaces de transformarse en animales, evocando el antiguo mito de los hombres lobo (2). La primera descripción clara del lupus es de Laurent Theodore Bielt de la Escuela de Dermatología de París a principios del siglo XIX en el libro “*lupus erythematosus*” publicado en 1833, haciendo referencia a “*una condición rara, que aparece con mayor frecuencia en mujeres jóvenes que por lo demás están sanas y que ataca principalmente la cara. Manchas rojas redondas, ligeramente elevadas, del tamaño de un chelín, aumentan gradualmente de tamaño y, a veces, se extienden por la mayor parte de la cara. Los bordes de las manchas son prominentes y el centro, que conserva su color natural, está deprimido. Hay calor y enrojecimiento, pero no hay dolor ni picazón. Es esencialmente una afección crónica, aunque su apariencia indicaría lo contrario*” (3), tratándose claramente de la descripción del lupus discoide. No es hasta finales del siglo XIX cuando Moriz Kaposi de la Escuela de Medicina de Viena hace referencia a los síntomas sistémicos del lupus y finalmente Sir William Osler el que acuña el término *lupus eritematoso sistémico*, asociando las manifestaciones cutáneas con afectación de otros órganos como el corazón, el pulmón o

los riñones (4). Desde entonces, el progreso en el conocimiento de la etiopatogenia y los tratamientos han evolucionado de manera tan significativa que ha cambiado el curso evolutivo y el pronóstico de esta enfermedad, aunque son múltiples los retos que quedan pendientes y muy numerosos los campos de investigación abiertos.

## 2. Epidemiología del lupus eritematoso sistémico

La prevalencia y la incidencia de LES están aumentando en las últimas décadas de forma progresiva, probablemente debido a la mejora en la identificación de los casos más leves y al aumento de la supervivencia que alarga la duración de la enfermedad. En 2007, la incidencia en Estados Unidos era de 5,1 por cada 100.000 habitantes/año y la prevalencia de 52,2 por cada 100.000, aunque esta incidencia varía según la etnia y la localización geográfica. En determinadas razas como la afroamericana esta incidencia aumenta. El LES suele afectar a mujeres en edad fértil, con una ratio 9:1 con respecto a los hombres (5). En cuanto a la epidemiología en España el estudio EPISER2000 estimó una prevalencia de 91 casos por cada 100.000 habitantes en 1999. Este proyecto ha continuado, y recientemente se han publicado los resultados con los datos del EPISER2016 que estima la prevalencia en España en 210 casos por cada 100.000 habitantes (6).

Según los datos publicados por el proyecto Euro-lupus que realizó un seguimiento prospectivo de 30 años a una cohorte de 1000 pacientes de LES, la edad media de comienzo de los primeros síntomas fue 29 años, no siendo hasta dos años de media después, los 31 años, cuando los pacientes fueron categorizados como LES, cumpliendo los criterios clasificatorios de la American College of Rheumatology (ACR) (7). La tasa de mortalidad general entre los pacientes con LES ha mejorado drásticamente en los últimos 50 años, habiendo sido de hasta el 50% en la década de 1950, aumentando la tasa de supervivencia a los 10 años en todo el mundo a más del 90% desde la década de 1990. Sin embargo, la tasa de mortalidad es aún mayor entre los pacientes con LES que entre la población general, con tasas de mortalidad estandarizadas de 2-5 en los estudios epidemiológicos (8).

### 3. Fisiopatología del lupus eritematoso sistémico

El LES es una enfermedad autoinmune caracterizada por la producción de anticuerpos dirigidos contra autoantígenos que afectan comúnmente a la piel, riñón, aparato locomotor y al sistema hematopoyético, entre otros (1). Algunos de estos autoanticuerpos existen en un elevado porcentaje de la población, en personas sanas, sin que ello conlleve una evolución de enfermedad. Es por ello, que debe existir una pérdida de autotolerancia en la que se anule la capacidad de controlar la producción y la cualidad de los autoanticuerpos que lleve a la aparición de enfermedad. En este proceso de pérdida de autotolerancia están implicados tanto la predisposición genética como otros factores, como son ambientales, tales como la nutrición, las infecciones y las sustancias químicas, y los factores hormonales; sin embargo, no está claro cuánto y por qué mecanismos contribuyen cada uno de estos factores al desarrollo de la autoinmunidad (9).

#### 3.1 Factores genéticos y epigenéticos:

Los estudios de genes candidatos y las exploraciones de todo el genoma han tenido éxito en la identificación de nuevos loci que contribuyen a la susceptibilidad a la enfermedad. En conjunto, estos estudios han identificado y confirmado alrededor de 90 loci que contribuyen a la patogenia del LES. Estos datos resaltan la importancia de varias vías, incluidas las que involucran la activación y función de los linfocitos, la eliminación de complejos inmunes, la respuesta inmunitaria innata y las respuestas de la inmunidad adaptativa (10). La sobreexpresión de los genes en la vía del interferón (IFN), especialmente el IFN tipo I mediado por las células plasmocitoides dendríticas y el aumento en la producción del IFN- $\alpha$ , juegan un papel central en la susceptibilidad a la pérdida de la autotolerancia inmune (11). Existen, a su vez, polimorfismos genéticos específicos de la descendencia que pueden justificar la diferente expresión clínica de la misma enfermedad en distintas localizaciones geográficas o razas, tales como la proteína tirosina fosfatasa no receptora de tipo 22 (PTPN22) o proteína 3 inducida por alfa o A20 (TNFAIP3), entre muchos otros (11).

Además, en las últimas décadas, cada vez más pruebas han demostrado los roles de la desregulación epigenética en la patogenia de las enfermedades autoinmunes, especialmente el lupus eritematoso sistémico (LES), dando forma a una nueva era de la investigación en la autoinmunidad. En particular, la hipometilación del ácido desoxirribonucleico (ADN), la modificación de histonas aberrantes y la reactivación del cromosoma X son características epigenéticas del LES (12). Aún estamos lejos de poder aportar un enfoque más práctico-clínico a estos conocimientos, aunque se conoce que las alteraciones epigenéticas específicas en las enfermedades autoinmunes pueden proporcionar biomarcadores potenciales para estas patologías (13). Por ejemplo, el nivel de metilación del ADN del promotor IFI44L es sensible y específicamente menor en pacientes con nefritis lúpica (NL) (14). El alto coste, la baja disponibilidad general y la ausencia de base experimental hacen por el momento que estos biomarcadores no estén disponibles en la población general.

Por tanto, el LES tiene lugar cuando un individuo con susceptibilidad genética se encuentra con factores ambientales desencadenantes. Esto provoca la pérdida de la autotolerancia inmune al hacer que los linfocitos T reconozcan a los autoantígenos proporcionando ayuda a los linfocitos B autorreactivos, que finalmente son los encargados de producir el conjunto de autoanticuerpos que desarrollarán la enfermedad.

### 3.2 Factores ambientales:

La asociación de la aparición de LES con exposición a determinadas sustancias o circunstancias como la sílice, el tabaquismo, los anticonceptivos orales, la terapia hormonal posmenopáusica o la endometriosis, es positiva en distintos trabajos publicados, siendo esta la evidencia epidemiológica más fuerte en el momento actual. En otra dirección, estudios recientes también han proporcionado pruebas de la asociación entre consumo de alcohol y disminución del riesgo de LES. Otros factores que hipotéticamente pueden ser desencadenantes como la polución, la luz ultravioleta, las infecciones, las vacunas, los pesticidas o algunos metales pesados como el mercurio, presentan datos preliminares, contradictorios o insustanciales por el momento (15).

Aunque existen estudios contradictorios en cuanto a la asociación con el tabaco, un metanálisis reveló una relación positiva entre los fumadores activos y la aparición de LES, sin que existiera relación con los exfumadores (16). La exposición a los componentes tóxicos del tabaco puede inducir a estrés oxidativo y dañar de forma directa las proteínas endógenas y el ADN, conduciendo a mutaciones genéticas y a la activación de genes susceptibles induciendo al desarrollo de la enfermedad (17). En cuanto al alcohol, al igual que con el tabaco, los estudios individuales revelaban conflictos en cuanto a resultados, siendo un metanálisis de seis estudios de casos y controles el que demostró que el consumo moderado de alcohol tiene un efecto protector sobre el desarrollo del LES (18). Esto puede deberse a que el consumo habitual de esta sustancia induce a una disminución de la respuesta a los inmunógenos y a la supresión de la síntesis de citoquinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral (TNF), interleucina (IL) – 6 e IL-8 (19).

En cuanto a las infecciones, en particular las infecciones por virus de Epstein-Barr (VEB), parvovirus B19, retrovirus y citomegalovirus (CMV), podrían desempeñar un papel patogénico fundamental. Las interacciones multifacéticas entre las infecciones y la autoinmunidad revelan muchas posibilidades de asociaciones causales o protectoras (20). Se conoce que durante el curso agudo de una infección viral, bacteriana, parasitaria o fúngica se pueden dar situaciones aberrantes y alteraciones de los procesos fisiológicos y protectores del sistema inmunológico en sujetos genéticamente predispuestos (21). En general, se ha demostrado la asociación entre distintos procesos infecciosos, especialmente infecciones virales, con la aparición de LES. La pérdida de autotolerancia puede desencadenarse por mimetismo molecular entre las estructuras del huésped y del patógeno, en el contexto de la presencia conjunta de inmunocomplejos y fracciones virales o bacterianas. Sin embargo, se necesitan más investigaciones para dilucidar los mecanismos moleculares involucrados con el fin de desarrollar enfoques preventivos (22).

### 3.3 Factores hormonales:

El LES es una enfermedad mucho más prevalente en el sexo femenino, con una ratio 9:1, y con especial incidencia en los años fértiles. Tanto las hormonas sexuales como los factores asociados al cromosoma X parecen estar implicados en la disparidad

intersexos de la incidencia del LES. Los esteroides sexuales, que incluyen el 17- $\beta$ -estradiol, la testosterona, la prolactina, la progesterona y la dehidroepiandrosterona (DHEA), influyen en la regulación del sistema inmunológico y la gravedad de la enfermedad en pacientes con LES (15). Aunque está demostrado que existen relaciones causales o moduladoras entre el lupus y la actividad de la enfermedad con las distintas hormonas descritas previamente, el ciclo menstrual, la red tan compleja de retroalimentación de los sistemas hormonales, las conversiones hormonales constantes y las relaciones de la cronología biológica con el desarrollo complican de manera significativa la interpretación de las relaciones causa-efecto y el establecer una terapia inmunomoduladora dirigida a estas dianas (23).

### 3.4 Patogenia:

Aún falta mucho para conocer completamente la patogenia del LES, los distintos mecanismos de activación y de pérdida de autotolerancia, existiendo una gran variedad tanto en la expresión clínica como en la expresión molecular. En sujetos con predisposición genética un mecanismo “gatillo” inicia una cascada inflamatoria que finalmente se asocia con deficiencias a la hora de eliminar los restos de la apoptosis celular. Defectos en el aclaramiento apoptótico dan como resultado un acúmulo de restos intranucleares exponiendo un gran número de autoantígenos y generando un mayor riesgo de que fragmentos de partículas nucleares sean capturadas por células presentadoras de antígeno y que, a través de la interacción con linfocitos T y B, se desarrollen anticuerpos antinucleares (ANA), presentes en todos los pacientes con LES (24).

Los linfocitos T regulan las respuestas de las células B e infiltran los tejidos diana causando daño directo. Además, dichos linfocitos T, tienen varias anomalías bioquímicas en los pacientes con LES que les confieren un fenotipo hiperexcitable a pesar de presentar una defectuosa capacidad en la transcripción de genes. Esto da como resultado un tipo de linfocito peculiar con propiedades de células activadas/efectoras, por un lado, pero un estado anérgico por el otro (25). Todo ello se relaciona con un aumento de citoquinas estimuladoras de los linfocitos B (IL-6, IL-17, IL-18 o el TNF- $\alpha$ , entre otras) que están implicadas en la cascada inflamatoria que acaba en el daño tisular de los órganos diana

de los pacientes con LES (26). Estas moléculas se han convertido en posibles dianas terapéuticas (26).

En resumen, la patogenia del LES dista mucho de estar completamente explicada, quedando clara la gran complejidad de la misma, y teniendo implicación gran parte del sistema inmune en la evolución de la sintomatología. La presentación de autoantígenos, la predisposición genética para una respuesta anormal de los linfocitos T y la incapacidad de control de las citoquinas proinflamatorias parecen tener un papel determinante en el desarrollo de esta enfermedad.

#### 4. Manifestaciones clínicas del lupus eritematoso sistémico

Las manifestaciones clínicas del LES engloban un amplio y heterogéneo grupo de síntomas que pueden afectar a distintos órganos y sistemas. Los datos clínicos más frecuentes y que afectan a prácticamente la totalidad de los casos son también los síntomas más inespecíficos, como la fiebre o febrícula, la astenia, la anorexia y la pérdida de peso (27).

Entre las dianas más frecuentes y destacables de afectación en el LES destacamos las siguientes manifestaciones, recogidas en su mayoría en la Tabla 1 junto con la incidencia y prevalencia de las mismas:

##### 4.1 Mucocutáneas

Las manifestaciones cutáneas son las segundas en frecuencia en el LES tras las del aparato musculoesquelético. Clásicamente se han diferenciado entre "específicas" y "no-específicas" (28). Entre las específicas del LES se encuentran el lupus eritematoso discoide (LED) que se encuentra hasta en el 80% de los casos (29). Por otro lado, el lupus eritematoso cutáneo subagudo (LECS) se observa en aproximadamente el 15% de los casos, mientras que menos del 5% de los casos presentan otros tipos de LEC, como el lupus profundo. Las manifestaciones cutáneas inespecíficas del LES son amplias y

heterogéneas, como las úlceras orales, la alopecia no cicatricial y los diferentes tipos de manifestaciones vasculares asociadas de forma variable (fenómeno de Raynaud, livedo reticularis, entre otras) (30). En todas las afectaciones cutáneas del LES la fotosensibilidad juega un papel importante (31). En los nuevos criterios clasificatorios actualizados en 2019, las lesiones cutáneas se dividen en 4 subtipos, con diferentes puntuaciones entre ellas según el riesgo de estar presente en el lupus sistémico (alopecia no cicatricial - 2 puntos; úlceras bucales - 2 puntos, LED crónico o subagudo - 4 puntos; LECS - 6 puntos) (32).

Tabla 1. Síntomas y signos más frecuentes del LES a excepción de las manifestaciones hematológicas, y su prevalencia al diagnóstico y durante el curso evolutivo de la enfermedad, adaptado de la página web “*Clinical manifestations and diagnosis of systemic lupus erythematosus in adults – UpToDate*” (33).

Síntomas y signos	% al diagnóstico	% en la evolución
Artritis o artralgias	62 – 67	83 – 95
Piel	73	80 – 91
LED (rash malar)	28 – 38	48 – 54
Fotosensibilidad	29	41 – 60
Aftas orales	10 – 21	27 – 52
Alopecia	32	18 – 71
Fenómeno de Raynaud	17 – 33	22 – 71
Renal	16 – 38	34 – 73
Gastrointestinal	18	38 – 44
Pulmonar	2 – 12	24 – 50
Pleuritis	17	30 – 45
Derrame pleural		24
Neumonía		29
Cardíaca	15	20 – 46
Pericarditis	8	8 – 48
Linfadenopatía	7 – 16	21 – 50
Esplenomegalia	5	9 - 20
Hepatomegalia	2	7 - 25
Sistema nervioso central	12 – 21	25 – 75
Psicosis	1	5 – 52
Convulsiones	0,5	2 – 20

## 4.2 Musculoesqueléticas

Las articulaciones se ven afectadas hasta en el 95% de los pacientes con LES y la afectación articular puede ser el síntoma guía o de presentación en más del 50% de los casos (34). Esta afectación articular se caracteriza por tener una amplia heterogeneidad en los fenotipos y la gravedad, considerándose afectación desde la artralgia (dolor articular persistente sin evidencia de sinovitis) a la artropatía deformante (artropatía de Jaccoud) y la artritis erosiva. Debido a esta heterogeneidad, su inclusión en los criterios de clasificación ha sido siempre inconsistente, así como su utilidad en los índices de actividad de la enfermedad (35). El desarrollo de nuevas técnicas de imagen como la ecografía o la resonancia magnética están facilitando el diagnóstico, la diferenciación y el seguimiento de la afectación articular, aunque presentan problemas en la aplicación práctica al existir diferencias observador dependiente en el caso de la ecografía y poca accesibilidad por el tiempo y los costes económicos en el caso de la resonancia (36).

Al margen de las articulaciones, el resto de estructuras del aparato locomotor también pueden verse afectadas. Las tendinopatías, los nódulos subcutáneos y las necrosis avasculares óseas son más frecuentes que en la población general (34). Además, las mialgias y las miositis son afectaciones reconocidas propias del LES, pudiendo afectar según las series al 50-80% de los pacientes en el caso de las mialgias y al 5-11% en el caso de las miositis inflamatorias (37).

## 4.3 Hematológicas

Las manifestaciones hematológicas en el LES son frecuentes y diversas. Su frecuencia varía entre diferentes poblaciones (38). La mayoría de estas manifestaciones son causadas por una mayor destrucción periférica de células sanguíneas asociada con autoanticuerpos circulantes, aunque también pueden ser de etiología iatrógena o por otras enfermedades concomitantes. Las principales manifestaciones hematológicas del LES son la anemia, la leucopenia, la trombocitopenia y el síndrome antifosfolípido (SAF) (39). Estudios recientes han descrito que las relaciones entre neutrófilos-linfocitos y linfocitos-

plaquetas pueden ser a su vez predictoras del desarrollo serológico y de la afectación de diversos órganos implicados en el LES (40).

La anemia en el LES puede deberse al mismo proceso crónico, ser secundaria a la afectación renal, por hemorragia, hemólisis inducida por fármacos o de carácter autoinmune. Existen otras causas más raras de anemia secundaria al LES que incluyen la aplasia eritrocítica, la anemia aplásica y la anemia hemolítica microangiopática (41). Tanto la linfopenia como la neutropenia están asociadas a anticuerpos circulantes en la inmensa mayoría de los casos. En el caso de la trombopenia las causas también son variadas, pudiendo deberse a la presencia de autoanticuerpos antiplaquetarios, aunque también se ha asociado con otros trastornos que se han relacionado de forma secundaria con el LES como la púrpura trombótica trombocitopénica, la mielofibrosis autoinmune y el síndrome de activación macrofágica. Cuando coinciden en el mismo paciente el desarrollo de anemia hemolítica y trombopenia autoinmunes se conoce como síndrome de Evans (39).

El SAF puede ser primario si se presenta de forma aislada, o secundario si está asociado a otras enfermedades autoinmunes, de las cuales el LES es la principal. Se trata de una enfermedad autoinmune sistémica caracterizada por el desarrollo de trombosis venosa o arterial y/o morbilidad durante el embarazo, asociadas a la presencia confirmada de anticuerpos antifosfolípidos (42). Los anticuerpos antifosfolípidos incluidos actualmente en los criterios de clasificación son el anticoagulante lúpico, los anticuerpos anticardiolipina y los anti- $\beta$ 2 glicoproteína I (43).

#### 4.4 Renales

El LES presenta afectación renal en aproximadamente el 50% de los pacientes. La NL es un factor de riesgo importante de morbilidad y mortalidad general en el LES y, a pesar de las potentes terapias antiinflamatorias e inmunosupresoras, todavía provoca casos de enfermedad renal crónica (ERC) y terapia renal sustitutiva (44). El grado de afectación y la repercusión directa que tiene en la mortalidad y comorbilidad es muy dispar entre diferentes razas y etnias como demuestran los estudios que comparan la NL

en afroamericanos, caucásicos e hispanos en Estados Unidos, incluso tras realizar ajuste con los niveles socioeconómicos (45).

La proteinuria es el hallazgo guía presente en todas las NL, encontrándola en rango nefrótico hasta en el 50% de las ocasiones. La hematuria microscópica y los defectos tubulares son también frecuentes encontrándolos en un 80% y 70% respectivamente. La ERC aparecerá en un 60% de los casos. Otras complicaciones como la hipertensión arterial (HTA) que afecta al 30% y la glomerulonefritis rápidamente progresiva al 15% son menos frecuentes pero potencialmente muy graves (44). Es fundamental buscar y reconocer precozmente la NL porque cuanto antes se establezca el diagnóstico y se inicie el tratamiento, mejor es el pronóstico y el curso evolutivo del LES (46).

La Sociedad Internacional de Nefrología publicó en 2018 una actualización para definir mejor los subtipos histológicos de NL y los índices de actividad de la misma. Se propusieron mejoras en las definiciones que podrían afectar el tratamiento y el pronóstico, prestando especial importancia al concepto y diferenciación de la glomerulonefritis tipo III y IV, así como a los índices de puntuación de cronicidad y actividad (47). Estas nuevas indicaciones se han demostrado más fiables a la hora de valorar el grado de afectación y la actividad en las NL (48,49). A pesar de ello, la clasificación clásica que aún se utiliza en la práctica diaria es la que se realizó en 2003 (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación de los subtipos histológicos de NL, adaptado de "Parikh et al."(50).

<b>Categoría</b>	<b>Descripción</b>
Clase I	NL mesangial mínima
Clase II	NL proliferativa mesangial
Clase III	NL focal
Clase IV	NL focal difusa
Clase V	NL membranosa
Clase VI	NL con esclerosis

#### 4.5 Otras manifestaciones

Entre las *manifestaciones pulmonares* la más frecuente es la pleuritis que puede ocurrir hasta en el 30-45% de los casos acompañada a o no de derrame pleural. Conocer la prevalencia real de la afectación pulmonar es complicado por la alta incidencia de infecciones respiratorias que tienen lugar en el transcurso de la enfermedad (51). Al margen de la pleuritis, también puede darse la afectación secundaria al LES del parénquima pulmonar (neumonía lúpica, hemorragia alveolar masiva o la neumopatía intersticial crónica), el tromboembolismo pulmonar y la hipertensión pulmonar asociados a no al SAF, y el compromiso de la vía aérea dando un cuadro parecido a la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (52).

La pericarditis y las alteraciones valvulares son las *manifestaciones cardíacas* más predominantes. En un metanálisis la primera presentó 30 veces mayor riesgo de presentación en los pacientes con LES que en los controles sanos y una incidencia del 25,4% en una cohorte de 425 LES (53). Además de las manifestaciones puramente cardíacas, desde la mejora del tratamiento inmunosupresor y del control de las infecciones, la primera causa de mortalidad en el LES han pasado a ser las enfermedades cardiovasculares (8).

Las *manifestaciones neuropsiquiátricas* en el LES pueden ser causadas tanto por vasculitis como por autoanticuerpos, así como los propios mediadores inflamatorios de la enfermedad. La sintomatología es muy variada, así como la gravedad, pudiendo abarcar desde el dolor de cabeza a la meningitis aséptica. Las vasculitis del sistema nervioso central, los accidentes cerebrovasculares (ACV), los trastornos del movimiento, la enfermedad desmielinizante, la neuropatía periférica, la epilepsia y la psicosis también son afectaciones propias del LES aunque menos frecuentes (27).

El LES puede también presentar *manifestaciones oculares* afectando a la región periorbitaria, a los anexos oculares, al ojo y al nervio óptico. La asociación más común es la queratoconjuntivitis seca, mientras que las secuelas más devastadoras a nivel visual ocurren como consecuencia de la afectación del nervio óptico y la vaso-oclusión retiniana

(54). El diagnóstico y el tratamiento precoces son clave para evitar secuelas graves irreversibles. Además, se ha asociado un peor pronóstico en cuanto a mortalidad en aquellos pacientes con enfermedad vaso-oclusiva y retinitis (55).

A nivel de *manifestaciones gastrointestinales* el LES suele presentar síntomas inespecíficos como dolor abdominal, náuseas, anorexia y diarrea. Estos síntomas pueden ocurrir en aproximadamente el 50% de los pacientes y suelen tener un evento precursor como un episodio infeccioso o secundario a medicación (56). La entidad propia del LES es la enteritis lúpica. Las tres variantes principales de enteritis lúpica son la vasculitis mesentérica lúpica, la pseudoobstrucción intestinal y la enteropatía pierde-proteínas. El diagnóstico rápido y el tratamiento adecuado de la enteritis lúpica y otras manifestaciones gastrointestinales del LES son fundamentales, debido al potencial de complicaciones orgánicas y potencialmente mortales (57). La pancreatitis asociada al LES y las manifestaciones hepatobiliares son mucho menos frecuentes, siendo la colangitis esclerosante primaria la más típica de este último grupo (58).

## 5. Criterios de clasificación del lupus eritematoso sistémico

En el año 2019 hemos asistido a un cambio en el paradigma de los criterios de clasificación del LES. La Alianza Europea de Asociaciones de Reumatología (EULAR) y el ACR han revisado y actualizado los criterios de clasificación en base a la nueva evidencia científica. Estos nuevos criterios incluyen ANA positivos al menos una vez como criterio de entrada obligatorio. Además, se han establecido siete categorías clínicas (cuadro constitucional, hematológico, neuropsiquiátrico, mucocutáneo, seroso, musculoesquelético y renal) y tres dominios inmunológicos (anticuerpos antifosfolípidos, proteínas del complemento, anticuerpos específicos del LES) (Figura 1). Estos criterios están ponderados de forma cuantitativa 2 a 10 puntos clasificando los pacientes que acumulan  $\geq 10$  puntos. En la cohorte de validación, los nuevos criterios tenían una sensibilidad del 96,1% y una especificidad del 93,4%, en comparación con la sensibilidad del 82,8% y la especificidad del 93,4% de los criterios ACR (1997) y la sensibilidad del 96,7% y la especificidad del 83,7% de los criterios Systemic Lupus International Collaborating Clinics (2012) (32).

Figura 1. Adaptación de los criterios EULAR/ACR de 2019, de "Aringer et al." (32).

<b>Criterio de inclusión: ANA a un título <math>\geq</math> 1:80</b>	
En caso de estar ausente, no puede clasificarse como LES Si está presente, continuar con los criterios adicionales	
<b>Criterio clínico</b>	<b>Criterio inmunológico</b>
<b>Síntomas constitucionales</b> <i>Fiebre</i> 2	<b>Anticuerpos antifosfolípidos</b> <i>Anti-cardiolipina O</i> <i>Anti-<math>\beta</math>-glicoproteína O</i> <i>Anticoagulante lúpico</i> 2
<b>Hematológicos</b> <i>Leucopenia</i> 3 <i>Trombocitopenia</i> 4 <i>Hemólisis autoinmune</i> 4	
<b>Neuropsiquiátricos</b> <i>Delirium</i> 3 <i>Psicosis</i> 4 <i>Convulsión</i> 4	<b>Complemento</b> <i>C3 o C4 disminuidos</i> 3 <i>C3 y C4 disminuidos</i> 4
	<b>Anticuerpos específicos de LES</b> <i>anti-DNA O</i> <i>anti-Smith</i> 6
<b>Mucocutáneos</b> <i>Alopecia no cicatricial</i> 2 <i>Úlceras orales</i> 2 <i>LECS o LED</i> 4 <i>Lupus cutáneo agudo</i> 6	
<b>Serológicos</b> <i>Derrame pleural o pericárdico</i> 5 <i>Pericarditis aguda</i> 4	
<b>Musculoesqueléticos</b> <i>Afectación articular</i> 6	
<b>Renales</b> <i>Proteinuria <math>&gt;0,5g/24h</math></i> 4 <i>Clase II o V de NL</i> 8 <i>Clase III o IV de N</i> 10	
<b>Clasifica como LES si alcanza una puntuación <math>\geq</math> a 10 puntos</b>	

## 6. Tratamiento del lupus eritematoso sistémico

En primer lugar, el uso de medidas generales en todos los pacientes es fundamental. Entre estas medidas se encuentran la fotoprotección y evitar la

fotoexposición solar, vigilancia intensiva en situaciones de riesgo como el embarazo, las infecciones o con el uso de determinados fármacos, evitar el tabaco, control de factores de riesgo cardiovascular (FRCV) y la vacunación reglada de la gripe y el neumococo, entre otras. En la práctica clínica se utilizan una amplia variedad de medicamentos para tratar el LES. Entre estos se incluyen los glucocorticoides (GC), los antipalúdicos, los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), los fármacos inmunosupresores (IS) y los agentes biológicos. La hidroxiclороquina (HCQ) es la piedra angular del tratamiento del LES (27). El uso adecuado de estos medicamentos es altamente complejo ante la gran heterogeneidad y variabilidad clínica de esta enfermedad.

Desde hace unos años la estrategia que se persigue con el tratamiento en el LES es la de alcanzar un objetivo terapéutico (*treat to target*) siendo este objetivo la remisión completa de los síntomas sistémicos y de las manifestaciones orgánicas o, cuando la remisión no pueda ser posible, obtener la actividad de la enfermedad más baja posible, medida por un índice de actividad lúpica o por marcadores específicos de órganos (59). Para conseguir estos objetivos hay una serie de recomendaciones concretas que afectan tanto a los fármacos como al seguimiento de los casos de LES en la práctica clínica, actualizadas por la EULAR en 2019 (60).

Los *antipalúdicos*, entre los cuales destaca la HCQ, se recomiendan en todos los pacientes con LES. Existe evidencia de múltiples beneficios, entre los que se encuentran prevenir los brotes de lupus y aumentar la supervivencia a largo plazo de los pacientes con LES, la protección contra el daño orgánico irreversible, las trombosis y la pérdida de masa ósea. Además, la toxicidad relacionada con los antipalúdicos es poco frecuente, leve y generalmente reversible, siendo la HCQ el que tiene un perfil más seguro. En mujeres embarazadas, existen altos niveles de evidencia de que la HCQ disminuye la actividad del lupus sin dañar la gestación (61).

Los *glucocorticoides (GC)* son el tratamiento de elección para alcanzar una supresión rápida de los síntomas y de la actividad de la enfermedad en el momento de los brotes (60). A pesar de ello, el uso prolongado, especialmente a dosis de 7.5 mg/día o superior, se ha relacionado con efectos adversos incluyendo el daño orgánico irreversible

como la osteonecrosis, así como el riesgo de infección, de osteoporosis y de síndrome de apnea-hipoapnea del sueño (62,63). Para evitar el uso acumulativo de los corticoides se recomiendan actualmente dos estrategias: el uso de bolos iniciales a altas dosis para poder continuar a dosis más bajas el tratamiento de mantenimiento y el inicio de forma precoz de los fármacos IS para propiciar el ahorro de GC (64).

Los *inmunosupresores (IS)* tienen como grandes ventajas facilitar una desescalada más rápida de los GC y además prevenir secuelas orgánicas. La elección de qué IS utilizar dependerá de las manifestaciones clínicas, la gravedad del caso y de la situación de cada paciente. Los más utilizados son el metotrexate, la azatioprina y el micofenolato. Los dos primeros son de elección en caso de síntomas sistémicos refractarios a HCQ y GC, siendo ligeramente superior el metotrexate, pero la azatioprina segura durante el embarazo (65). En caso de afectación renal el micofenolato sería de elección, siempre con la precaución de evitar la gestación al menos 6 semanas después de su uso. En los casos más graves y refractarios los inhibidores de la calcineurina (ciclosporina) y la ciclofosfamida serían los fármacos de última línea sumado a todo lo anterior (60).

Los *agentes biológicos* son actualmente un gran campo de investigación que, dado el conocimiento progresivo de la fisiopatología de la enfermedad, ha ido desarrollando nuevas dianas terapéuticas, con la creación de distintas moléculas, aunque en la mayoría de las ocasiones no han prosperado tras los primeros ensayos clínicos (66,67). La evidencia actual posiciona al belimumab en el tratamiento de aquellos casos con sintomatología cutánea y musculoesquelética, sin afectación renal, con actividad serológica demostrada, y que sean refractarios al tratamiento con HCQ y GC. Este inhibidor específico de la estimulación de linfocitos B mejoró la actividad general de la enfermedad del LES en cuanto a la sintomatología musculoesquelética y mucocutánea más común, aunque no provocó la misma respuesta en los sistemas hematológico, inmunológico y renal (68). Los estudios de seguridad y supervivencia han demostrado la eficacia de su uso en la práctica clínica (69), aunque en nuestra evidencia aún estemos lejos de su uso habitual por su elevado coste y difícil acceso. El otro gran agente biológico es el rituximab, un anti CD20, que actualmente ha quedado relegado a última línea de tratamiento en aquellos pacientes con afectación grave renal o extrarrenal que no hayan

respondido a uno o varios IS además de GC, o que presenten contraindicación grave para alguno de ellos (60).

Hay que destacar algunas situaciones clínicas específicas como los pacientes con SAF clínico secundario al LES que requerirán un tratamiento crónico con antivitamina K (acenocumarol o warfarina), estando actualmente contraindicados los anticoagulantes de acción directa tras un ensayo clínico con rivaroxabán vs warfarina que hubo que suspender prematuramente por mayor número de trombosis en el brazo tratado con rivaroxabán (70). Los casos con afectación neuropsiquiátrica requerirán un abordaje multidisciplinar con un tratamiento acorde a la etiología de los síntomas, contemplando los factores predisponentes y los fármacos en función de la sintomatología que presente (antipsicóticos, ansiolíticos, etc) (60). Por último, los pacientes con afectación hematológica refractaria a pulsos de GC combinados con IS deberán tratarse con rituximab, tratamiento de elección en muchas otras patologías que afectan también al sistema hematológico, al haberse demostrado como seguro y eficaz a la hora de tratar las citopenias en el LES (71).

## 7. Pronóstico del lupus eritematoso sistémico

El pronóstico general del LES ha mejorado drásticamente en los últimos 50 años debido al progreso de los tratamientos IS y las terapias de apoyo, incluidos los antibióticos. Muchos pacientes con LES superan algunos períodos difíciles en su curso clínico, pero pueden llevar una vida normal con respecto a las distintas etapas vitales, asistiendo a la escuela, trabajando con regularidad e incluso a la hora de tener descendencia, en algunos casos con necesidad de ayuda especializada (66). Como se comentó previamente, la tasa de mortalidad general entre los pacientes con LES ha mejorado drásticamente, habiendo sido de hasta el 50% en la década de 1950 a una tasa de supervivencia a los 10 años en todo el mundo de más del 90% desde la década de 1990. Sin embargo, la tasa de mortalidad es aún mayor entre los pacientes con LES que entre la población general, con tasas de mortalidad estandarizadas de 2-5 en los estudios epidemiológicos (8).

En este estudio prospectivo llevado a cabo Thomas et *al.* en el Centro Epidemiológico de Francia entre el año 2000 y 2009 se evaluaron los certificados de defunción de las 1593 muertes de pacientes lúpicos. Entre las causas encontradas directamente relacionadas con el LES estaban las infecciones, el cáncer, el fallo renal y los eventos cardiovasculares (8). Aunque estudios previos habían catalogado las infecciones como la principal causa de muerte en pacientes con LES especialmente entre los jóvenes (72), nuevos estudios sitúan la enfermedad cardiovascular (ECV) como la primera causa global de muerte (7,8,73).

La misma inflamación y actividad residual de la enfermedad, el uso crónico de tratamientos como los GC y los IS, el daño irreversible de determinadas afectaciones diana, la predisposición a las infecciones y al desarrollo de otras comorbilidades de perfil más crónico como la ECV, hacen que estos pacientes, aún teniendo un aceptable control de su sintomatología, continúen teniendo una esperanza de vida menor que la población general. El buscar factores corregibles dentro de esta cascada es el futuro para empezar a cambiar esta situación. Entre todos ellos los FRCV clásicos y los derivados del propio LES tienen en el momento actual un lugar predominante dentro de los distintos campos de investigación de esta enfermedad, buscando formas de corregirlos y de detectar de forma precoz el daño silente establecido.

#### 8. Riesgo cardiovascular en pacientes con lupus eritematoso sistémico

La ECV es la primera causa de muerte en todo el mundo, tanto en hombres como en mujeres. Tradicionalmente, se ha asociado con un mayor riesgo cardiovascular (RCV) a la población masculina, aunque en los últimos años se ha intensificado el control y la prevención de la ECV también en las mujeres, prestando especial atención a las diferencias existentes y a la necesidad de estudios específicos (74,75). Existen evidencias en múltiples enfermedades autoinmunes de que el RCV está aumentado de forma significativa con respecto a la población general (76–81). En general, y en particular el caso del LES, se trata de enfermedades con mucha mayor prevalencia en el sexo femenino, por lo que esta corriente está llevando a buscar nuevas formas de disminuir el RCV corrigiendo factores asociados a estas enfermedades (74,81).

## 8.1 La patogenia de la aterosclerosis

La aterosclerosis es una enfermedad multifocal, latente e inmuno-inflamatoria de las arterias de mediano y gran calibre, fundamentalmente mediada por el metabolismo lipídico. Las células endoteliales, los leucocitos y las células del músculo liso de la íntima de las arterias son los principales actores en el desarrollo de esta enfermedad (82). En áreas endoteliales propensas a que se produzca alguna fuga, las lesiones ateroscleróticas comienzan a desarrollarse bajo la íntima, haciendo finalmente que las células endoteliales tiendan a desaparecer dejando el tejido subendotelial expuesto. Sobre este tejido, las lipoproteínas potencialmente aterogénicas como las lipoproteínas de baja densidad (LDL) son retenidas y modificadas mediante estrés oxidativo, induciéndolas a un estado citotóxico, proinflamatorio y proaterogénico. Muchos de los FRCV clásicos como el tabaco o la diabetes mellitus (DM) tienen un efecto directo en este inicio del proceso (83). La disfunción endotelial y la suma de las lipoproteínas aterogénicas lleva a la arteria a la pérdida de su capacidad anti-inflamatoria y anti-trombótica, provocando la proliferación de moléculas de adhesión como las moléculas de adhesión vascular (VCAM-1) y la activación de los linfocitos T y los monocitos, que pasarán a ser macrófagos, y serán los encargados de ir internalizando las lipoproteínas aterogénicas, generando la placa de ateroma. Además, la muerte de los macrófagos por apoptosis y necrosis contribuye a la formación de un núcleo rico en lípidos desestabilizador dentro de la placa conocido como estría grasa (82).

Por supuesto, esta no es una vía unidireccional, con multitud de factores pro y antiinflamatorios, y en la que el sistema inmune juega un papel decisivo al reconocer determinados antígenos como las LDL oxidadas mediante los linfocitos T que perpetúa y afianza la creación de la placa de ateroma (84). Se conoce, asimismo, que existe un proceso de calcificación vascular que guarda una gran similitud con el proceso de osteogénesis, en el que está implicado un eje óseo-vascular, y que tiene gran repercusión en el desarrollo de RCV subclínico (85). Finalmente, la proliferación crónica de las células musculares lisas de la íntima en respuesta a la agresión del endotelio provoca una pérdida del equilibrio, generando una fibrosis exagerada que puede volverse tan voluminosa y dominante que acaba disminuyendo la luz arterial, reduciendo el flujo sanguíneo e iniciando, de esta forma, el proceso isquémico (86).

El riesgo de desarrollar aterosclerosis clínica o subclínica está aumentado en los pacientes con LES. Este aumento no se explica únicamente atendiendo a una mayor incidencia de FRCV clásicos como el tabaco, la HTA, la DM o la hipercolesterolemia, sino sumando otra serie de factores propios de la enfermedad (87). En concreto, la incidencia tanto de infarto agudo de miocardio (IAM) como de angina crónica está 7 veces aumentada en los pacientes con LES con respecto a los controles sanos (88), y ésta aumenta hasta 50 veces si comparamos la franja de edad en la que más frecuentemente se presenta el LES, es decir, en mujeres entre 35 y 50 años, con mujeres de la misma franja de la cohorte de Framingham (89). En un estudio canadiense reciente con casi 5.000 casos de LES se ha objetivado una incidencia aumentada tanto de IAM como de ACV con respecto a controles sanos (90), y en otra revisión sistemática publicada en 2020 se confirma dicha tendencia (91). Además, está demostrado tanto en estudios de autopsia postmortem (92) como mediante técnicas no invasivas como la ecografía carotídea (EC) (93,94) o la velocidad de onda de pulso (VOP) (94–96) el aumento de la aterosclerosis subclínica en los pacientes con LES.

La razón por la que el LES es un factor de riesgo tan importante para la aterosclerosis y la ECV aún no ha sido completamente explicado. El estímulo constante de una inflamación sistémica de larga duración asociada con el LES persistentemente activo podría contribuir a la formación y alteración de la placa (87). Por otro lado, se ha encontrado que los pacientes con LES tienen una alta prevalencia de FRCV tradicionales como la HTA, el perfil lipídico alterado y DM (97,98). Esto puede estar explicado en cierta medida por el uso crónico de GC, aunque existen estudios contradictorios en cuanto a la relación entre el uso de los mismos y la ECV (87).

En conclusión, el aumento de aterosclerosis en el LES probablemente tenga un carácter multifactorial, en el cual se sumen la interacción entre el daño vascular directo derivado de los fenómenos inflamatorios asociados con el LES, como la vasculitis y el daño de las células endoteliales mediado por inmunocomplejos; secuelas directas del propio LES como la NL o el SAF; el aumento de FRCV clásicos inducidos por el tratamiento con GC como la hipercolesterolemia, la HTA, la DM o la obesidad; y otros factores independientes del LES, como el tabaquismo y los antecedentes familiares (88).

## 8.2 Factores de riesgo cardiovascular tradicionales o clásicos

El *metabolismo lipídico* es actualmente el factor y motor principal en la producción de la placa de ateroma. En el LES, la prevalencia de dislipidemia, entendiéndose por ello el aumento en las concentraciones del colesterol total (CT), de las LDL, de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), triglicéridos (TG) y apolipoproteína B (ApoB), o una reducción en los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL), son de aproximadamente un 30% al diagnóstico de LES, pudiendo aumentar hasta el 60% a los 3 años (99,100). La actividad de la enfermedad, la HTA y la NL se asocian de forma independiente con la elevación de LDL en el LES. Además, estos hallazgos se han demostrado también en la edad pediátrica (101).

De forma tradicional se ha atribuido mucha importancia al aumento de las VLDL en las fases de mayor actividad del LES (102). En la explicación de estas alteraciones se incluyen múltiples mecanismos patogénicos inmunomediados. Los autoanticuerpos y las citoquinas como el TNF- $\alpha$ , la IL-1 y el IFN-gamma son capaces de modular la actividad de la lipoproteína lipasa, una enzima clave en el metabolismo de los lípidos, generando un patrón lipídico específico del LES que se caracteriza por niveles elevados de CT, así como aumento significativo de VLDL y TG, con niveles más bajos de HDL. Este patrón favorece la oxidación de las LDL, que sumado a la actividad lesiva directa sobre el endotelio de los mismos anticuerpos e inmunocomplejos, favorece el depósito de las LDL oxidadas y, por tanto, acelera el proceso de aterosclerosis (103).

La *hipertensión arterial* es otro de los FRCV mayores que está aumentado en los pacientes con LES. Se conoce que la diferencia de incidencia con los controles sanos es aún mayor a menor edad (104). También se ha objetivado en los estudios con monitorización ambulatoria de la presión arterial (MAPA) que aprecian mayor incidencia de patrones patológicos nocturnos y de HTA (105).

Aún no se conocen completamente los mecanismos fisiopatológicos por los que se produce la HTA en el LES. Aunque el daño glomerular renal y la disfunción del endotelio vascular renal probablemente contribuyan a la misma, la HTA también está

presente en pacientes sin afectación renal (106). El uso de GC o AINEs y la actividad inflamatoria se han asociado de forma independiente con la HTA en el LES (104). Además, distintos mecanismos como el daño endotelial directo y la elevación de endotelina-1, que provoca vasoconstricción renal y retención de agua y sodio, están aumentados en el LES, así como una importante hiperactivación del sistema renina-angiotensina-aldosterona que perpetúa y acelera los mecanismos que propician la HTA en estos pacientes (107). En otros estudios se apunta a una relación con otros FRCV como los niveles de homocisteína (108).

El *metabolismo glucémico* es otro de los grandes FRCV clásicos que se ve alterado por la fisiopatología del LES. Existe una amplia evidencia de que la alteración de la glucemia basal y la DM tipo 2 están aumentadas en el LES, así como el riesgo de diabetes gestacional (109,110). Aunque hay casos de poliautoinmunidad, la incidencia de DM tipo 1 no está claramente aumentada con respecto a la población general, aunque su aparición conjunta empeora el pronóstico de esta población (111). En general, esta alteración del metabolismo glucémico se relaciona de manera determinante con la mayor prevalencia en el LES de síndrome metabólico con respecto a la población general y cuya clasificación se basa en cumplir una serie de criterios (Tabla 3) (97,112).

Tabla 3. Criterios de síndrome metabólico (debe cumplir 3 o más).

	<b>Mujeres</b>	<b>Hombres</b>
<b>Cintura</b>	≥ 88 cm	≥ 102 cm
<b>Glucemia</b>	≥ 100 mg/dl o en tratamiento	≥ 100 mg/dl o en tratamiento
<b>Triglicéridos</b>	≥ 150 mg/dl o en tratamiento	≥ 150 mg/dl o en tratamiento
<b>HDL colesterol</b>	< 50 mg/dl	< 40 mg/dl
<b>Presión arterial</b>	≥ 130 o ≥ 85 mmHg o en tratamiento antihipertensivo.	≥ 130 o ≥ 85 mmHg o en tratamiento antihipertensivo.

El eje central del síndrome metabólico es la obesidad o adiposidad visceral. Por ella, se genera un estado crónico de inflamación sistémica de bajo grado a través de la liberación de citoquinas proinflamatorias por parte de los adipocitos (adipoquinas). Estas citoquinas, que incluyen a factores similares a los activados por el metabolismo lipídico como el TNF- $\alpha$ , la IL-1, la IL-6, el inhibidor del activador del plasminógeno-1 y la proteína C reactiva (PCR), promueven la resistencia a la insulina, aumentando la glucosa y niveles de ácidos grasos libres, y activando el reclutamiento de monocitos. El desequilibrio entre las adipoquinas proinflamatorias y las antiinflamatorias en pacientes con síndrome metabólico es otro factor más que contribuye al aumento de la inflamación, la disfunción endotelial y el estrés oxidativo, llevando finalmente a una mayor progresión de la aterosclerosis y a una mayor comorbilidad cardiovascular (113). También se conoce que el tratamiento crónico con HCQ previene de desarrollar alteraciones de la glucemia basal y síndrome metabólico en pacientes con LES (112,114).

Otros FRCV clásicos como la *menopausia*, el *déficit de vitamina D*, el *sedentarismo* y la *obesidad* también tienen una incidencia mayor en el LES que en la población general. Esto puede deberse a una mayor dificultad para realizar actividad física de forma habitual por el mismo cuadro clínico de la enfermedad, que se caracteriza por poliartralgias y fatiga crónica (110). Otros FRCV como el *tabaquismo* o los *antecedentes familiares* no tienen relación directa con el LES.

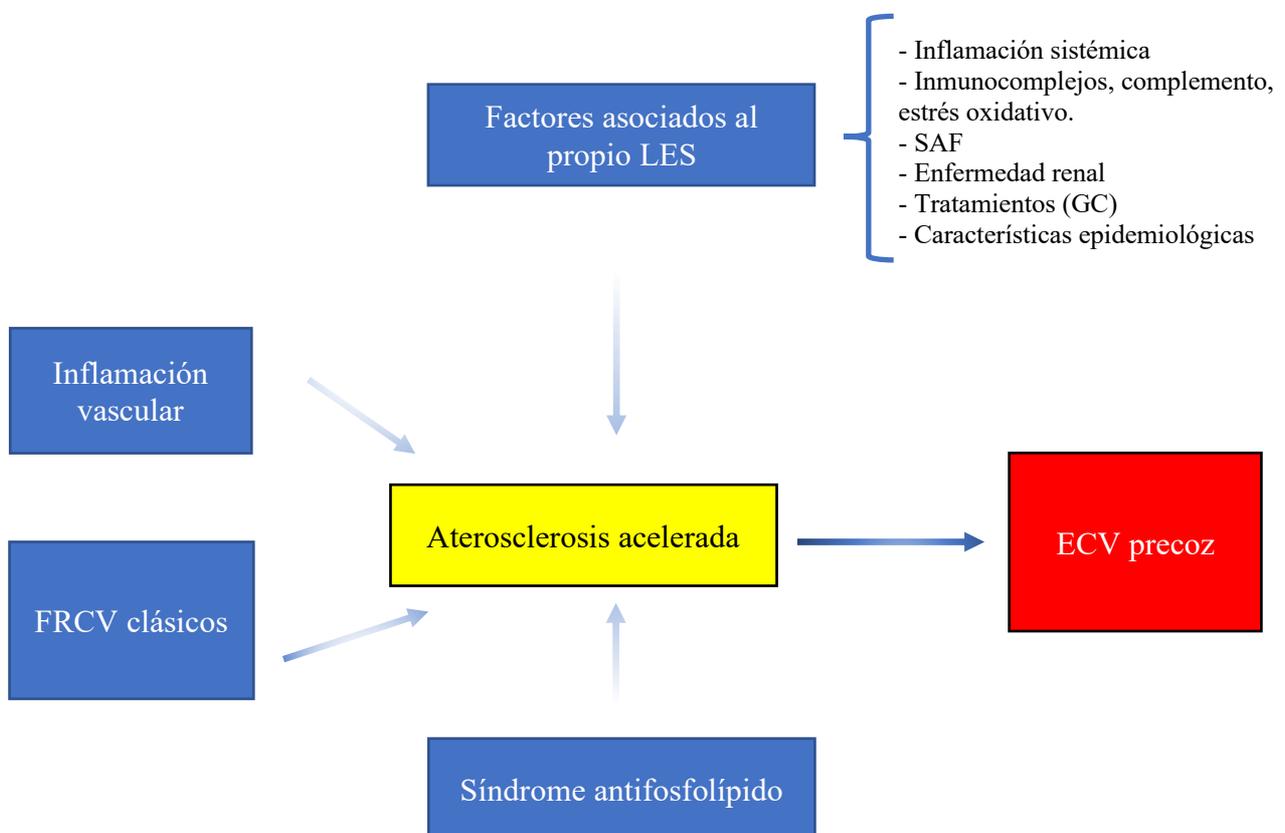
### 8.3 Factores de riesgo cardiovascular asociados al lupus eritematoso sistémico

El riesgo de ECV precoz en el LES no está únicamente mediado por los FRCV clásicos, sino también por una serie de factores asociados con el propio LES. La activación sistémica del complemento y la formación de inmunocomplejos, determinados autoanticuerpos, comorbilidades como el SAF, la afectación de órganos diana como el riñón y el uso de distintos tratamientos se incluyen dentro de estos factores específicos del LES (Figura 2) (88).

Los *factores inflamatorios* tienen un rol importante en el proceso de aterosclerosis, no sólo en el LES, pero sí que se ven agravados y potenciados por esta enfermedad. Como

se ha explicado, en los estadios iniciales las lesiones ateroscleróticas se ven infiltradas por monocitos que se activan a macrófagos y linfocitos principalmente T, todo ello inmunomediado por distintas citoquinas inflamatorias (82). El LES representa un modelo clásico de enfermedad inflamatoria crónica de los vasos sanguíneos. En este sentido, un gran campo de investigación es la búsqueda de biomarcadores inflamatorios que puedan predecir en el momento agudo y subclínico el desarrollo futuro de ECV. Por ejemplo, en un estudio en mujeres post-menopáusicas la PCR se demostró como un predictor independiente de RCV (115).

Figura 2. Resumen de los factores asociados a la ECV precoz en el LES, adaptado de *Bruce et al (88)*.



Tanto la activación del complemento como el depósito de inmunocomplejos en el endotelio favorece la aparición de la lesión aterosclerótica inicial. También la hiperexpresión de IL como la IL-6 acelera la llamada de monocitos y su evolución a macrófagos, con la consiguiente aparición de la estría grasa y la perpetuación de la respuesta reparadora patológica de las células musculares lisas (116). Estos mismos

factores también llevan a la estimulación aumentada de las moléculas de adhesión como las VCAM-1 que se ha visto aumentada en pacientes con LES, lo cual favorece aún más la adhesión de monocitos a la pared arterial (117). Otros intermediarios proinflamatorios que también están involucrados y aumentados en el LES como el IFN-1, el estrés oxidativo, los granulocitos activados y la producción de trampas de cromatina extracelular, también favorecen la lesión endotelial (81). Además, como hemos visto, la inflamación en sí misma está relacionada con muchos de los otros FRCV aumentados en el LES que se asocian con la ECV precoz, como el metabolismo lipídico y el síndrome metabólico, la HTA, el sedentarismo o la menopausia.

Los pacientes con *síndrome antifosfolípido* presentan disfunción y proliferación acelerada del endotelio, hiperplasia de la íntima, hiperactivación plaquetaria, aumento de citoquinas proinflamatorias y desregulación coagulación-fibrinólisis. Todo ello conlleva a una aterosclerosis acelerada, presentando una mayor prevalencia de síndrome coronario agudo, miocardiopatía y trombosis tanto arteriales como venosas (77). La ECV precoz en el SAF se ha visto relacionada con la presencia de anticoagulante lúpico y el resto de anticuerpos antifosfolípidos (anti-cardiolipina y anti- $\beta$ -2-microglobulina), así como un incremento en la angiogénesis, los defectos en la apoptosis y el estrés oxidativo (118).

Tabla 4. Resumen de los FRCV asociados al LES con asociación estadística para la ECV y la aterosclerosis subclínica, adaptada de *Kostopoulou et al. (81)*.

<b>Factor de riesgo</b>	<b>ECV</b>		<b>Aterosclerosis subclínica</b>	
	<i>Odds ratio</i>	<i>Nº de estudios</i>	<i>Odds ratio</i>	<i>Nº de estudios</i>
Actividad	1,21	3	-	7
Duración	1,01	5	2,30 – 3,16	12
Daño acumulado	1,38	2	1,7	5
SAF	1,57 – 5,00	12	5,2	1
NL	1,12 – 2,41	7	2,16	3
GC	2,46	8	0,33-2,93	7
HCQ	0,06 – 0,34	8	-	3

La *afectación renal* se asocia desde hace décadas con el RCV (119,120). Estudios han demostrado que el filtrado glomerular junto con la proteinuria son predictores independientes del desarrollo de ECV, por delante de las cifras de creatinina (121). El riñón es uno de los órganos más afectados en el LES, estando presente el daño renal en el 50% de los pacientes, encontrando en todos ellos proteinuria, y hasta en un 50% de estos casos, síndrome nefrótico (44). En general, se ha infraestimado el daño cardiovascular precoz y subclínico en los pacientes con NL (122), e, incluso, se ha observado que aunque se recupere completamente el filtrado glomerular los casos que presentan daño renal en algún momento de su evolución tienen un peor control del RCV (123). Además, de forma absoluta la incidencia de IAM en pacientes con NL está aumentada entre 2,8 y 8,5 veces con respecto a la población general (124).

Los *glucocorticoides* empleados en el LES también pueden favorecer el desarrollo de ECV (125). En general, tienen efecto sobre distintos factores del metabolismo como puede ser los ciclos lipídico y glucémico generando una situación predisponente al desarrollo de la placa de ateroma. Por otro lado, al disminuir la inflamación sistémica y reducir las manifestaciones del LES también disminuye el RCV asociado a esta enfermedad (88). Por ello, existen estudios contradictorios en cuanto al uso de GC, con ensayos que han relacionado la dosis y duración de los mismos con la aparición de ECV (81), pero siendo lo más aceptado en la actualidad que con dosis bajas de prednisona (por debajo de 7,5 mg diarios) disminuye el RCV a largo plazo (63), recomendando intensificar el uso de IS como ahorradores de GC e intentar disminuir la duración de los tratamiento con inducciones agresivas a altas dosis para evitar dosis altas de mantenimiento más prolongadas (64).

La *hidroxicloroquina* pautada de forma crónica se ha demostrado como un factor protector de RCV en diferentes estudios disminuyendo la incidencia de alteraciones del perfil lipídico asociados al LES, síndrome metabólico, alteración de la glucemia basal y el déficit de vitamina D (61,88,114,126). Es por ello, entre otros efectos beneficiosos, que hoy en día se recomienda a todos los pacientes con LES (60).

Por último, en cuanto a las *características epidemiológicas*, hay que añadir que existe amplia evidencia de que en la población diana en la que tiene lugar el LES, es decir, mujeres jóvenes en edad fértil, el RCV se ha infraestimado de manera sistemática en la práctica clínica, haciendo que las pacientes, a pesar de cumplir criterios de tratamiento, hayan tenido una actitud infraterapéutica con respecto a poblaciones masculinas de las mismas características (74,127). En este sentido hay estudios en los que se confirma la menor prevalencia de mujeres en los distintos ensayos clínicos que han abordado el RCV (128), así como una prevalencia menor de tratamiento cuando existe indicación con estatinas (129) o tras un IAM (130).

#### 8.4 Estratificación del riesgo cardiovascular

La ECV es la primera causa de muerte mundial en la actualidad (131). A pesar de la magnitud del problema sigue sin llevarse a cabo un esfuerzo conjunto para consensuar protocolos especialmente dirigidos a la identificación de la aterosclerosis subclínica, a la prevención primaria o al manejo del RCV en determinadas poblaciones de riesgo como el LES. Por ejemplo, se conoce que las guías de tratamiento de la HTA no pueden aplicarse completamente en los pacientes de esta enfermedad (132). Además, a pesar de los estudios realizados hasta la fecha, existe poca evidencia que permita realizar tratamientos dirigidos contra dianas específicas implicadas en la cascada aterogénica (124). Recientemente la EULAR ha publicado algunas recomendaciones para el manejo del RCV en el LES y otras enfermedades inflamatorias (133).

Desde hace dos décadas se sabe que la estratificación habitual del RCV usando los criterios de Framingham, y otras escalas clásicas, fracasa a la hora de identificar qué pacientes con LES tienen mayor riesgo de padecer una ECV (134). Esto se debe a distintas peculiaridades de estos casos, como la edad temprana de presentación, la mayor incidencia en el sexo femenino o a no tener en cuenta los factores propios asociados a estas enfermedades (87). Esto se ha demostrado en estudios de aterosclerosis subclínica comparando los hallazgos de placa carotídea (PC) con la estratificación clásica del riesgo, resultando claramente superiores en cuanto a valor predictivo los FRCV asociados a la enfermedad que los clásicos (135). La única escala de RCV que incluye alguna patología

inflamatoria como criterio es la QRISK que acepta la artritis reumatoide como FRCV independiente (136). En un estudio realizado por Vázquez *et al.* se compara en pacientes con LES la escala QRISK-3 con pruebas que detectan la ECV subclínica, recomendando el uso de dicha escala como método alternativo para detectar los pacientes de esta población con mayor RCV (96).

En la actualidad, lo que se propone es la creación de algoritmos mixtos que aúnen factores tradicionales y nuevos biomarcadores séricos que puedan predecir el desarrollo de ECV, así como estudios de aterosclerosis subclínica en aquellos casos con datos de riesgo (87). Por ejemplo, el estudio PREDICT llevado a cabo por McMahon *et al.* comparó 210 casos de LES con 100 controles sanos, estableciendo un algoritmo en el que se incluían la edad por encima de 48 años, antecedentes de diabetes, las concentraciones séricas de HDL, leptina, homocisteína y la citoquina TWEAK (de la súper familia de los TNF), y confiriendo a un resultado elevado en este algoritmo un riesgo incrementado de presentar PC y progresión del grosor de íntima media (GIM) (137).

En esta línea, distintos biomarcadores se han testado y ofrecen resultados esperanzadores para facilitar la detección precoz de RCV subclínico. Por ejemplo, los recuentos elevados de monocitos activados y granulocitos de baja densidad están aumentados en aquellos casos de LES con presencia de ateromatosis subclínica y relacionándose de forma directa con el GIM (138). Asimismo, las HDL disfuncionales también se han identificado como un posible biomarcador de aterosclerosis acelerada en el LES, planteando incluso que pueda tratarse de una futura diana terapéutica (139). Marcadores clásicos de inflamación sistémica como la PCR y la velocidad de sedimentación glomerular (VSG) también se han relacionado con la rigidez arterial en estos pacientes (140). En otro interesante estudio realizado por Wigren *et al.* en 484 casos de LES se detectaron, en aquellos pacientes con ECV, niveles plasmáticos significativamente elevados de proteína Fas, receptor 1 del TNF, receptor 2 del TRAIL, MMP-1 y MMP-7, todos ellos marcadores de apoptosis y degradación tisular (141). En los últimos años, se ha comenzado a estudiar la importancia del metabolismo óseo en la calcificación vascular, y la implicación directa sobre la ECV, poniendo sobre la mesa nuevos biomarcadores como la vía Wnt, destacando entre todos ellos la esclerostina,

aunque hasta este momento no se había estudiado sus posibles implicaciones en el LES (85,142,143).

Todos estos estudios se encuentran aún en una fase preclínica, lejos aún de poder aplicarse a la práctica habitual, aunque se está realizando un gran esfuerzo desde la comunidad científica para encontrar formas económicas y accesibles que lo permitan. En cuanto a la posibilidad de realizar tratamientos farmacológicos preventivos sólo la HCQ ha demostrado disminuir tanto la aterosclerosis subclínica como los eventos cardiovasculares, mientras que los estudios con estatinas o la aspirina por el momento no han dado resultados consistentes para su uso (81).

### 8.5 Enfermedad cardiovascular subclínica

La ECV subclínica se basa en la capacidad de detectar y monitorizar los cambios que se van produciendo de forma progresiva en la función y estructura de las arterias, objetivando el efecto acumulativo de los estímulos hemodinámicos, metabólicos e inflamatorios en el deterioro de la integridad de la pared arterial sin necesidad de que se produzca clínica de isquemia. Ello representa en la actualidad el potencial para detectar e intervenir en una etapa temprana del proceso de aterosclerosis y prevenir su progresión (144). Existen distintas formas y técnicas de detectar la ECV subclínica, entre las que se incluyen la ecografía de arterias accesibles como la carótida y la femoral, el estudio de la rigidez mediante la VOP, el índice tobillo-brazo (ITB) y la funcionalidad endotelial, así como otras pruebas de imagen como la tomografía axial computarizada (TAC) y la resonancia magnética nuclear (RMN) para medir la calcificación arterial (145–147).

El *grosor de íntima media y la presencia de placa de ateroma* en la ecografía arterial tanto a nivel de carótidas como femorales se ha validado ampliamente en el estudio de ECV subclínica, y actualmente es la prueba de referencia para su detección (148). Además, son múltiples los estudios que han objetivado la presencia aumentada de estos parámetros en la EC en el LES, así como una progresión más rápida del grosor con los años con respecto a controles sanos (96,149–152). La inocuidad de la EC, así como el bajo coste y la cada vez mayor accesibilidad en la práctica clínica habitual, hacen de esta

prueba una de las más utilizadas y relevantes en el momento actual para llevar a cabo el estudio de ECV subclínica.

El estudio de la *rigidez arterial* viene determinado por la distensibilidad natural del árbol arterial. Cuando ésta se ve alterada desde el inicio del proceso de aterosclerosis, la onda de presión o de pulso que se genera tras la eyección de sangre a través de la válvula aórtica cambia, generándose un aumento de la velocidad con la que se propaga (145). Este aumento de la VOP puede ser cuantificado de forma no invasiva mediante dispositivos automáticos, y se ha relacionado directamente con aquellos pacientes que presentaban ECV subclínica, y no con aquellos en los que estaba ausente (153). En el LES y otras enfermedades inflamatorias, la VOP está aumentada con respecto a la población sana (154,155) aunque existen estudios contradictorios dando una mayor importancia a la mayor incidencia de los FRCV clásicos y la enfermedad renal propia del LES (105,156).

El *índice tobillo-brazo* es un método eficaz, simple y no invasivo para detectar y diagnosticar la enfermedad arterial periférica (EAP) y tiene una alta sensibilidad y especificidad, así como poca variabilidad (157). Se trata de dividir la presión arterial sistólica (PAS) de cada miembro inferior sobre el valor de la PAS de la arteria braquial (145). Se ha asociado de forma independiente con la presencia de PC por lo que puede utilizarse como un marcador de ECV subclínica (158). También existen estudios contradictorios en cuanto a la prevalencia aumentada de alteraciones del ITB en el LES con respecto a la población sana, no habiendo diferencias en pequeñas muestras (159) aunque sí consiguiendo diferencias significativas al aumentar la misma (160). También se ha demostrado un aumento de la incidencia en este estudio prospectivo a 5 años realizado por Erdozain et *al.* relacionando el ITB patológico con un alto riesgo de eventos vasculares (161).

Otra de las formas de detección de la ECV subclínica es el estudio de la *disfunción endotelial*. Se trata de realizar mediante test vasodilatadores una valoración de la capacidad de respuesta del endotelio, pudiendo hacerse una dilatación mediada por flujo o por nitroglicerina y visualizado mediante ecografía, o realizando un índice de hiperemia

reactiva evaluado por tonometría arterial periférica (162). Desde estadios iniciales del LES se ha objetivado que existe mayor disfunción endotelial que en controles sanos, antes incluso de tener ECV establecida, por lo que se ha sugerido que sea uno de los primeros marcadores detectables (163). Además, se han observado relaciones con la NL (124) y la rigidez arterial (164). El problema que plantea la detección de disfunción endotelial es la dificultad técnica, ya que requiere de una amplia curva de aprendizaje, y la poca disponibilidad actual en la práctica clínica habitual (164).

Por último, destacar otras *pruebas de imagen* como el TAC, para medir la calcificación aórtica o coronaria (165,166), y la RMN, mediante estudios de estrés y el realce tardío de gadolinio, que también pueden emplearse para detectar la ECV subclínica en los pacientes con LES (146). Estas pruebas son más costosas y están menos disponibles en la práctica clínica habitual, además de la radiación que supone el TAC, por lo que no se utilizan de rutina y su uso actualmente está más reservado a fines científicos y de investigación.

Como se ha mencionado anteriormente, la ECV subclínica está claramente aumentada en el LES, siendo un factor predictor necesario antes de desarrollar algún tipo de evento cardiovascular, ya sea IAM, ACV o EAP. Todo ello, junto con los FRCV expuestos anteriormente, llevan a que esta población deba ser objeto de revisión y permanente control del RCV, con un seguimiento estrecho en la práctica clínica diaria, adquiriendo una formación específica dentro de las consultas especializadas en el control de los FRCV tradicionales y específicos del LES, así como a continuar ampliando los campos de investigación abiertos para mejorar y disminuir la comorbilidad asociada a la ECV en estos pacientes (133).

En este sentido, una línea de investigación que viene desarrollándose en la última década en el RCV general en la detección de la ECV subclínica es la progresión y detección de la calcificación vascular y del eje vascular-óseo (85). Esto se ha llevado a cabo especialmente en la ERC, donde más estudios y evidencia hay, aunque son cada vez más las patologías en las que se ha objetivado la importancia de los factores relacionados con este metabolismo, tanto a nivel de comorbilidad vascular como de mortalidad y

supervivencia (167). La DM, la HTA, el síndrome metabólico o la obesidad son entidades directamente relacionadas (168–171). Asimismo, se han visto aumentados algunos de los factores relacionados con este metabolismo en algunas enfermedades inflamatorias (142,172). En el caso concreto del LES, hasta la fecha, sólo se han realizado estudios que han cuantificado el aumento de las concentraciones de estos factores, sin relacionarlos con el RCV subclínico (173,174). A nuestro conocimiento, esta Tesis Doctoral es la primera vez que se ha planteado demostrar su relación con un mayor RCV específicamente en el LES.

## 9. El remodelado óseo

### 9.1 Concepto, etapas y utilidad

El esqueleto óseo es un órgano altamente dinámico, en constante cambio y remodelado, lo cual le permite responder a las distintas funciones que desempeña en el organismo. Entre ellas se encuentran la de permitir el anclaje de los músculos, el movimiento en estructuras especiales como son las articulaciones y la protección de órganos adyacentes. Para ello, tanto la forma como el tamaño deben ser diseñados de manera minuciosa, con un control constante que permita adaptarnos durante el crecimiento y el desarrollo al resto de estructuras. En este sentido, factores locales y sistémicos toman parte en el control de la formación ósea, con distintas vías de señalización moleculares que trabajan a partir de factores de transcripción, con interacción entre las mismas, y generando un complejo sistema que permite la diferenciación correcta y adaptada que precisa el esqueleto óseo (175).

En resumen, el hueso es una forma muy especializada de tejido conectivo, un complejo órgano vivo en el cual la matriz extracelular es mineralizada, confiriendo una rigidez y solidez marcadas, pero manteniendo cierto grado de elasticidad. Para ello se compone de una matriz orgánica que se endurece con depósitos de calcio. Prácticamente el 95% de la matriz orgánica se compone de colágeno Tipo I, el 5% restante está compuesto por proteoglicanos y numerosas proteínas no colágenas (176).

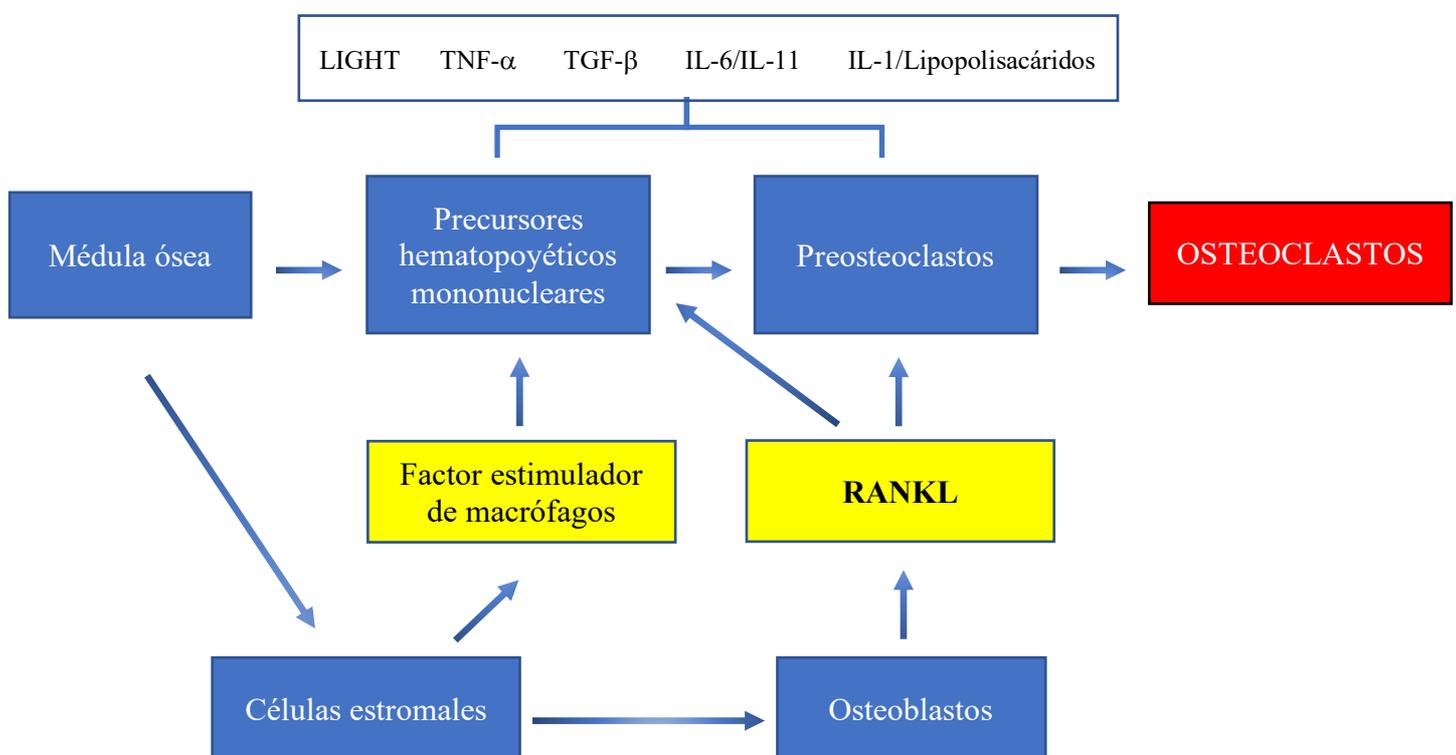
De forma general, el hueso se compone de cuatro tipos de células: osteoblastos, osteocitos (que suponen hasta el 90% de todas las células del hueso maduro), osteoclastos y células de revestimiento óseo. Tanto los osteoblastos, como los osteocitos y las células de revestimiento óseo provienen de progenitores locales, mientras que los osteoclastos evolucionan de la fusión de precursores mononucleares que se originan en los tejidos hematopoyéticos. La unidad básica en la que tiene lugar todo el proceso de remodelado son las unidades básicas multicelulares, también llamadas unidades de remodelado óseo (176). El equilibrio entre la coexistencia y funcionalidad de este tipo de células se lleva a cabo a lo largo de un ciclo de 6 a 9 meses, con el fin de la renovación de dichas unidades de remodelado, a través de 4 fases diferenciadas:

- 1) Activación: aumento de osteoclastos a través de los monocitos y su previa diferenciación a preosteoclastos, generando un aumento del factor “*eliminador*” de hueso.
- 2) Resorción: sucede inmediatamente después durante alrededor de un mes, cuando los preosteoclastos se diferencian definitivamente a osteoclastos y se generan las lagunas de resorción, en las cuales mediante proteólisis y otras sustancias que “*digieren*” el hueso se consigue disolver el material óseo.
- 3) Inversión: progresivamente, y sin estar bien explicado, se produce un aumento de los osteoblastos hasta alcanzar una situación de equilibrio en la que se detiene la resorción ósea.
- 4) Formación: tras la activación de los osteoblastos se comienza la formación del nuevo material óseo, produciendo una nueva matriz y regulando la mineralización. Finalmente, el osteoblasto se diferencia a osteocito, generando la estructura ósea definitiva, y volviendo a iniciar el ciclo (177).

Este continuo remodelado óseo tiene como funciones más inmediatas e importantes el mantener un buen soporte mecánico evitando fracturas por estrés o deterioro por el uso continuado, así como servir de almacén y equilibrio en el metabolismo fosfocálcico manteniendo la homeostasis. Además, parece tener implicación directa en otras funciones como el equilibrio ácido-base, el equilibrio hormonal o el metabolismo de la médula ósea (178). Todo este proceso está regulado de forma compleja por distintos sistemas y tipos

de estímulos, entre los que destacan factores mecánicos, hormonales (como la paratohormona [PTH]) y una intrincada red de factores locales que favorecen el desarrollo de las dos principales vías de estimulación de las células implicadas en el remodelado óseo: la osteoclastogénesis y la osteoblastogénesis (179,180).

Figura 3. Resumen del proceso de diferenciación de los osteoclastos, con las distintas citoquinas e IL implicadas, así como del papel fundamental de los osteoblastos en el mismo, adaptado de *Feng et al. (181)*.



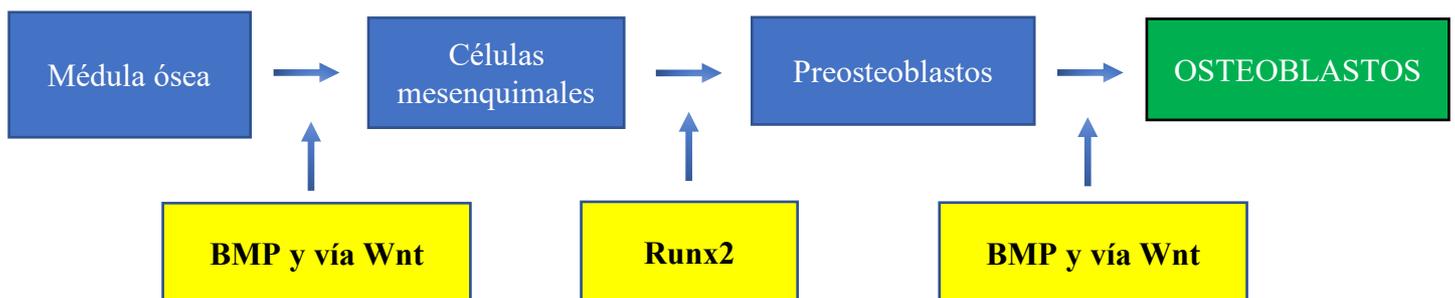
## 9.2 Vías fisiológicas fundamentales: osteoclastogénesis y osteoblastogénesis

Como se ha visto, el remodelado óseo es un proceso altamente dinámico, con fases teóricamente diferenciadas, pero con un alto nivel de interacción entre todos sus componentes desde el principio hasta el final del ciclo que hace muy complicado establecer un modelo unidireccional que lo explique. En general, se diferencian dos tendencias en el ciclo de remodelado: la resorptiva o destructiva, en la cual se va a observar una tendencia hacia la osteoclastogénesis, es decir, el aumento y diferenciación de

osteoclastos, y otra osteoformativa, caracterizada por la osteoblastogénesis, esto es, la generación de osteoblastos y su posterior diferenciación a osteocitos (182).

La generación de osteoclastos es lo que se conoce como *osteoclastogénesis*. Los osteoclastos son células multinucleadas altamente especializadas, formadas por la fusión de fagocitos mononucleares derivados directamente de células madre hematopoyéticas pluripotenciales. Los precursores de los osteoclastos, que representan el 1–2% de los monocitos de sangre periférica, se diferencian en células maduras grandes, multinucleadas, resistentes a la tartrato-fosfatasa ácida, a través de una secuencia de diferenciación que se lleva a cabo en distintas etapas cerca de la superficie del hueso (183). Son múltiples los factores implicados en el correcto desarrollo de esta diferenciación, aunque entre todos ellos destaca uno por su papel fundamental, el activador del receptor del ligando del factor nuclear kB (RANKL), que es el eje pivotal sobre el que va a girar todo el proceso de osteoclastogénesis. El RANKL pertenece a la superfamilia de los TNF y se expresa fundamentalmente por los osteoblastos, siendo éste un gran mecanismo de contrarregulación de todo el remodelado óseo. Además, existen otra serie de factores independientes del RANKL que pueden sustituir el papel de éste, y que parecen estar implicados en distintas enfermedades con pérdida patológica de masa ósea como son la artritis reumatoide o la osteoporosis postmenopáusica. Entre estos factores se incluyen citoquinas e IL proinflamatorias como el TNF- $\alpha$ , el factor de crecimiento transformador  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), las IL-6/IL-11/IL-1, los lipopolisacáridos o la proteína LIGHT (Figura 3) (181).

Figura 4. Resumen del proceso de osteoblastogénesis, siendo el Runx2 el principal implicado en la diferenciación a preosteoblasto, y las BMP y vía Wnt los principales mediadores del paso a osteoblasto adaptado de *Ponzetti et al.* (184).



El desarrollo de osteoblastos, o la *osteoblastogénesis*, es un proceso altamente complejo donde están implicadas muchísimas vías y factores que favorecen o inhiben la maduración, y que a su vez están influenciados por multitud de mecanismos contrarreguladores en función de la situación funcional del hueso y el resto del medio interno. En base a pequeños cambios en el microambiente, las células mesenquimales pueden evolucionar a osteoblastos, adipocitos o condrocitos. El primer paso es la activación de factores osteogénicos como el factor de transcripción del dominio *Runt 2* (*Runx2*), que facilita el desarrollo de la célula mesenquimal a preosteoblasto. A partir de aquí, su diferenciación hacia el linaje osteogénico está estrechamente controlada por diferentes factores moleculares, que pertenecen principalmente a las proteínas morfogénicas óseas (BMP) y a las vías del *wingless-related integration site* (Wnt) (184,185).

### 9.3 Vía Wnt

El concepto y el nombre de la vía Wnt (“*wingless-type mouse mammary tumor virus integration site*”) se adopta en la década de los años 80, a raíz de descubrir una serie de genes implicados en el metabolismo óseo tanto en la mosca *Drosophila* *Wingless* (Wg) como en el ratón *Int1* (*Int1*), adoptando parte de dichos nombres para denominarla: Wnt (186). Juega un papel fundamental en una amplia variedad de procesos biológicos, tales como la proliferación, migración y diferenciación de distintas líneas celulares en distintas localizaciones (187). La vía Wnt afecta tanto a osteocitos como osteoclastos, aumentando también la interacción entre ambas líneas celulares, afectando de forma indirecta al ambiente óseo y provocando un aumento generalizado de la osteoblastogénesis, aumentando la formación ósea y disminuyendo la resorción ósea (188). La señalización Wnt engloba al menos tres vías complejas que se solapan y se complementan unas a otras, siendo la Wnt/ $\beta$ -catenina la más estudiada y relevante (189).

Es una gran familia de glicoproteínas que accionan múltiples cascadas de señalización esenciales para el desarrollo embrionario y generación tisular. La vía canónica Wnt/ $\beta$ -catenina es la cascada fundamental de esta familia, teniendo un efecto muy significativo sobre el esqueleto (190). La vía canónica interacciona con múltiples

ligandos y con sus respectivos receptores y co-receptores. Algunas de las estructuras con mayor importancia son las formadas por los receptores transmembrana Frizzled y los receptores relacionados con las lipoproteínas de baja densidad 5 y 6 (LRP5 y LRP6). La función principal de esta vía es la estabilización de la  $\beta$ -catenina inhibiendo la actividad del complejo de degradación de  $\beta$ -catenina que fosforila la misma, permitiendo que la  $\beta$ -catenina, que se considera uno de los reguladores centrales del citoplasma, pueda realizar su función. Sólo la  $\beta$ -catenina no fosforilada puede llegar al núcleo y llevar a cabo su actividad, mientras que la fosforilada se encamina hacia la proteólisis (191). En el remodelado óseo, la presencia de la  $\beta$ -catenina en el núcleo conduce a un aumento de la osteogénesis, siendo el principal estímulo para la neoformación de hueso (192).

Por tanto, la funcionalidad de la vía Wnt varía en función de la célula y los receptores y co-receptores que ésta exprese, habiéndose apuntado que distintas mutaciones genéticas que afectan a estos ligandos pueden llevar a multitud de fenotipos distintos (193). De hecho, distintos patrones genéticos y mutaciones en humanos han demostrado estar relacionados con el cambio en la funcionalidad de distintos receptores, mensajeros y moduladores de la vía de señalización Wnt, tanto en situaciones de salud como de enfermedad (188). Por ejemplo, la alteración de LRP6 provoca enfermedad coronaria precoz y osteoporosis severa, aportando una primera evidencia de que la señalización Wnt tiene una importancia fundamental en el eje óseo-vascular (194), o el estudio realizado en ratones por Toledo *et al.* que plantea la posibilidad de que exista una relación entre un desequilibrio de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina y la aparición de deterioro cognitivo en pacientes con fallo cardíaco previo (195). También se ha demostrado que la vía canónica es el regulador principal que controla la expresión de múltiples genes a nivel intrarrenal implicados en el desarrollo del sistema renina-angiotensina y que es un posible factor en el desarrollo de HTA (196). E, incluso, se han establecido relaciones con determinados tipos de neoplasias (197).

La vía de señalización Wnt/ $\beta$ -catenina está estrechamente regulada por antagonistas de la misma. Existen distintos mecanismos, bloqueando de forma directa los receptores activadores (como el factor inhibidor del Wnt) o reduciendo la disponibilidad de los mismos, induciendo su internalización en la célula o disminuyendo su expresión

(proteína 1 relacionada con Dickkopf (DKK-1) y esclerostina). Entre todos estos factores inhibidores, la DKK-1 y la esclerostina son los que se han estudiado más extensamente (188). Estos mecanismos contrarreguladores tienen un papel fundamental en esta vía metabólica, y parecen tener un gran peso en el desarrollo del eje óseo-vascular y la calcificación vascular.

#### 9.4 DKK-1

La DKK-1 es un inhibidor de la vía de señalización canónica Wnt, que actúa uniéndose principalmente a los correceptores LRP5 y LRP6, disminuyendo su presencia en la superficie celular, y por tanto, impidiendo la estabilización de la  $\beta$ -catenina (198–200). La expresión de DKK-1 se ha demostrado en la piel, riñón, próstata, placenta y plaquetas, con una expresión menor en el endotelio vascular (190). Al contrario que la esclerostina, los niveles de DKK-1 relacionados con el proceso de osteoporosis han demostrado resultados muy contradictorios en diferentes poblaciones y estudios, siendo poco consistentes para extraer conclusiones sólidas, pudiendo tener una función más sistémica en el control de la vía Wnt y no siendo tan relevante en el metabolismo óseo, ni en el eje óseo-vascular (190).

#### 9.5 Esclerostina

La esclerostina es una glicoproteína de la familia “*cystatin-knot*” y es producto del gen SOST localizado en el cromosoma 17q-12-q21. Su función es la de inhibir la vía Wnt/ $\beta$ -catenina previniendo la diferenciación y proliferación de osteoblastos, uniéndose a los receptores LRP5 y LRP6, así como a los siete receptores transmembrana del sistema Frizzled (192,198,201). Esta glicoproteína de 22 kDa se secreta casi exclusivamente en los osteocitos, aunque también se ha objetivado su producción en otras células como los precursores de osteoclastos, células renales y células vasculares (202).

El descubrimiento de la esclerostina se produjo a principios del siglo XXI a raíz del estudio genético y molecular de enfermedades con hiperostosis como la esclerosteosis

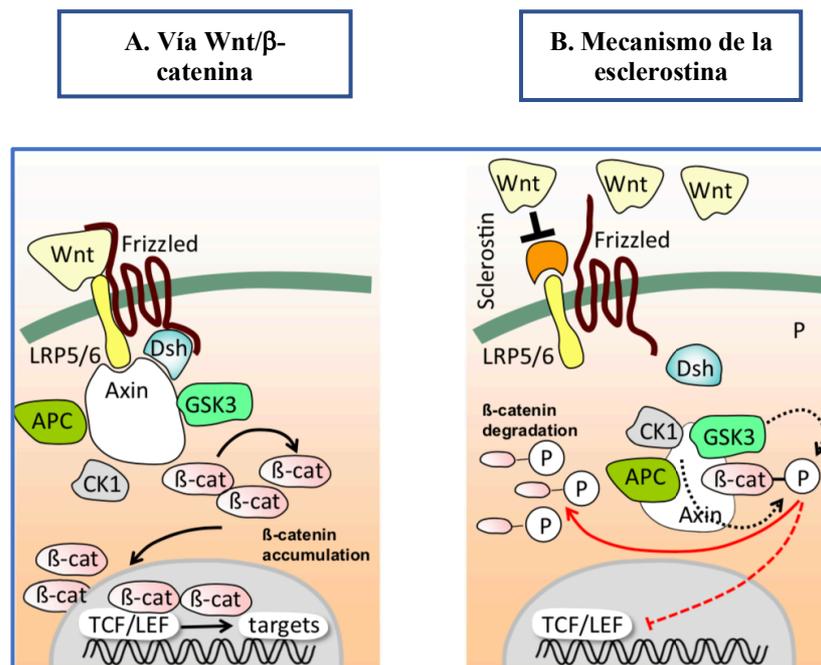
y la enfermedad de van Buchem. En ellas se vio que existía un aumento generalizado de osteoblastos existiendo un déficit en las concentraciones y/o funcionalidad de la esclerostina, lo que lleva a una ausencia de control en la osteogénesis y provocar gran parte de la patogenia de estas enfermedades (203). Estos estudios han llevado a plantear la hipótesis de que la esclerostina es un regulador mucho más específico de la vía de señalización ósea del sistema Wnt, y que el DKK-1 tendría una función mucho más sistémica, afectando a distintas vías de señalización (190).

La actividad de la esclerostina es compleja, además de la interacción con los co-receptores LRP5 y LRP6, existen otras formas de actuar en el metabolismo óseo, como, por ejemplo, interactuando con las BMP e impidiéndoles facilitar la diferenciación osteoblástica (204). Otros ejemplos de actividad de la esclerostina son la unión al LRP4, facilitando el bloqueo de la funcionalidad del complejo Frizzled-LRP5/6 (205) o interfiriendo con otro gran sistema regulador del metabolismo óseo como es el RANKL, lo que en definitiva previene la diferenciación osteoclástica, haciéndonos entender que la esclerostina realmente es un contrarregulador no sólo de la osteoblastogénesis sino de todo el remodelado óseo (206). Además, la esclerostina no sólo altera la formación ósea, sino que también se ha demostrado que influye en las concentraciones séricas de hormonas que regulan la mineralización, incluyendo calcitriol y factor de crecimiento de fibroblastos (207), e incluso, si se delecta selectivamente el gen SOST en ratones o estirpes celulares concretas aumenta significativamente la masa mineral ósea (208,209).

La regulación de la esclerostina y el DKK-1 en el hueso es muy compleja y está lejos de comprenderse por completo. Existen importantes reguladores como los factores de crecimiento y las distintas hormonas que se relacionan con el metabolismo óseo. Entre ellas la calcitonina y las BMP estimulan su secreción, mientras que la PTH y los estrógenos suprimen tanto a la esclerostina como al DKK-1. Esto último explicaría por qué se han demostrado niveles medios de esclerostina más bajos en mujeres que en hombres (211–213). Además, los niveles circulantes de esclerostina se han relacionado de forma negativa con los niveles séricos de PTH (214) y se han visto aumentados en los pacientes diabéticos (215,216), estimulada por la respuesta biológica a la hiperglucemia, incluyendo el aumento del estrés oxidativo, las modificaciones en las concentraciones de LDL y la inflamación vascular (198), así como por los estados proinflamatorios (201).

Uno de los factores más estudiados y que más parecen relacionarse con los niveles de esclerostina es la ERC. De hecho, los niveles de esclerostina se correlacionan con el estadio de enfermedad renal del paciente, siendo de dos a cuatro veces mayores los niveles medios en pacientes en estadio terminal (198). Además, se ha objetivado que no es por un problema de hipofiltración de esclerostina como es el caso de otras proteínas, sino que existe un aumento de depuración renal de la misma según avanza la enfermedad renal. Todo ello hace indicar que existe una hiperproducción de esclerostina en los pacientes con afectación de la función renal (217). También se ha confirmado que los niveles de esclerostina se recuperan rápidamente tras el trasplante renal (218).

Figura 5. Simplificación de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina, permitiendo la defosforilación de la  $\beta$ -catenina y su entrada al núcleo (A) y la forma principal de actuación de la esclerostina bloqueando a LRP5 y LRP6, así como al sistema Frizzled. Esquema tomado de *Brandenburg et al.* (210).



Tanto la edad como la enfermedad renal crónica avanzada provocan aumento de la calcificación vascular, lo cual lleva a una producción aumentada de esclerostina (219). En este sentido, un estudio realizado con biopsias óseas a pacientes mayores de 65 años (edad media 73 años) demostró que los niveles séricos elevados de esclerostina no se acompañaban de aumento de concentración ósea de esclerostina, lo cual refuerza la

hipótesis de que la producción no ósea, incluyendo la pared vascular, tiene un rol fundamental en la elevación sérica de esclerostina en estos pacientes (220).

Tras conocerse su importante papel antiosteogénico, así como su existencia y producción en células endoteliales, en los últimos años se ha estudiado en profundidad la implicación de la esclerostina en el proceso de calcificación vascular, siendo uno de los factores fundamentales que dirige la calcificación paradójica del eje óseo-vascular, y actuando como probable contrarregulador de dicho proceso, habiéndose demostrado su correlación en múltiples estudios con la ECV subclínica (210).

#### 9.6 Eje óseo-vascular

El término calcificación paradójica ósea-vascular hace referencia a distintas situaciones generadas por diferentes tipos de patologías que provocan una desregulación en el proceso de calcificación caracterizado por la coincidencia de desmineralización del esqueleto y la calcificación vascular (221).

Existe mucha evidencia de la relación entre baja densidad mineral ósea y la presencia de aterosclerosis, especialmente placas calcificadas (222,223). Este eje óseo-vascular está regulado tanto por proteínas de producción ósea que afectan al endotelio vascular, como por proteínas secretadas a nivel vascular que participan en el metabolismo del hueso. Además, un importante número de estudios han demostrado la existencia de una relación entre la enfermedad vascular y la patología ósea (224). A pesar de que tanto la pérdida de densidad mineral ósea como la aterosclerosis se relacionan con la edad, está muy documentada la relación independiente entre ambas (225–228). De hecho, la coexistencia entre osteoporosis y calcificación vascular se ha demostrado de forma consistente en todo tipo de poblaciones (229).

Se conoce que la calcificación vascular es un proceso que guarda gran similitud con la osteogénesis. Esto lleva a suponer que existen vías metabólicas de señalización con actividad entre ambas enfermedades que puedan justificar la relación existente. Se ha documentado que la vía de señalización Wnt puede jugar un rol importante en la

regulación de la inflamación endotelial, en la diferenciación de células madre mesenquimales y en promover la migración de monocitos, células musculares lisas y células endoteliales (230–232). En algunos estudios se ha demostrado que la presencia de inhibidores de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina en las células musculares lisas de la pared vascular puede disminuir la progresión de la calcificación a este nivel (233,234). Por tanto, es probable que uno de los mecanismos fundamentales de este eje óseo-vascular sea la elevación de esclerostina producida como contrarregulación al exceso de calcificación vascular, afectando directamente en el endotelio, pero provocando a su vez un defecto de mineralización ósea (85,210,235).

En el estudio de Leto *et al.*, se demuestra la implicación *in situ* de la esclerostina en las lesiones ateroscleróticas avanzadas, al objetivarse su presencia por inmunohistoquímica en el 100% de las 46 muestras de placa de ateroma obtenidas mediante endarterectomía carotídea. Este estudio de pocos pacientes no llega a establecer correlación entre los niveles séricos de esclerostina y los obtenidos en la placa de ateroma, aunque sí establece que la mayor presencia se da en la capa vascular media con respecto a la íntima, y también en las células musculares lisas con respecto a los macrófagos, estando las primeras directamente relacionadas con el proceso de calcificación arterial (236). Además, es significativo que la presencia de esclerostina se identifique con las células musculares lisas porque de forma fisiológica son las encargadas de modular la respuesta a una agresión o lesión del endotelio vascular y las principales encargadas del crecimiento último de la placa de ateroma (147). En cambio, en un estudio realizado con ratones experimentales acelerando el proceso de calcificación y degradación vascular mediante el uso de warfarina de forma reglada, y realizando mediciones regulares de esclerostina en suero, hueso y distintos componentes vasculares (venas, aorta, arteria femoral, etc.), sí se objetivó que existe un aumento progresivo de la esclerostina sérica conforme avanza de forma controlada la calcificación vascular, así como un aumento también paralelo de las concentraciones en las paredes vasculares calcificadas. En el mismo estudio, se observa una relación negativa entre la calcificación vascular y una desmineralización también progresiva y paralela, no objetivándose variaciones significativas de la concentración de esclerostina en el tejido óseo. Este hecho apoya la teoría de que uno de los motivos fundamentales de la elevación de esclerostina en la

calcificación vascular es la contrarregulación de dicho exceso, y no tanto el causante directo del daño en la pared del vaso (85).

La corrección de las alteraciones del metabolismo mineral, los microambientes alterados de la médula ósea y la producción de células inflamatorias desencadenadas en todo este proceso proporcionan opciones terapéuticas potenciales contra el proceso aterosclerótico (237). De hecho, el rol de la esclerostina en la afectación del eje óseo-vascular ha cobrado especial relevancia en los últimos años ante el diseño y autorización de un primer anticuerpo monoclonal antiesclerostina (*Romsozumab*®) capaz de reducir de forma significativa sus niveles, obteniendo buenos resultados a nivel óseo estimulando la osteogénesis y disminuyendo la desmineralización (238). Dado el carácter controvertido de su papel en el eje óseo-vascular al tener un efecto protector a nivel cardiovascular actuando como contrarregulador de la calcificación vascular, se ha especulado con la posibilidad de que pueda incentivar la producción de episodios cardiovasculares (239) e incluso, existen estudios que apuntan en esa dirección (240). En la última revisión de 2021, a pesar de que no existieran diferencias significativas en los FRCV entre los grupos, se demostró un aumento de eventos cardiovasculares graves con romosozumab en ensayos aleatorizados sin etiología discernible. Por ello, a pesar de la reducción significativa en fracturas vertebrales patológicas con su uso en pacientes con osteoporosis, hasta que no haya más evidencia disponible, romosozumab no debe usarse en pacientes con ECV reciente y debe extremarse la precaución en pacientes con alto RCV (241).

En conclusión, el eje óseo-vascular es, en sí mismo, una vía implicada directamente en el desarrollo de la aterosclerosis, y uno de los factores principales relacionados en la regulación de la misma es la esclerostina, con una repercusión directa y cuantificable en el desarrollo de ECV.

## 10. Esclerostina y riesgo cardiovascular

La relación entre las concentraciones de esclerostina y mortalidad cardiovascular está muy demostrada, especialmente en pacientes con ERC, aunque también en diabéticos

y población general (167,242–244). En estudios prospectivos se ha demostrado la relación directa entre los niveles séricos de esclerostina y la mortalidad, así como la incidencia de eventos cardiovasculares, siendo mayor la supervivencia y menor el número de episodios cardiovasculares mayores en aquellos pacientes con menor cantidad sérica de esclerostina al inicio del seguimiento (244,245). A pesar de ello, también existen estudios que apuntan en la dirección opuesta habiendo hallado menor mortalidad cardiovascular en aquellos pacientes con mayores concentraciones séricas de esclerostina (214) y otros que han presentado resultados neutros (246,247). Esta disparidad puede deberse el efecto regulador de la esclerostina que en determinados momentos del curso evolutivo de la calcificación vascular pueda proteger de padecer un evento cardiovascular y sólo ser un marcador de lesión endotelial. Es decir, ser consecuencia y no causa del daño cardiovascular (248).

En cuanto a la ECV subclínica los resultados son mucho más homogéneos, habiéndose evidenciado que las concentraciones séricas de esclerostina pueden ser un buen biomarcador que permita identificar aquellos pacientes con calcificación vascular subclínica establecida. De esta forma se ha objetivado que la esclerostina es un marcador independiente de aumento de la VOP (249,250), aumento de GIM y presencia de PC (251), y tiene relación significativa con la calcificación aórtica (250–252). Además, se ha detectado una elevación de los niveles de esclerostina en pacientes con ACV isquémico agudo, permitiendo una discriminación fiable de los pacientes de los controles (168). En cambio, la relación con la DKK-1 es mucho más inestable y con resultados muy contradictorios en todos los estudios, siendo menos fiable a la hora de identificar los pacientes con mayor RCV y por ello su estudio está perdiendo relevancia en este campo en los últimos años (249).

En algunas poblaciones concretas se ha demostrado su fiabilidad para detectar la aterosclerosis subclínica. Por ejemplo, en los obesos se ha relacionado con el aumento de GIM (171), así como en los diabéticos (253). También, como se ha comentado, en pacientes en hemodiálisis (254) y en población con HTA (170). Por último, se han observado niveles aumentados de esclerostina en enfermedades inflamatorias como la artritis reumatoide, la artritis idiopática juvenil o la espondiloartritis axial. En el caso de la artritis reumatoide se ha relacionado con un aumento de la calcificación de la aorta

abdominal (142). En el LES, este estudio realizado por Fayed et *al.* en 100 casos de LES, 50 de los cuales presentaban NL activa, se compararon los niveles de esclerostina con 50 controles sanos. Los resultados demostraron un aumento de la concentración sérica de esclerostina en los pacientes con LES con respecto a los sujetos sanos, así como una relación independiente con los niveles de proteinuria (174).

Tanto la fisiología de la esclerostina como contrarregulador del proceso osteogénico, como la evidencia científica existente hasta el momento, dan a entender que este factor tiene un rol importante en el desarrollo de la calcificación vascular y, por tanto, en el desarrollo del proceso de aterosclerosis.

**CAPÍTULO II:**  
**JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

## II. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Las razones que justifican la realización del siguiente estudio pueden resumirse en los siguientes puntos:

1. Distintos estudios epidemiológicos sugieren que la ECV es actualmente la primera causa de mortalidad en el LES. Esto se debe a un proceso de aterosclerosis acelerada secundaria a una mayor predisposición a presentar FRCV clásicos, pero también a otra serie de factores propios del LES. Entre estos factores propios del LES se encuentran la inflamación sistémica con el consiguiente aumento de inmunocomplejos, complemento y estrés oxidativo; la asociación con el SAF, la afectación renal, el uso de determinados tratamientos como los GC y las características epidemiológicas propias de esta enfermedad. Todo ello conlleva una mayor presencia de ECV subclínica precoz en estos pacientes.
2. Actualmente se conoce que las escalas de predicción del RCV infradiagnostican este riesgo en la población lúpica, lo que ha llevado a una búsqueda de biomarcadores que puedan facilitar la detección y seguimiento de estos pacientes. Además, en el manejo del RCV se están incluyendo técnicas de detección de la aterosclerosis en fase subclínica, entre las que se encuentran la medición de la rigidez arterial o la EC, permitiendo la realización de prevención primaria. Por ejemplo, la VOP como parámetro de rigidez arterial y la medicación del GIM y el hallazgo de PC por ecografía son métodos validados para detectar la ECV subclínica. Por todo ello, en el LES se están buscando algoritmos diagnósticos que incluyan tanto FRCV clásicos, como nuevos biomarcadores fiables y técnicas que permitan diagnosticar precozmente la aterosclerosis subclínica.
3. Por otro lado, la esclerostina como contrarregulador de la osteogénesis es un marcador de calcificación vascular. Sus niveles séricos se han correlacionado con aumento de sus concentraciones en tejidos vasculares calcificados, así como con la detección de ECV subclínica mediante las técnicas previamente mencionadas en distintas poblaciones de riesgo.

4. Actualmente sólo se dispone de evidencia limitada y poco fiable de un aumento de las concentraciones séricas de esclerostina en los pacientes con LES, sin que se haya realizado ningún estudio para establecer su potencial utilidad como biomarcador de rigidez arterial y daño endotelial precoz en esta población.



## **CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### **III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

#### **1. HIPÓTESIS**

- La esclerostina puede ser un marcador sérico de aterosclerosis subclínica en pacientes con LES con función renal conservada.
  
- Las pacientes con LES y función renal conservada pueden tener mayores niveles de esclerostina que los controles sanos, y esta asociación puede estar relacionada con la asociación existente entre el LES y el daño cardiovascular subclínico.
  
- La relación entre la esclerostina y los marcadores de daño cardiovascular subclínico (MDCS) puede ser independiente de presentar LES o no.

#### **2. OBJETIVOS**

##### **2.1 OJETIVO PRIMARIO**

- Determinar la asociación entre los niveles séricos de esclerostina en mujeres con LES con función renal conservada y los siguientes MDCS:
  - Presencia de placa carotídea mediante ecografía carotídea
  
  - Rigidez arterial medida mediante velocidad de onda de pulso
  
  - Grosor de íntima media carotídeo medido mediante ecografía carotídea

## **2.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS**

- 1) Cuantificar la asociación entre el LES y los MDCS y establecer qué parte de la misma podría ser explicada por la asociación entre el LES y los FRCV clásicos.
- 2) Determinar qué características del LES (clínicas, analíticas y terapéuticas) se asocian a los MDCS y establecer qué parte de estas asociaciones podrían ser explicadas por la relación entre dichas características y los FRCV clásicos.
- 3) Cuantificar la asociación del LES con los valores de esclerostina y determinar qué parte de ella podría ser explicada por la asociación existente entre el LES, los FRCV clásicos y los MDCS.
- 4) Determinar qué características del LES (clínicas, analíticas y terapéuticas) se asocian con los valores de esclerostina y establecer qué parte de estas asociaciones podrían ser explicadas por la relación entre dichas características con los MDCS y los FRCV clásicos.
- 5) Identificar si la presencia de LES modifica la asociación de los niveles de esclerostina con los MDCS.



## **CAPÍTULO IV: MÉTODOS**

#### **IV. MÉTODOS**

##### 1. Diseño del estudio

Para alcanzar el objetivo primario y el objetivo secundario número 4 se planteó inicialmente estudiar de forma prospectiva una serie transversal de casos (mujeres con LES con función renal conservada). Sin embargo, al objeto de alcanzar los objetivos secundarios 1, 3 y 5 se estimó que era imprescindible tomar de forma adicional un grupo control concurrente compuesto por mujeres sanas. Ello podría asemejar nuestro diseño al propio de un estudio de casos y controles. Sin embargo, el carácter transversal de las dos series de mujeres estudiadas, unido al hecho de que, a diferencia de lo que ocurre en los diseños convencionales de casos y controles, el status de caso o de control (es decir, la presencia o no de LES) no viene definido por el desenlace bajo estudio (que en nuestro caso no es el LES, sino los MDCS), nos hizo aconsejable prescindir de esta terminología y catalogar nuestro diseño como un *estudio observacional prospectivo basado en el análisis transversal de dos series de mujeres definidas por su status de exposición al LES*.

##### 2. Ámbito del estudio

El estudio se realizó entre los meses de octubre de 2020 y marzo de 2021, en el ámbito de las consultas y medios del Hospital Virgen de las Nieves, en el municipio de Granada. Se trata de un hospital de tercer nivel asistencial, con más de 900 camas de hospitalización y más de 300 consultas externas, que da cobertura a toda el área norte sanitaria de Granada, incluyendo a los hospitales de Alcalá la Real, Guadix y Baza. Además, algunas consultas y servicios de este centro dan asistencia especializada a casos de toda Andalucía oriental incluyendo fundamentalmente las provincias de Granada, Jaén y Almería.

### 3. Poblaciones de estudio

#### 3.1 Serie de mujeres con LES

Se incluyeron todas las mujeres de entre 18 y 60 años con diagnóstico establecido de LES (32) consecutivamente atendidas en la consulta externa de la Unidad de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas (Servicio de Medicina Interna) del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada en el período comprendido entre octubre de 2020 y marzo de 2021 que cumplieran los siguientes criterios adicionales de inclusión:

- Estar en seguimiento por nuestra Unidad al menos durante un año.
- Ausencia de ERC establecida.
- Ausencia de ECV previos.
- IMC menor o igual a 35.
- Tener un nivel cultural adecuado para poder leer, comprender y firmar el consentimiento informado.

#### 3.2 Serie de mujeres sin LES

Con el objetivo de que los dos grupos de estudio hubieran procedido de la misma población basal y poder efectuar así una comparación interna entre ellos, lo ideal hubiera sido que el grupo control fuera una muestra representativa de la población de la que se ha extraído la serie de casos de LES. Esta población estaría compuesta por todas aquellas mujeres sanas entre 18 y 60 años que potencialmente acudirían a la consulta externa de la Unidad de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas del Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario Virgen de las Nieves en caso de ser desarrollar LES. Puesto que esta población es desconocida, una alternativa apropiada (equiparable a la habitualmente empleada en los estudios de casos y controles en los que la cohorte base es desconocida), es seleccionar el grupo control a partir de la población de mujeres de 18 a 60 años atendidas en otras consultas del Hospital Virgen de las Nieves por patologías no asociadas al LES. Sin embargo, la escasa factibilidad de esta alternativa nos aconsejó no limitar nuestra selección empleando exclusivamente esta estrategia: el protocolo de

recogida de información requería la asistencia de los controles a las consultas de nuestro hospital en dos días distintos, en horarios diferentes a los propios de las consultas rutinarias (para que los profesionales implicados en la recogida de la información pudieran compatibilizar esta actividad con la propia de sus tareas asistenciales). Por todo ello, de cara a priorizar la factibilidad del estudio, se decidió, además de la estrategia antes citada, incluir también dentro del grupo control a mujeres pertenecientes al entorno social y/o profesional de las mujeres del grupo de casos y/o del equipo investigador, siempre que cumplieran los siguientes requisitos:

- Ausencia de relación familiar con los casos.
- Ausencia de LES.
- Edad de 18 a 60 años.
- Ausencia de ERC establecida.
- Ausencia de ECV previos.
- IMC menor o igual a 35.
- Tener un nivel cultural adecuado para poder leer, comprender y firmar el consentimiento informado.

Adicionalmente, para aumentar la comparabilidad de este grupo control con la serie de casos, se decidió emparejar la selección de controles con la de casos por estratos de edad. Finalmente, las mujeres del grupo control se seleccionaron a partir de las siguientes cuatro subpoblaciones:

- Pacientes sin LES atendidas en otras consultas del hospital: mujeres atendidas en la Consulta Externa de Hipertensión Arterial y Riesgo Cardiovascular (invitadas a participar por el Dr. Fernando Jaén Águila), y mujeres atendidas en la consulta de Endocrinología (invitadas a participar por el Dr. Martín López de la Torre).
- Entorno social de las pacientes (amistades).
- Entorno social de los investigadores (amistades y familiares).
- Entorno profesional de los investigadores: Personal no facultativo del hospital (celadoras y limpiadoras).

De esta forma, el grupo control se configura de forma análoga al grupo no expuesto en un estudio de cohortes de comparación externa (aquél en el que la subcohorte no expuesta procede de una cohorte base diferente a la de la subcohorte expuesta). Evidentemente, esta situación supone, a priori, una merma de la validez interna de la comparación entre grupos efectuada en el presente estudio, que será comentada en el apartado de limitaciones de la sección de Discusión de nuestra Tesis.

### 3.3 Tamaños muestrales

#### 3.3.1. Grupo de mujeres con LES

Para estimar el tamaño muestral requerido en relación con el objetivo principal, se asumió, a partir de la estimación aportada por el estudio de *Frerix et al* (255), una prevalencia de PC en mujeres con LES del 50%. Para detectar valores de Sensibilidad y Especificidad de la esclerostina como marcador de la presencia de placa iguales o mayores al 90%, con una precisión del 10%, sería necesario reclutar una muestra de 71 mujeres con LES. Por desgracia, la pandemia de SARS-CoV-2, iniciada al final de nuestro período de reclutamiento, nos obligó a detener la captación de participantes, por lo que el tamaño muestral finalmente obtenido en nuestro grupo de casos fue de 68.

#### 3.3.2. Grupo de mujeres sin LES

Se decidió que tuviera el mismo tamaño que el prefijado para el de la serie de casos, es decir, 71 controles, repartidos de la siguiente forma entre las cuatro subpoblaciones comentadas:

- Pacientes sin LES atendidas en otras consultas del hospital: 16 mujeres.
- Entorno social de las pacientes (amistades): 5 mujeres.
- Entorno social de los investigadores (amistades y familiares): 23 mujeres.
- Entorno profesional de los investigadores: 27 mujeres.

#### 4. Protocolo de recogida de información y variables del estudio

Todas las participantes que aceptaron intervenir en el estudio y que cumplieron los criterios de selección descritos recibieron información pormenorizada, verbal y por escrito, acerca del mismo. A continuación, se les pidió que firmaran el consentimiento informado. Aquellas participantes que se negaron a firmarlo fueron excluidas del estudio.

##### 4.1 Primera visita

Las participantes finalmente incluidas fueron invitadas a acudir de forma individual a una sala ubicada en el Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario Virgen de las Nieves, en el centro de consultas externas Licinio de la Fuente (tercera planta) habilitada para este menester, entre las 8:00 h y las 9:00 h de la mañana, habiendo estado en ayunas al menos durante las 8 horas previas. En esta primera visita se recogió la siguiente información:

- Encuesta sobre variables demográficas. A partir de ella se obtuvieron las siguientes variables de estudio:
  - Edad
  - Nivel cultural: sin estudios, estudios hasta enseñanza secundaria o estudios superiores.
  
- Anamnesis: A partir de ella se obtuvieron las siguientes variables de estudio:
  - Enfermedades conocidas.
  - Tratamientos crónicos.
  - Hábito tabáquico: sí/no
  - Ingesta de alcohol: ninguna,  $\leq 7$  unidades de bebida estándar (UBE)/semanales,  $>7$  UBE/semanales)
  - Menopausia: sí/no.

Además de lo anteriormente consignado, la anamnesis de las pacientes lúpicas se completó con la siguiente información específica del LES:

- Número de criterios clasificatorios según la ACR al diagnóstico (256).
  - Órganos o sistemas afectados.
  - Cuantificación de la actividad lúpica en el momento de la inclusión mediante el índice de actividad en el LES (SLEDAI) (rango de puntuación entre 0 y 105).
  - Cuantificación del daño orgánico irreversible acumulado mediante el índice de daños del LES (SLICC).
  - Tratamiento específico para el LES en el momento de la inclusión:
    - Uso de prednisona: sí/no.
    - Dosis de prednisona diaria
    - Uso de hidroxicloroquina: sí/no.
    - Uso de inmunosupresores: sí/no.
    - Tipo de inmunosupresores.
    - Uso de biológicos: sí/no.
    - Tipo de biológico.
    - Uso de suplementos de vitamina D y/o calcio: sí/no.
- Exploración física y realización de las siguientes medidas:
- Talla y peso. A partir de ambas mediciones se calculó el IMC: peso en kg/ estatura en metros<sup>2</sup>.
  - Circunferencia abdominal (a la altura de las espinas ilíacas).
  - Medición de la presión arterial (PA) en sedestación mediante un dispositivo oscilométrico automatizado (HEM-7051T; Omron Health Care, Kyoto, Japan).
  - Presencia o no de síndrome metabólico (Tabla 3).

Una vez efectuada la exploración física, se procedió a la extracción de las muestras de sangre y orina.

- Análisis de sangre: Se obtuvieron dos muestras de sangre. Una fue procesada de acuerdo con los procedimientos de rutina del Laboratorio Central del Servicio de Análisis Clínicos de nuestro hospital. Con respecto a la segunda, necesaria para la determinación de los niveles de esclerostina, se extrajeron 2 cc de sangre en tubo de bioquímica para la separación de suero, que sería centrifugado, alicuotado y congelado a -80°C. Cuando se dispusieron de todas las muestras se procedió a la descongelación y luego al análisis de todas las muestras a la vez.

a. Para las dos series de mujeres:

- Niveles de esclerostina (pmol/L)
- Niveles de troponina (pg/mL)
- Perfil glucémico:
  - Glucosa (mg/dL)
  - Hemoglobina glicosilada (%)
  - Insulina (U/ml)
  - Índice HOMA-RI (resistencia a la insulina):  $\text{glucosa (mmol/L)} \times \text{insulina (U/l)} / 22.5$
- Albúmina (g/dL)
- Proteínas totales (g/dL)
- Hierro (g/dL)
- Perfil lipídico:
  - TG (mg/dL)
  - CT (mg/dL)
  - LDL (mg/dL)
  - HDL (mg/dL)
- Función renal:
  - Urea (mg/dL)
  - Creatinina (mg/dL)

- Tasa de filtración glomerular mediante la ecuación MDRD-7 usando la calculadora del siguiente enlace: (<http://www.semergencantabria.org/calc/cacalc.htm>)
  - Perfil hepático:
    - Lactato deshidrogenasa (U/L)
    - Gamma glutamiltransferasa (U/L)
    - Alanina transferasa (U/L)
    - Fosfatasa alcalina (U/L)
  - Hemograma:
    - Hematíes ( $\times 10^6/\text{uL}$ )
    - Hemoglobina (g/dl)
    - Volumen corpuscular medio (fL)
    - Leucocitos ( $\times 10^3/\text{uL}$ )
    - Plaquetas ( $\times 10^3/\text{uL}$ ).
  - Coagulación:
    - Fibrinógeno (mg/dL)
    - Homocisteína (mol/l)
  - Metabolismo óseo:
    - Calcio (mg/dL)
    - Vitamina D (25 OH) (ng/mL)
    - PTH intacta (pg/dL)
  - Tirotropina (U/mL)
  - Velocidad de sedimentación globular (mm/h)
  - PCR ultra-sensible (mg/L).
- b. Para la serie de casos de LES:
- Niveles de complemento C3 y C4 (mg/dL)
  - Niveles de anticuerpos anti-ADN nativo (U/L)
  - Niveles de anticuerpos antifosfolípido:
    - Anticoagulante lúpico (U/L)

- Anti-cardiolipina (U/L)
  - Anti- $\beta$ 2-microglobulina (U/L)
- Análisis de orina: Se obtuvo una muestra de orina que fue procesada de acuerdo con los procedimientos de rutina del Laboratorio Central del Servicio de Análisis Clínicos de nuestro hospital. Esta analítica incluía los siguientes parámetros:
- a. Para las dos series de mujeres:
    - Sedimento de orina; Microalbuminuria (mg/dL)
  - b. Para la serie de casos de LES:
    - Proteinuria en orina de 24 horas (mg).

#### 4.2 Segunda visita

Al final de la primera visita, las mujeres fueron citadas para una segunda consulta dentro de los diez días siguientes a ésta, a fin de realizarles una EC y efectuar la medición de la VOP, en las Consultas Externas de Hipertensión Arterial y Riesgo Cardiovascular.

- EC: se realizó mediante un ecógrafo General Electrics Logic F6 con tres sondas: Lineal, Convex y Sectoria. La usada para medir GIM es la lineal Con frecuencia en la imagen central de 7,75 MHz +/- 20% y rango entre 6-12 MHz. Software: Licencia GE específico para determinación de Grosor Íntima-Media. Construcción ecógrafo julio 2015. A partir de esta exploración se obtuvieron las siguientes variables de estudio:
- Presencia de PC: sí/no. La presencia de PC se determinó por la presencia de 2 de los siguientes 3 criterios: aumento del grosor de la íntima > 1.2mm, composición anormal a nivel ecográfico o forma irregular con respecto al resto de la pared

- GIM: se midió el GIM en 3 segmentos: la arteria carótida distal común (1 cm proximal a la dilatación del bulbo carotideo), la bifurcación de ambas arterias carótidas (1 cm proximal a la división) y la arteria carótida interna proximal. La medición media de dichos segmentos se realizará mediante el software integrado en el dispositivo ecógrafo, tomando 50 medidas de referencia en cada segmento y dando como resultado la media final de los mismos en arteria carótida derecha e izquierda (148,257,258).
  - Determinación de la VOP: se usó el dispositivo Mobil-O-Graph® 24h pulse wave analysis monitor (IEM GmbH, Stolberg, Germany), cuyo funcionamiento se basa en la oscilometría registrada mediante un manguito de PA colocado sobre la arteria braquial (164). A partir de esta exploración se obtuvo la siguiente variable:
    - VOP: se definió como valor de VOP elevada aquella igual o superior al percentil 75 medido en el grupo de control.

## 5. Análisis de los datos

### 5.1 Estudio descriptivo

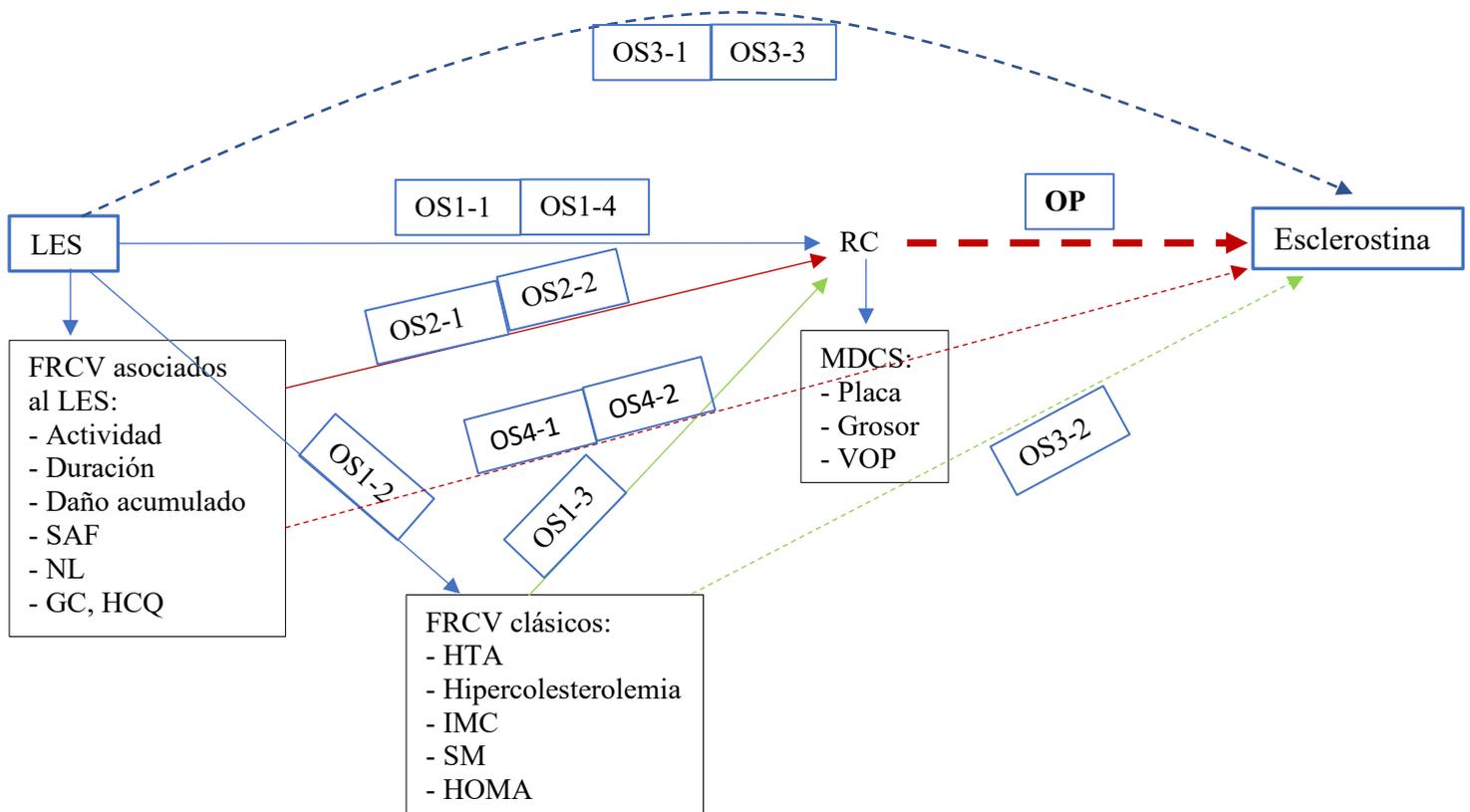
Se realizó separadamente para la serie de casos y para el grupo control. Para las variables cuantitativas se obtuvieron sus medias  $\pm$  desviación estándar (salvo aquellas para las que, por alejarse de una distribución aproximable a una normal, se optó por estimar su mediana y rango intercuartílico). Para las variables categóricas se obtuvieron las proporciones de cada categoría.

## 5.2 Estudio analítico

### 5.2.1 Planteamiento teórico de los análisis realizados

Al haber empleado un diseño observacional sin seguimiento, nuestro estudio no permite verificar hipótesis causales. No obstante, ello no es obstáculo para que, a la hora de plantear nuestros objetivos, basemos éstos en la existencia de asociaciones causales entre las variables recogidas, unas ya verificadas en estudios previos y otras que se plantean como hipótesis del presente estudio (ver apartado correspondiente). Así, la constatación o no de las asociaciones que se plantean estimar a partir de los análisis que se describirán en el siguiente apartado no vendrían sino a aportar evidencias empíricas en favor o en contra de dichas hipótesis causales. En el gráfico acíclico dirigido (DAG, por sus siglas en inglés) que se muestra en la Figura 6 se describen de forma gráfica las hipótesis causales en las que se sustentan los objetivos y, en consecuencia, la estrategia de análisis. La flecha discontinua roja es la hipótesis que sustenta el objetivo primario (OP) de esta Tesis Doctoral. El resto de flechas, cuya valoración corresponde a cada uno de los objetivos secundarios (OS), muestran otras asociaciones causales que tienen, en última instancia, al LES como punto de partida. Para algunas de ellas (marcadas en trazo continuo) ya existe sólida evidencia a favor de su existencia en la bibliografía, y nuestro estudio solo tratará de confirmarlas en nuestras poblaciones de estudio. Para otras (de trazo discontinuo), las evidencias son débiles, contradictorias o inexistentes, y nuestro estudio se limitará a aportar evidencias a favor o en contra de su existencia. Por lo demás, algunas de ellas (las de color azul) requieren el uso de las dos poblaciones de estudio (mujeres con y sin LES), para su verificación; otras (marcadas en color rojo), únicamente se pueden analizar empleando la muestra de mujeres con LES. Finalmente, otras asociaciones (marcadas en verde) pueden estudiarse tanto en la población total de mujeres como en cada uno de los dos subgrupos que la componen. A continuación, describimos cada asociación de forma pormenorizada:

Figura 6. DAG que muestra las potenciales asociaciones causales que se proponen entre las variables recogidas en la presente Tesis Doctoral (leer la explicación en el texto). OP: Objetivo Primario; OS: Objetivos Secundarios.



### Primer objetivo secundario (OS1)

La asociación entre la presencia de LES y un mayor riesgo cardiovascular está ampliamente contrastada en la bibliografía. Para confirmar su existencia se requiere comparar la magnitud de los marcadores de daño cardiovascular subclínico en mujeres con y sin LES. Esta comparación se puede hacer de forma cruda (OS1-1), o ajustando por los FRCV clásicos (OS1-4). La comparación de ambas estimaciones (cruda versus ajustada) nos permitirá estimar que parte de la asociación entre LES y los MDCS podría ser explicada por los factores clásicos. Este último camino causal dependería de que existieran otras dos asociaciones:

- La que relacionaría el LES con los FRCV clásicos (OS1-2).
- La que relacionaría los FRCV clásicos con los MDCS (OS1-3).

Aunque esta última asociación podría valorarse en la muestra total de mujeres o, separadamente, en ambos subgrupos de ellas, hemos preferido estimarla únicamente entre las mujeres del grupo control, pues entre los casos de LES se asume que el diagnóstico de esta entidad habrá propiciado cambios en dichos factores, al margen del RCV causalmente asociado a los mismos (recordemos que nuestro estudio es transversal).

### Segundo objetivo secundario (OS2)

Dando por cierta la existencia de una asociación entre el LES y los MDCS, es razonable suponer que la magnitud de esta asociación variará en función de las características de LES (actividad, duración, daño acumulado, etc.). Se trata pues, de estimar, en el subgrupo de mujeres con LES, si la magnitud de dichos MDCS es diferente en función de dichas características. Al igual que para el primer objetivo secundario, estas diferencias se pueden estimar de forma cruda (OS2-1) o tras ajustar por el efecto de los FRCV clásicos (OS2-2).

### Tercer objetivo secundario (OS3)

Se trata de cuantificar la asociación entre LES y los niveles de esclerostina. En principio, toda la asociación cruda (OS3-1), debería ser explicada por la asociación, ya valorada en el OP, entre el LES y los MDCS. Sin embargo, una parte de ella también podría depender de la que existiera entre los FRCV clásicos y los niveles de esclerostina (OS3-2). Esta última asociación ha sido valorada únicamente en el grupo control, por la misma razón que la expuesta para el estudio de la asociación entre dichos factores y los MDCS (OS1-2). La comparación de las asociaciones crudas y ajustadas entre el LES y la esclerostina (OS3-1 versus OS3-3, respectivamente) nos permitirá identificar qué parte de la asociación cruda no es explicada por los MDCS y/o por los FRCV clásicos.

#### Cuarto objetivo secundario (OS4)

Trata de estimar la asociación entre las características del LES y los niveles de esclerostina. En principio, la asociación cruda (OS4-1) debería ser enteramente explicada por la que existiera entre dichas características y los MDCS. Para valorar esta hipótesis, así como el posible efecto adicional que sobre la asociación cruda tengan los factores clásicos de RCV, se estimará la asociación entre las características del LES y los niveles de esclerostina ajustada por los MDCS y/o los FRCV clásicos (OS4-2).

En la siguiente sección describiremos las técnicas estadísticas empleadas para cuantificar las asociaciones representadas en el DAG y explicadas en el apartado anterior.

##### 5.2.2. Técnicas estadísticas aplicadas:

A) Estimación de la validez de los niveles de esclerostina como marcador diagnóstico del daño cardiovascular subclínico en las mujeres con LES (OP).

Dado que se emplearon tres MDCS (presencia o no de PC, valores de VOP y de GIM), el primer paso fue cuantificar el grado de correlación existente entre ellos en nuestra de mujeres con LES. Puesto que VOP y GIM son dos variables cuantitativas y dado que, a nuestro juicio, el principal marcador es la presencia de PC, se obtuvieron las correspondientes curvas ROC (Característica Operativa del Receptor) de los otros dos marcadores con respecto a ella. El parámetro empleado para cuantificar la concordancia entre marcadores fue el área bajo la curva (AUC, por sus siglas en inglés). Por lo demás, la curva ROC nos permitió dicotomizar los valores de VOP y de GIM tomando como punto de corte los correspondientes valores que maximizaron la validez global de ambas variables (Sensibilidad + Especificidad -1).

Una vez dicotomizados los valores de VOP y GIM (VOPd y GIM dicotomizado, respectivamente), se obtuvieron las curvas ROC de los niveles de esclerostina para los tres marcadores dicotómicos. La validez diagnóstica de dichos niveles se cuantificó

mediante el AUC. Para cada marcador se obtuvo el punto de corte de los niveles de esclerostina que maximizaba la validez diagnóstica de ésta.

B) Valoración de la significación estadística de las diferencias de las variables independientes en función de los subgrupos definidos por variables dicotómicas.

Se empleó el test t de Student para muestras independientes cuando las variables independientes fueron cuantitativas aproximables a una distribución normal, el test de Mann-Whitney para las variables independientes cuantitativas no aproximables a una distribución normal y el test chi cuadrado para las variables independientes dicotómicas o categóricas. Todos los contrastes de hipótesis se realizaron a dos colas y se tomó un umbral p de significación estadística  $< 0.05$ .

C) Estimadores de fuerza de asociación:

#### C.1) Planteamiento general

Dependiendo del objetivo considerado (principal y objetivos secundarios 1 a 4), las variables de desenlace (o variables dependientes) fueron cada uno de los tres MDCS), los niveles de esclerostina y cada uno de los principales factores clásicos de RCV.

Cuando la variable dependiente fue dicotómica (por ejemplo, la presencia o no de PC o los valores de VOPd y GIM dicotomizado), se emplearon modelos de regresión logística, univariantes (para obtener estimaciones de asociación crudas), o multivariantes (para obtener estimaciones ajustadas). Dichos modelos permitieron estimar la fuerza de asociación a través de las Odds Ratio (OR), crudas o ajustadas, así como sus correspondientes intervalos de confianza al 95% (IC 95). La OR estima el incremento en la odds de desarrollar el desenlace (valor 1 de la variable dependiente), por cada unidad de incremento de la variable independiente. Una OR igual a 1 indica ausencia de asociación (valor nulo).

Cuando la variable dependiente fue cuantitativa aproximable a una distribución normal (por ejemplo, los valores de VOP, de GIM o de esclerostina) se emplearon modelos de regresión lineal, simple (para obtener estimaciones de asociación crudas), o múltiple (para

obtener estimaciones ajustadas). Dichos modelos permitieron estimar la fuerza de asociación a través de los coeficientes de regresión, crudos o ajustados, así como su correspondientes IC 95. El coeficiente de regresión estima el número de unidades en que se incrementa la variable dependiente por cada unidad de incremento de la variable independiente. Un coeficiente igual a 0 indica ausencia de asociación.

## C.2) Particularidades

Para valorar la utilidad de la esclerostina como marcador diagnóstico de los MDCS se aplicaron dos estrategias de construcción de los modelos multivariantes:

- Modelos explicativos: aparte de la esclerostina, se incluyeron como términos independientes del modelo todas las variables que, de acuerdo con el modelo teórico representado en el DAG, pudieran confundir o mediar en la asociación postulada a priori entre esclerostina y MDCS.
- Modelos predictivos: se construyeron mediante un procedimiento paso a paso hacia delante (*stepwise forward*). En cada paso se incluyó o se excluyó una variable en el modelo. El criterio de inclusión en cada paso fue el de añadir al modelo aquella variable independiente cuya asociación con el correspondiente marcador tuviera el menor valor p (siempre por debajo del umbral de 0.05). El criterio de exclusión en cada paso fue el de retirar del modelo aquella variable independiente cuya asociación con el correspondiente marcador tuviera un valor p mayor a 0.1. Así, el modelo finalmente construido retuvo en el mismo todas aquellas variables independientes asociadas con el desenlace (el MDCS), con un valor  $p < 0.1$ .

Para el resto de modelos multivariantes se aplicó una estrategia explicativa, incluyendo en el modelo todas las variables independientes que, de acuerdo con el DAG, pudieran ser confusores o mediadores de la asociación bajo estudio.

Para valorar si la presencia de LES modificaba la asociación entre los niveles de esclerostina y los MDCS (objetivo secundario 5) se aplicó una estrategia en dos pasos:

- En primer lugar, se estudió separadamente dicha asociación en los dos subgrupos de mujeres (con y sin LES).
- En segundo lugar, se estudió dicha asociación en el total de la muestra con y sin la inclusión de un término de interacción entre los valores de esclerostina y la presencia o no de LES. Mediante el test de la razón de verosimilitudes se valoró la mejora en la bondad del ajuste del modelo que incluía el término de interacción frente al modelo sin dicho término. Para descartar la identificación de falsas interacciones, en este análisis se bajó el umbral de significación estadística a un valor  $p < 0.01$ .

Todos los análisis se realizaron con el software Stata (versión 17).

## **CAPÍTULO V: RESULTADOS**

## V. RESULTADOS

### 1. Descripción de las características de las pacientes con LES y las mujeres sin LES incluidas en el estudio

Tras aplicar los criterios de inclusión y de exclusión comentados previamente en el apartado IV se incluyeron, previa firma del consentimiento informado, a **68 pacientes** con diagnóstico de LES con seguimiento en la Unidad de Enfermedades Autoinmunes del Hospital Universitario Virgen de las Nieves y **71 mujeres sin LES** reclutadas para el estudio.

#### 1.1 Características demográficas

La edad media de las pacientes fue 43.8 años muy similar a las mujeres sin LES, con 42.7 años. Tampoco hubo diferencias con respecto al nivel educativo de las muestras.

Tabla 5. Características demográficas de las mujeres con y sin LES. SD: desviación estándar.

Variable		Con LES		Sin LES	
		Media	SD	Media	SD
Edad (años)		43.8	11	42.7	11.3
Variable	Categoría	N	%	N	%
Nivel de estudios	Sin estudios	0	0	1	1.4
	Estudios primarios	40	58.8	36	50.7
	Estudios universitarios	28	41.2	34	47.9

#### 1.2 Comorbilidad y tratamientos habituales

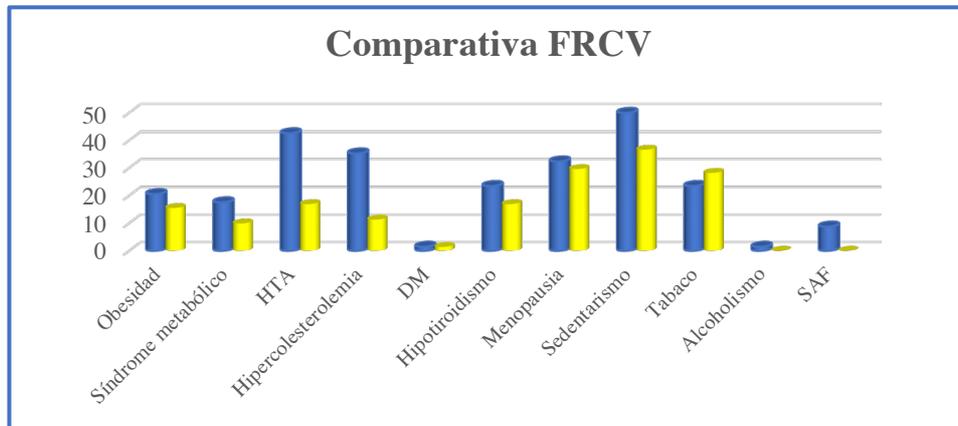
En cuanto a la comorbilidad relacionada con el RCV, la serie de casos de LES presentó mayor prevalencia de FRCV clásicos: obesidad (20.6% vs 15.5%),

hipercolesterolemia (35.3% vs 11.3%), HTA (42.6% vs 16.9%), síndrome metabólico (17.6% vs 9.9%) y sedentarismo (50% vs 36.6%). No hubo diferencias en cuanto a la diabetes mellitus, tabaquismo o alcoholismo. También se objetivó mucha mayor incidencia de SAF (8.8% vs 0 mujeres sanas). En la Tabla 6 y Figura 6 se han resumido los resultados más importantes con respecto a la comorbilidad relacionada con el RCV y los FRCV.

Tabla 6. Resumen de la comorbilidad cardiovascular de las mujeres con y sin LES.

Variable	Categoría	Con LES		Sin LES	
		N	%	N	%
Obesidad	Sí	14	20.6	11	15.5
	No	54	79.4	60	84.5
Hipercolesterolemia	Sí	24	35.3	8	11.3
	No	44	64.7	63	88.7
HTA	Sí	29	42.6	12	16.9
	No	39	57.4	59	83.1
Tabaco	Sí	16	23.5	20	28.2
	No	52	76.5	51	71.8
Alcoholismo	Sí	1	1.5	0	-
	No	67	98.5	71	100
Diabetes mellitus	Sí	1	1.5	1	1.4
	No	67	98.5	70	98.6
Hipotiroidismo	Sí	16	23.5	12	16.9
	No	52	76.5	59	83.1
Menopausia	Sí	22	32.4	21	29.6
	No	46	67.6	50	70.4
Sedentarismo	Sí	34	50	26	36.6
	No	34	50	45	63.4
Síndrome metabólico	Sí	12	17.6	7	9.9
	No	56	82.4	64	90.1
Síndrome antifosfolípido	Sí	6	8.8	0	-
	No	62	91.2	71	100

Figura 6. Comparativa de los FRCV entre las pacientes con LES (azul) y las mujeres sanas (amarillo).



Con respecto a la farmacología, en general, la serie de casos presentó mayor prevalencia de los tratamientos habituales recogidos en la Tabla 7. Tanto los tratamientos hipolipemiantes, antihipertensivos, antiagregantes o relacionados con el suplemento o aporte de calcio son significativamente más prevalentes en la muestra de mujeres con LES que en la muestra de mujeres sin LES. Por el contrario, el uso de AINEs tanto diarios como tres veces a la semana no presentó diferencias importantes.

En la Tabla 8 se reflejan los tratamientos dirigidos específicamente para el control del LES y sólo recogidos en la serie de casos de mujeres con LES, destacando un uso muy elevado de HDQ (85.3%) y un uso de GC en menos de la mitad de los casos (38.2%).

Tabla 7. Resumen de los tratamientos habituales de las pacientes con LES y las mujeres sanas.

Variable	Categorías	Con LES		Sin LES	
		N	%	N	%
AINEs diarios	Sí	10	14.7	7	9.9
	No	58	85.3	64	90.1
AINEs 3 veces semana	Sí	11	16.2	11	15.5
	No	57	83.8	60	84.5
Aspirina	Sí	16	23.5	0	-
	No	52	76.5	71	100
Anticoagulación	Sí	2	2.9	0	-
	No	66	97.1	71	100
Estatina	Sí	16	23.5	6	8.5
	No	52	76.5	65	91.5
Antihipertensivo	No	44	64.7	64	90.1
	IECA	16	23.5	1	1.4
	ARA-II	7	10.3	4	5.6
	Antagonista del calcio	3	4.4	0	-
	Betabloqueante	5	7.4	2	2.8
Diurético	No	62	91.2	68	95.8
	Tiazidas	2	2.9	3	4.2
	Diurético del asa	3	4.4	0	-
	Antialdosterónico	1	1.5	0	-
Metabolismo del calcio	No	29	42.6	67	94.4
	Calcio	5	7.4	1	1.4
	Vitamina D	21	30.9	1	1.4
	Calcio y vitamina D	13	19.1	2	2.8
	Denosumab	3	4.4	0	-
	Bifosfonato	3	4.4	0	-

Tabla 8. Resumen de los tratamientos relacionados con el LES de la serie de casos.

Variable	Con LES	
	Media	SD
Dosis diaria de prednisona (mg)	2.5	4
Dosis acumulada de prednisona último año (gr)	0.9	1.3

Variable	Categorías	N	%
Prednisona	Sí	26	38.2
	No	42	61.8
HCQ	Sí	58	85.3
	No	10	14.7
Inmunosupresores	No	47	69.1
	Azatioprina	3	4.4
	Metotrexate	5	7.4
	Micofenolato	13	19.1
Ciclofosfamida	Sí	0	-
	No	68	100
Biológicos	Sí	3	4.4
	No	95.6	88.2
Uso de biológicos en algún momento	Sí	11	16.2
	No	57	83.8

### 1.3 Características antropométricas, cardiovasculares y analíticas

No hubo diferencias entre las medidas antropométricas objetivadas en la serie de casos de LES y las mujeres sanas tomados de forma pareja. En cuanto a las técnicas de diagnóstico de RCV subclínico sólo hubo diferencias importantes en la presencia de PC (35.3% en las pacientes con LES vs 19.7% en mujeres sin LES) y en el hallazgo de ITB patológico (7.4% vs 1.4%). En el resto de medidas (VOP, GIM derecho e izquierdo, ITB cuantitativo) las medias fueron muy similares. Las principales medidas antropométricas y de detección de RCV subclínico están resumidas en la Tabla 9.

En las Tablas 10, 11, 12, 13 y 14 están resumidos los resultados analíticos obtenidos en el estudio. De ellos cabe destacar la proteinuria obtenida mediante el cociente albúmina/creatinina (CA/C) donde las mujeres con LES tuvieron una media de 39.1 vs 10.2 en los controles, siendo significativa en mayor porcentaje (29.4% vs 5.6%). Las mujeres sin LES tuvieron cifras medias más elevadas de CT y LDL. En cuanto a los marcadores de inflamación sistémica tanto la PCR como la VSG fueron más elevadas en la serie de casos de LES. Por último, los dos biomarcadores de RCV subclínico estudiados estuvieron más elevados en las pacientes con LES que en las mujeres sanas: esclerostina 69.1 pmol/L (SD 42.7) vs 44 pmol/L (SD 32.1) y HsTn 2.3 pg/mL (SD 3.4) vs 1.3 pg/mL (SD 1.4).

Tabla 9. Resumen de las medidas antropométricas y de detección de RCV subclínico.

Variable		Con LES		Sin LES	
		Media	SD	Media	SD
Altura (cm)		170	6.6	162.9	11.3
Peso (kg)		66	11.6	66.7	13.8
IMC (kg/m <sup>2</sup> )		25.6	4.9	25.2	5.4
Perímetro de cadera (cm)		93.6	12	94.2	10.9
Perímetro abdominal (cm)		83.7	13.4	81.8	12.1
PAS (mmHg)		117.3	14.7	118.2	13.1
PAD (mmHg)		77.8	10.5	76.4	9.2
Presión diferencial (mmHg)		40	10.2	41.6	10.8
Frecuencia cardíaca (lpm)		76.1	10.9	76.8	11.8
VOP (m/s)		6.4	1.2	6.4	1.3
GIM derecho (mm)		0.55	0.08	0.54	0.09
GIM izquierdo (mm)		0.56	0.11	0.59	0.28
ITB derecho		1.15	0.15	1.15	0.12
ITB izquierdo		1.15	0.13	1.15	0.13
Variable	Categorías	N	%	N	%
VOPd	Sí	17	25	17	23.9
	No	51	75	54	76.1
PC	Sí	24	35.3	14	19.7
	No	44	64.7	57	80.3
ITB patológico	Sí	5	7.4	1	1.4
	No	63	92.6	70	98.6

Tabla 10. Resumen de los valores del hemograma.

Variable	Con LES		Sin LES	
	Media	SD	Media	SD
Leucocitos (x 10 <sup>3</sup> /uL)	6.062,80	6.062,80	6.720,10	1.635,10
Neutrófilos (x 10 <sup>3</sup> /uL)	3.482,00	1.537,60	3.685,50	1.171,60
Linfocitos (x 10 <sup>3</sup> /uL)	1.856,90	691,8	2.280,30	570,3
Hemoglobina (g/dL)	13,80	1	13,60	1
Plaquetas (x 10 <sup>3</sup> /uL)	247.720,60	62.445,40	260.197,20	64.084,20

Tabla 11. Resumen de los resultados analíticos relacionados con el metabolismo glucémico.

Variable	Con LES		Sin LES	
	Media	SD	Media	SD
Glucemia (mg/dL)	77.7	10.9	80.4	7.7
Hemoglobina glicosilada (%)	5.3	0.5	5.2	0.3
Insulina (U/mL)	8	8.9	6.5	4.5
Índice HOMA	1.6	2.2	1.3	1

Tabla 12. Resumen de los resultados analíticos de la función renal y el metabolismo fosfocálcico.

Variable	Con LES		Sin LES	
	Media	SD	Media	SD
Creatinina (mg/dL)	0.7	0.1	0.7	0.1
Albúmina (gr/dL)	4.2	0.3	4.3	0.3
Filtrado glomerular (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	100.4	20.3	94.4	13.2
CA/C	39.1	72.5	10.2	9.2
Calcio (mg/dL)	9	0.4	9.2	0.4
Fósforo (mg/dL)	4	4.2	3.6	0.4
Vitamina D (ng/mL)	24.6	8.2	24	8.2
PTH (pg/dL)	69	32.5	69.5	31.1
Tirotropina (U/mL)	2.5	1.4	2.3	2.3
Ácido úrico (mg/dL)	4.6	1.1	4.4	1.1

<b>Variable</b>	<b>Categoría</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Proteinuria significativa	Sí	20	29.4	4	5.6
	No	48	70.6	67	94.4

Tabla 13. Resumen de los perfiles lipídicos.

<b>Variable</b>	<b>Con LES</b>		<b>Sin LES</b>	
	<b>Media</b>	<b>SD</b>	<b>Media</b>	<b>SD</b>
CT (mg/dL)	175.4	27.3	193.7	33.8
LDL (mg/dL)	107.2	21.5	117.6	25.3
HDL (mg/dL)	59.6	12.5	66.4	13.9
TG (mg/dL)	84.6	48	75.4	31.7

Tabla 14. Resumen de los biomarcadores y marcadores de inflamación sistémica.

<b>Variable</b>	<b>Con LES</b>		<b>Sin LES</b>	
	<b>Media</b>	<b>SD</b>	<b>Media</b>	<b>SD</b>
Homicisteína (mmol/L)	11.5	13.5	9.7	4
PCR (mg/L)	3.3	6.5	2.4	4.3
VSG (mm/h)	16.9	16.4	12.4	7.4
Esclerostina (pmol/L)	69.1	42.7	44	32.1
HsTn (pg/mL)	2.3	3.4	1.3	1.4

#### 1.4 Características clínicas y analíticas relacionadas con el lupus eritematoso sistémico.

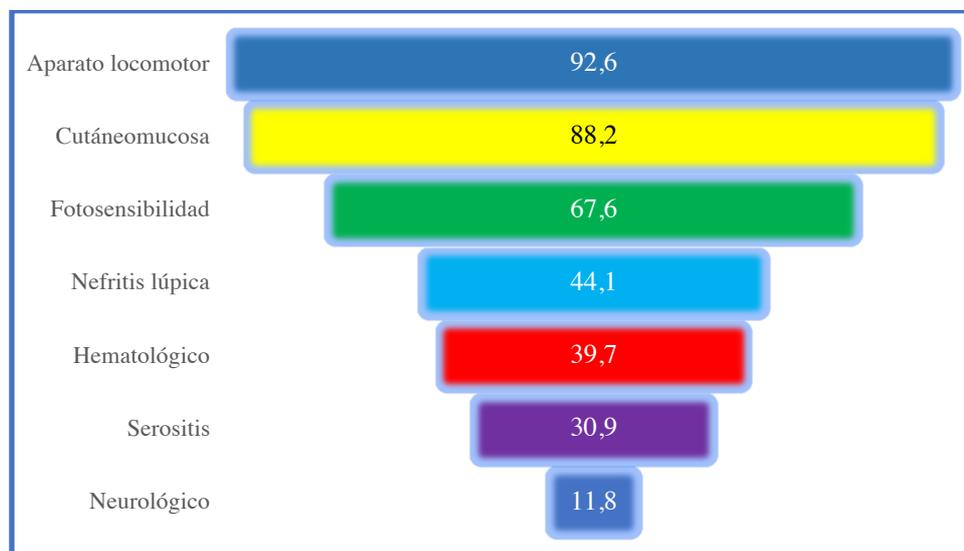
Las características clínicas se resumen en la Figura 7 y los resultados están recogidos en la Tabla 15. El 88.2% de los casos habían presentado manifestaciones cutáneas en algún momento de la enfermedad, el 67.6% fotosensibilidad, el 92.6% afectación articular y el 39.7% alguna alteración hematológica (anemia el 17.6%,

leucopenia el 25% y plaquetopenia el 13.2%). El 30.9% habían desarrollado serositis durante el curso evolutivo del LES (pleuritis 11.8%, pericarditis 8.8% y un 10.3% ambas). El 11.8% presentaban alguna clínica neurológica y el 44.1% algún tipo de NL, siendo la más frecuente la NL tipo IV (en el 57.7% de los casos biopsiados), seguida de la V (en un 26.9%).

Tabla 15. Manifestaciones de LES recogidas en la serie de casos.

Variable	Categorías	Mujeres con LES	
		N	%
Cutáneomucosa	Sí	60	88.2
	No	8	11.8
Fotosensibilidad	Sí	46	67.6
	No	22	32.4
Aparato locomotor	Sí	63	92.6
	No	5	7.4
Hematológico	Sí	27	39.7
	No	41	60.3
Anemia	Sí	12	17.6
	No	56	82.4
Leucopenia	Sí	17	25
	No	51	75
Plaquetopenia	Sí	9	13.2
	No	59	86.8
Serositis	No	47	69.1
	Pericarditis	8	11.8
	Pleuritis	6	8.8
	Pericarditis y pleuritis	7	10.3
Neurológico	Sí	8	11.8
	No	60	88.2
Nefritis lúpica	Sí	30	44.1
	No	38	55.9
Tipo de nefropatía	Tipo I	0	-
	Tipo II	1	3.8
	Tipo III	3	11.5
	Tipo IV	15	57.7
	Tipo V	7	10.3

Figura 7. Representación gráfica de los síntomas de LES más frecuentes recogidos en la serie de casos.



En cuanto al resto de características exclusivas de la serie de casos destaca un tiempo de evolución medio de la enfermedad de 15.5 años. En el momento de la recogida de datos presentaban un SLEDAI de 1.4 y SLICC de 2.5. Además, se objetivó la presencia de al menos un anticuerpo antifosfolípido relacionado con el SAF en el 32.4% de la serie de casos. La proteinuria en orina de 24 horas media recogida fue 147.2 mg. Los resultados de los anticuerpos relacionados con el SAF, así como de los marcadores de actividad y daño crónico del LES están recogidos en las Tablas 16 y 17.

Tabla 16. Resumen de los anticuerpos antifosfolípido de la serie de casos.

Variable	Categorías	Mujeres con LES	
		N	%
Alguno positivo	Sí	22	32.4
	No	46	67.6
Anticoagulante lúpico	Sí	16	23.5
	No	52	76.5
Anticuerpo anticardiolipina	Sí	9	13.2
	No	59	86.8
Anti-beta-2-glicoproteína	Sí	14	20.6
	No	54	79.4

Tabla 17. Resumen de los marcadores de actividad y de daño crónico del curso evolutivo del LES.

Variable	Mujeres con LES	
	Media	SD
Años de evolución	15.5	8.3
SLEDAI	1.4	2.1
SLICC	2.5	4
Anticuerpos anti-DNA (U/L)	17.9	35,2
Complemento C3 (mg/dL)	82.3	20.8
Complemento C4 (mg/dL)	14.6	6
Proteinuria de 24 horas (mg)	147.2	135.1

## 2. Estudio analítico

### 2.1. Objetivo principal: Asociación entre los niveles de esclerostina y los MDCS

#### 2.1.1 Asociación entre los distintos MDCS empleados

La Figura 8 muestra la curva ROC para los valores de VOP frente al estado de PC. Se obtuvo un AUC de 0.836 (IC 95%: 0.729 a 0.916). El punto de corte de VOP que maximizó su validez diagnóstica con respecto al estado de CP fue de 6.7 m/s, con un valor de sensibilidad de 83.3% (IC 95%: 62.6 a 95.3) y un valor de especificidad de 75.0% (IC 95%: 59.7 a 86.8).

La Figura 9 muestra la curva ROC para los valores de GIM frente al estado de PC. Se obtuvo un AUC de 0.670 (IC 95%: 0.729 a 0.916). El punto de corte de GIM que maximizó su precisión de clasificación con respecto al estado de CP fue de 0.67 mm, con un valor de sensibilidad de 37.5% (IC 95%: 62.6 a 95.3) y un valor de especificidad de 86.4% (IC 95%: 59.7 a 86.8).

Figura 8. Curva ROC y AUC para los valores de VOP versus estado de PC.

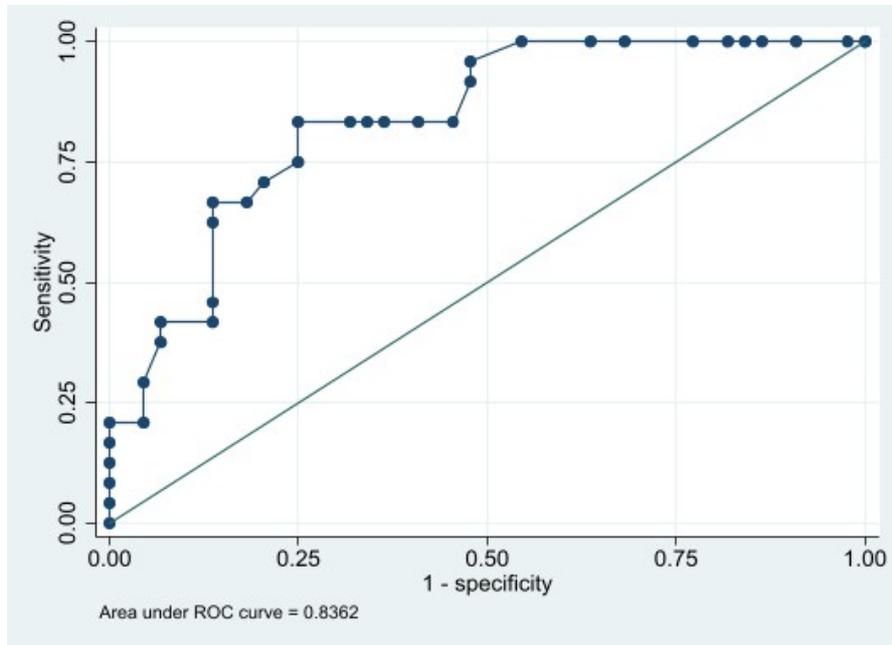
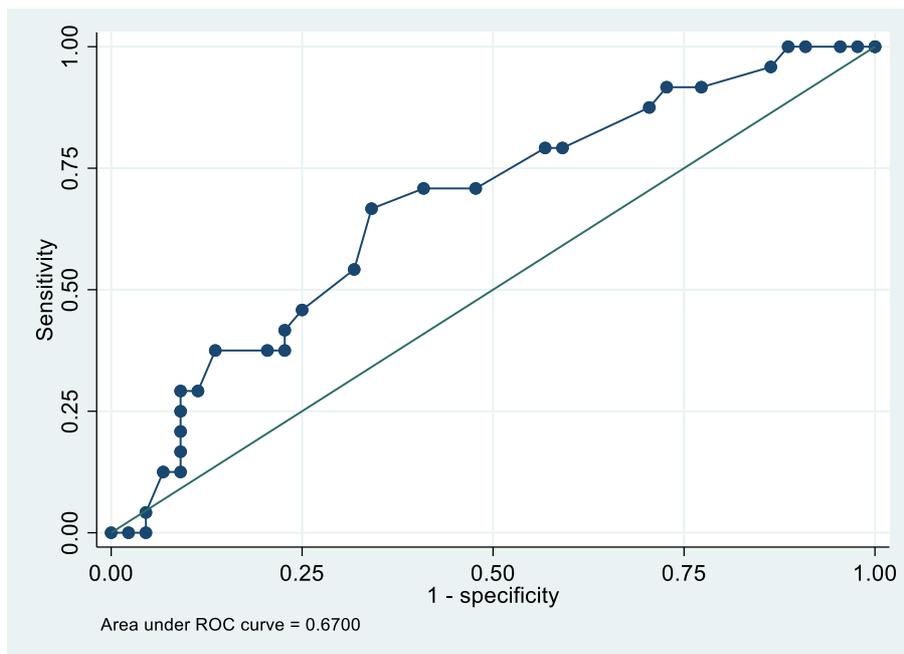


Figura 9. Curva ROC y AUC para los valores de GIM versus estado de PC.



### 2.1.2 Asociación entre los niveles de esclerostina y la presencia de placa carotídea

La Figura 10 muestra la curva ROC para los valores de esclerostina frente al estado de PC. Se obtuvo un AUC de 0.785 (IC del 95 %: 0.662 a 0.871). El punto de corte de la esclerostina que maximizó su validez diagnóstica con respecto al estado de PC fue de 99.2 U/L, con un valor de sensibilidad del 54.2 % (95 % IC 32.8 a 74.4) y un valor de especificidad del 93.2 % (95 % IC 81.3 a 98.6).

La Tabla 18 resume los resultados de los modelos logísticos aplicados a la PC como variable dependiente. La OR bruta estimado para la esclerostina (x10 unidades) fue de 1.31 (IC del 95 %: 1.13 a 1.53), lo que indica un aumento del 31 % en la odds de que la PC esté presente por cada aumento de 10 unidades en los valores de esclerostina. Otras variables independientes relacionadas con aumentos significativos en las probabilidades de PC fueron la edad, la duración de la enfermedad y *score* de Framingham.

En el modelo explicativo multivariante (que incluyó todas las variables independientes), la estimación de OR ajustada para la esclerostina arrojó un valor ligeramente superior (OR, 1.44; IC del 95 %: 1.01 a 2.05). En el modelo predictivo, el *stepwise model* solo permitió la inclusión de la edad, con un aumento significativo del 19% en las probabilidades de PC por cada incremento de un año de edad.

Figura 10. Curva ROC para los valores de esclerostina versus estado de PC.

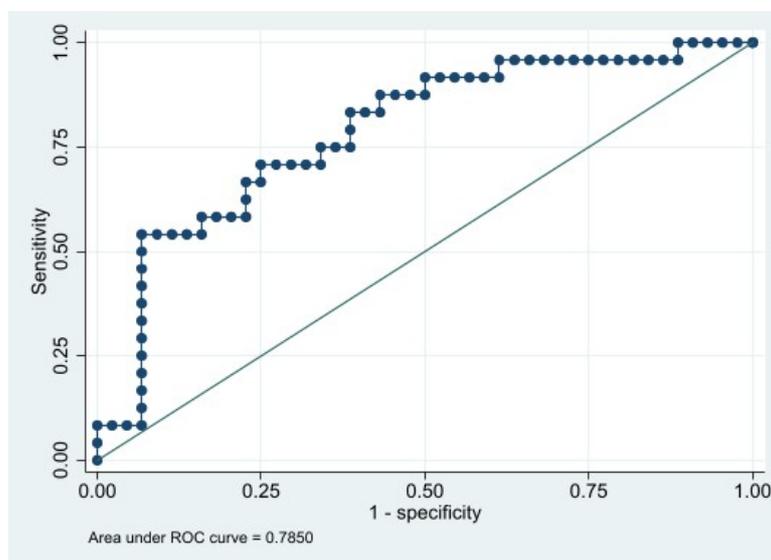


Tabla 18. Estimaciones de OR obtenidas mediante Modelos de Regresión Logística para la presencia de PC.

Variable	Estimación cruda		Estimación ajustada <sup>1</sup>		Modelo predictivo <sup>2</sup>	
	OR	95% CI	OR	95% CI	OR	95% CI
Esclerostina <sup>3</sup>	1.31	1.13; 1.53	1.44	1.01; 2.05		
Edad	1.19	1.09; 1.30	1.16	0.90; 1.50	1.19	1.09; 1.30
IMC	1.05	0.95; 1.16	0.67	0.46; 0.96		
Duración del LES	1.10	1.03; 1.19	1.06	0.91; 1.25		
Tabaco	1.13	0.35; 3.62	0.02	0.00; 1.92		
Sedentarismo	1.29	0.48; 3.51	0.44	0.05; 3.84		
HTA	2.71	0.97; 7.53	0.71	0.08; 6.68		
LDL $\geq$ 130 mg/dL	2.02	0.72; 5.66	2.34	0.18; 29.79		
SM	3.21	0.89; 11.57	25.12	0.36; 1737		
SLEDAI	0.81	0.60; 1.07	0.51	0.18; 1.45		
SLICC > 0	0.34	0.09; 1.34	0.03	0.00; 0.86		
SAF	1.95	0.36; 10.52	3.37	0.06; 186.88		
GC	0.84	0.55; 1.27	0.87	0.31; 2.45		
HCQ	0.79	0.20; 3.13	1.27	0.03; 54.47		
NL	0.50	0.18; 1.41	1.40	0.04; 48.04		
PCR	1.07	0.97; 1.19	1.10	0.85; 1.42		
C3	1.03	1.00; 1.06	0.93	0.85; 1.01		
C4	1.06	0.97; 1.16	1.17	0.85; 1.60		
Framingham	1.69	1.29; 2.22	2.02	0.78; 5.29		

1: El modelo incluyó todas las variables independientes que se muestran en la tabla.

2: El "*stepwise model*" incluyó únicamente aquellas variables con un valor de p para entrar <0.05 y un valor de p para eliminar >0.10.

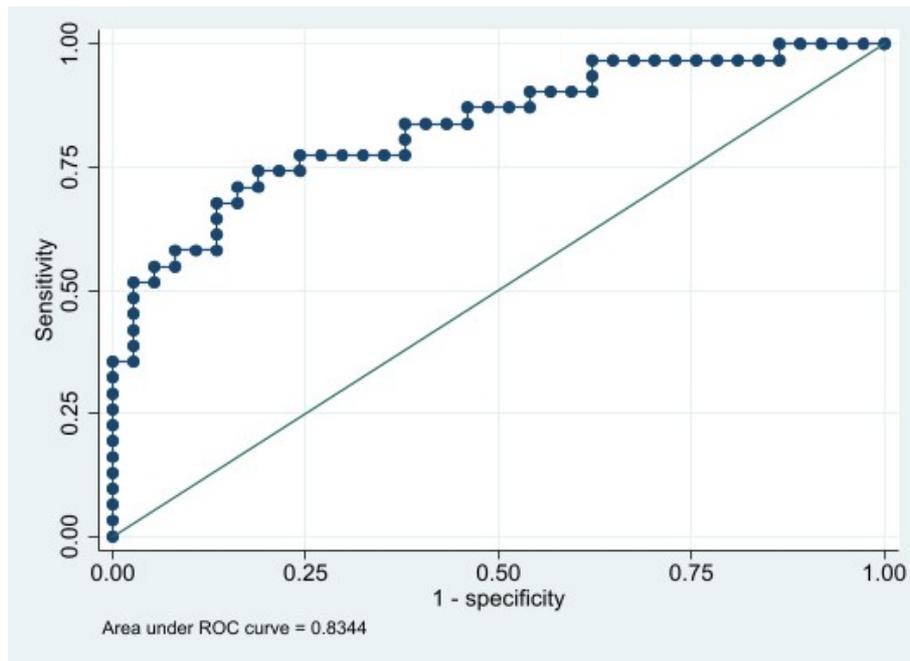
3: Estimado para el valor de la esclerostina x10.

### 2.1.3 Asociación entre los niveles de esclerostina y la VOP

La Figura 11 muestra la curva ROC para los valores de esclerostina frente a la VOP dicotomizada en valores inferiores o iguales/superiores a 6.7 m/s. Se obtuvo un AUC de 0.834 (IC 95%: 0.729 a 0.916). El punto de corte de la esclerostina que maximizó su precisión de clasificación con respecto a la VOP dicotómica (VOPd) fue de 62.9 U/L,

con un valor de sensibilidad del 75.8 % (IC 95%: 57.7 a 88.9) y un valor de especificidad del 81.1 % (IC 95%: 64.8 a 90.4).

Figura 11. Curva ROC para los valores de esclerostina frente a VOPd en valores inferiores o iguales/superiores a 6.7 m/s.



La Tabla 19 muestra los coeficientes de regresión de los modelos lineales ajustados por los valores de VOP como variable dependiente. La estimación cruda revela una asociación positiva significativa para la esclerostina: cada aumento de 10 unidades se asoció con un aumento de 0.14 unidades en los valores de VOP (IC 95%: 0.08 a 0.20). La edad, el IMC, la duración de la enfermedad, la HTA, los valores de LDL superiores a 130 mg/dL, el SM, los niveles séricos de C3 y la escala de riesgo de Framingham también se relacionaron positivamente con los valores de VOP. En cambio, el SLEDAI y la NL exhibieron una relación inversa con la VOP.

El coeficiente de regresión ajustado para la esclerostina fue -0.03 (IC 95%: -0.06 a 0.00). El *stepwise model* incluyó la edad, la HTA y la puntuación de riesgo de Framingham (con coeficientes positivos) y la proteína C reactiva (con un coeficiente negativo), como predictores independientes significativos de los valores de VOP.

Tabla 19. Coeficientes de regresión obtenidos a través del modelo de regresión lineal para la VOP.

Variable	Estimación cruda		Estimación ajustada <sup>1</sup>		Modelo predictivo <sup>2</sup>	
	Coef	95% CI	Coef	95% CI	Coef	95% CI
Esclerostina <sup>3</sup>	0.14	0.08; 0.20	-0.03	-0.06; 0.00		
Edad	0.10	0.09; 0.11	0.08	0.06; 0.10	0.08	0.07; 0.09
IMC	0.11	0.05; 0.16	-0.01	-0.04; 0.02		
Duración del LES	0.06	0.03; 0.10	0.02	-0.00; 0.03		
Tabaco	0.44	-0.27; 1.15	0.16	-0.18; 0.50		
Sedentarismo	0.49	-0.11; 1.08	-0.04	-0.29; 0.21		
HTA	1.05	0.49; 1.61	0.35	0.10; 0.60	0.29	0.08; 0.51
LDL $\geq$ 130 mg/dL	0.88	0.29; 1.48	-0.13	-0.41; 0.14		
SM	1.33	0.60; 2.05	0.33	-0.11; 0.78		
SLEDAI	-0.15	-0.30; -0.02	0.00	-0.06; 0.06		
SLICC > 0	-0.10	-0.81; 0.62	0.04	-0.23; 0.30		
SAF	0.29	-0.77; 1.36	0.13	-0.26; 0.52		
GC	-0.02	-0.25; 0.22	0.06	-0.04; 0.16		
HCQ	-0.34	-1.19; 0.52	-0.38	-0.72; -0.04		
NL	-0.61	-1.20; -0.01	-0.39	-0.71; -0.06		
PCR	0.03	-0.02; 0.07	-0.03	-0.05; -0.01	-0.02	-0.04; -0.01
C3	0.02	0.01; 0.03	-0.00	-0.01; 0.01		
C4	0.04	-0.01; 0.09	0.02	-0.01; 0.04		
Framingham	0.39	0.33; 0.46	0.10	0.03; 0.17	0.12	0.07; 0.18

1: El modelo incluyó todas las variables independientes que se muestran en la tabla.

2: El "*stepwise model*" incluyó únicamente aquellas variables con un valor de p para entrar <0.05 y un valor de p para eliminar >0.10.

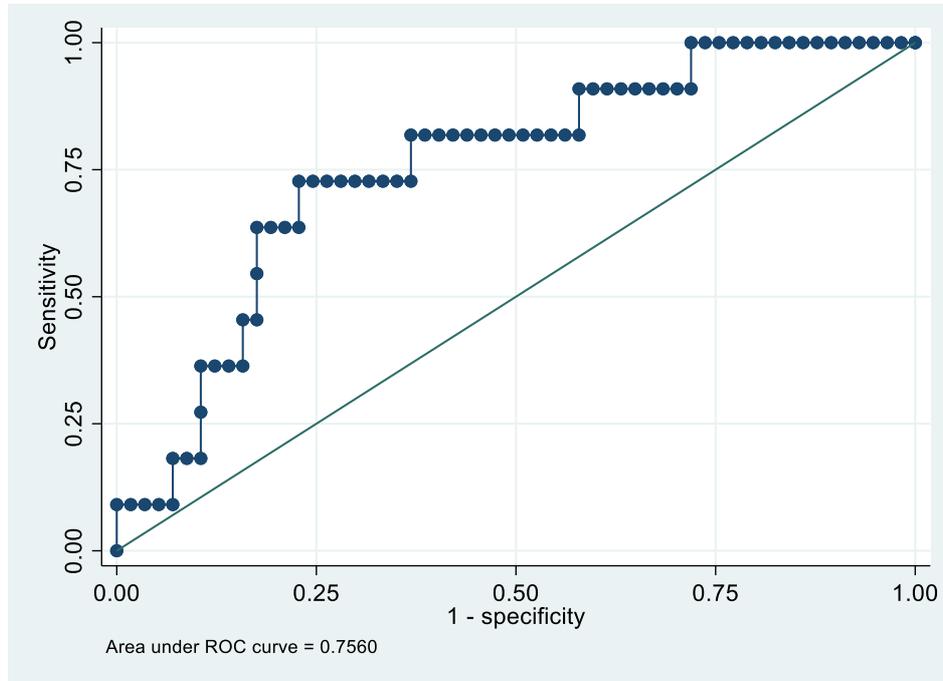
3: Estimado para el valor de la esclerostina x10.

#### 2.1.4 Asociación entre los niveles de esclerostina y el GIM

La Figura 12 muestra la curva ROC para los valores de esclerostina frente al GIM dicotomizado en valores inferiores o iguales/superiores a 0.67 mm. Se obtuvo un AUC de 0.756 (IC 95%: 0.630 a 0.847). El punto de corte de la esclerostina que maximizó su precisión de clasificación con respecto al GIM dicotomizado fue de 94.16 U/L, con un

valor de sensibilidad del 63.6 % (IC 95%: 30.8 a 89.1) y un valor de especificidad del 82.5 % (IC 95%: 70.1 a 91.3).

Figura 12. Curva ROC para valores de esclerostina frente a GIM dicotomizado en 0,67 m/s.



La Tabla 20 muestra los coeficientes de regresión de los modelos lineales ajustados por los valores de GIM como variable dependiente. La estimación cruda revela una asociación positiva significativa para la esclerostina: cada aumento de 10 unidades se asoció con un aumento de 0,01 unidades en los valores de GIM (IC 95%: 0,00 a 0,01).

La edad, el IMC, la duración de la enfermedad, el tabaco, la HTA, los valores de LDL superiores a 130 mg/dL, el SM y la escala de riesgo de Framingham también se relacionaron positivamente con los valores de GIM. El coeficiente de regresión ajustado para la esclerostina fue -0,01 (IC 95%: -0,01 a 0,01). El *stepwise model* incluyó únicamente la escala de Framingham (con coeficientes positivos), como predictores independientes significativos de los valores de GIM.

Tabla 20. Coeficientes de regresión obtenidos a través del modelo de regresión lineal para la VOP.

Variable	Estimación cruda		Estimación ajustada <sup>1</sup>		Modelo predictivo <sup>2</sup>	
	Coef	95% CI	Coef	95% CI	Coef	95% CI
Esclerostina <sup>3</sup>	0.01	0.00; 0.01	-0.01	-0.01; 0.01		
Edad	0.01	0.00; 0.01	0.00	-0.01; 0.01		
IMC	0.01	0.00; 0.01	-0.00	-0.01; 0.01		
Duración del LES	0.00	0.00; 0.01	0.00	-0.00; 0.01		
Tabaco	0.09	0.03; 0.14	0.05	-0.00; 0.13		
Sedentarismo	0.04	-0.01; 0.10	0.03	-0.03; 0.08		
HTA	0.06	0.00; 0.11	0.01	-0.05; 0.06		
LDL $\geq$ 130 mg/dL	0.06	0.00; 0.11	0.02	-0.04; 0.08		
SM	0.08	0.02; 0.15	0.02	-0.08; 0.11		
SLEDAI	0.00	-0.01; 0.01	0.01	-0.01; 0.02		
SLICC > 0	-0.01	-0.06; 0.06	-0.01	-0.06; 0.05		
SAF	-0.01	-0.10; 0.08	-0.01	-0.10; 0.07		
GC	0.00	-0.02; 0.24	0.01	-0.01; 0.03		
HCQ	-0.01	-0.08; 0.02	0.01	-0.06; 0.08		
NL	-0.03	-0.08; 0.02	-0.02	-0.10; 0.05		
PCR	0.00	-0.01; 0.01	-0.01	-0.01; 0.00		
C3	-0.00	-0.01; 0.01	-0.00	-0.00; 0.00		
C4	-0.00	-0.01; 0.01	0.00	-0.01; 0.01		
Framingham	0.02	0.02; 0.03	0.35	0.07; 0.62	0.02	0.02; 0.03

1: El modelo incluyó todas las variables independientes que se muestran en la tabla.

2: El "*stepwise model*" incluyó únicamente aquellas variables con un valor de p para entrar <0.05 y un valor de p para eliminar >0.10.

3: Estimado para el valor de la esclerostina x10.

## 2.2. Objetivos secundarios

### 2.2.1. Asociación entre la presencia de LES y los MDCS (OS1)

En el análisis crudo, la presencia de LES se asocia a una mayor frecuencia de PC, con una OR igual a 2.22 (IC 95%: 1.03 a 4.78). En cambio, no hay una asociación entre el LES y los valores de los otros dos MDCS: para la VOP el coeficiente de regresión crudo fue de 0.02 (IC 95%: -0.39 a 0.45), y para el GIM, de -0.03 (IC 95%: -0.10 a 0.04).

Con respecto a la asociación entre LES y los FRCV clásicos (*OSI-2*), la presencia de LES solo se asoció significativamente a una mayor frecuencia de HTA ( $p=0.001$ ) e hipercolesterolemia ( $p=0.001$ ), así como a mayores valores medios del CA/C ( $p=0.001$ ).

Las Tablas 21, 22 y 23 muestran las asociaciones crudas y ajustadas entre los FRCV clásicos y los tres MDCS (PC, VOP y GIM, respectivamente) obtenidas en la muestra de mujeres sanas (*OSI-3*). La edad es el único factor clásico que se asoció consistentemente con los tres marcadores, asociación que se mantuvo en el análisis multivariante. El índice de Framingham se asoció con la presencia de PC y con mayores valores de VOP. Esta asociación se mantuvo para la VOP en el análisis multivariante, pero no para la PC. La HTA, la hipercolesterolemia, el IMC y el SM se asociaron con la VOP en el análisis crudo, pero solo la primera se mantuvo asociada en el modelo multivariante. El IMC se asoció con el GIM, pero esta asociación también desapareció en el análisis multivariante. Finalmente, el tabaco mostró una asociación inversa con la VOP en el análisis multivariante.

Tabla 21. Estimaciones de OR obtenidas de los FRCV clásicos en función de la presencia de PC.

Variable	Estimación cruda		Estimación ajustada <sup>1</sup>	
	OR	95% CI	OR	95% CI
Edad	1.20	1.08; 1.33	1.31	1.09; 1.59
Tabaco	1.56	0.45; 5.39	1.58	0.16; 15.62
Sedentarismo	0.64	0.18; 2.28	0.31	0.03; 2.85
IMC	1.05	0.95; 1.16	1.09	0.91; 1.29
SM	0.65	0.07; 5.91	0.17	0.00; 13.44
HTA	2.45	0.62; 9.73	0.51	0.05; 5.80
LDL $\geq$ 130 mg/dL	1.42	0.25; 7.90	0.13	0.01; 2.79
Homocisteína	1.02	0.89; 1.17	0.91	0.59; 1.40
CA/C	0.97	0.89; 1.05	0.94	0.83; 1.06
Framingham	1.20	1.02; 1.41	1.01	0.67; 1.53

1: El modelo incluyó todas las variables independientes que se muestran en la tabla.

Tabla 22. Coeficientes de regresión de los FRCV clásicos obtenidos a través del modelo de regresión lineal en función de la VOP.

Variable	Estimación cruda		Estimación ajustada <sup>1</sup>	
	Coef	95% CI	Coef	95% CI
Edad	0.10	0.09; 0.11	0.07	0.06; 0.08
Tabaco	0.52	-0.13; 1.19	-0.22	-0.42; -0.02
Sedentarismo	0.44	-0.18; 1.06	0.06	-0.12; 0.25
IMC	0.84	0.03; 0.14	0.02	-0.00; 0.03
SM	1.83	0.92; 2.75	-0.10	-0.48; 0.28
HTA	2.08	1.44; 2.71	0.49	0.22; 0.76
LDL $\geq$ 130 mg/dL	1.47	0.58; 2.36	0.06	-0.25; 0.37
Homocisteína	0.02	-0.06; 0.09	-0.00	-0.02; 0.02
CA/C	-0.00	-0.03; 0.03	0.00	-0.01; 0.01
Framingham	0.29	0.24; 0.34	0.12	0.08; 0.16

1: El modelo incluyó todas las variables independientes que se muestran en la tabla.

Tabla 23. Coeficientes de regresión de los FRCV clásicos obtenidos a través del modelo de regresión lineal en función del GIM.

Variable	Estimación cruda		Estimación ajustada <sup>1</sup>	
	Coef	95% CI	Coef	95% CI
Edad	0.01	0.00; 0.01	0.01	0.00; 0.02
Tabaco	0.04	-0.10; 0.19	-0.03	-0.20; 0.14
Sedentarismo	0.11	-0.03; 0.24	0.07	-0.09; 0.23
IMC	0.01	0.00; 0.03	0.01	-0.00; 0.03
SM	0.06	-0.16; 0.29	0.08	-0.24; 0.41
HTA	0.11	-0.01; 0.29	-0.08	-0.31; 0.16
LDL $\geq$ 130 mg/dL	-0.02	-0.23; 0.19	-0.24	-0.50; 0.03
Homocisteína	0.00	-0.01; 0.02	0.00	-0.02; 0.02
CA/C	-0.00	-0.01; 0.01	-0.00	-0.01; 0.01
Framingham	0.02	-0.00; 0.03	-0.01	-0.04; 0.02

1: El modelo incluyó todas las variables independientes que se muestran en la tabla.

Al ajustar por los FRCV clásicos la asociación del LES con los MDCS (*OSI-4*) se apreció un aumento en la magnitud de la asociación con la PC, con una OR de 4.27 (IC 95%: 1.39 a 13.11). Además, se apreció una relación inversa entre el LES y la VOP, con un coeficiente de regresión de -0.15 (IC 95%: -0.29 a -0.01). El GIM continuó sin presentar asociación significativa con el LES, con un coeficiente de regresión de -0.03 (IC 95%: -0.11 a 0.04).

### 2.2.2. Asociación entre los FRCV propios del LES y los MDCS (*OS2*)

Las Tablas 24, 25 y 26 muestran las asociaciones de cada factor con la presencia de PC (tabla 23), los niveles de VOP (tabla 24), y los de GIM (tabla 25). En cada caso se muestran los estimadores crudos para cada factor, así como los estimadores ajustados por el resto de factores propios del LES. La duración de la enfermedad es el único factor que se ha relacionado consistentemente con los tres MDCS. Los niveles de C3 se asocian con una mayor frecuencia de PC y mayores valores de VOP, aunque ambas asociaciones desaparecen tras ajustar por el resto de factores. El antecedente de NL ha mostrado una asociación inversa con los tres marcadores en el modelo multivariante. Este análisis también mostró una asociación inversa entre los niveles de VOP y tanto el uso de HCQ como los valores de C4.

Tabla 24. Estimaciones de OR obtenidas de los FRCV asociados al LES en función de la presencia de PC.

Variable	Estimación cruda		Estimación ajustada <sup>1</sup>	
	OR	95% CI	OR	95% CI
Duración del LES	1.10	1.02; 1.19	1.16	1.04; 1.28
SLEDAI	0.41	0.14; 1.19	0.58	0.13; 2.54
SLICC > 0	0.34	0.09; 1.34	0.32	0.11; 1.80
SAF	1.95	0.36; 10.52	2.11	0.27; 16.11
GC	0.84	0.55; 1.27	1.16	0.64; 1.28
HCQ	0.79	0.20; 3.12	0.49	0.11; 4.02
NL	0.50	0.18; 1.40	0.18	0.04; 0.89
PCR	1.07	0.97; 1.19	1.03	0.92; 1.16
C3	1.03	1.00; 1.06	1.00	0.96; 1.05
C4	1.06	0.97; 1.16	1.10	0.93; 1.21
Proteinuria 24 horas	1.00	0.99; 1.00	-	-

1: El modelo incluyó todas las variables independientes que se muestran en la tabla excepto proteinuria de 24 horas por ausencia de datos.

Tabla 25. Coeficientes de regresión de los FRCV asociados al LES obtenidos a través del modelo de regresión lineal en función de la VOP.

Variable	Estimación cruda		Estimación ajustada <sup>1</sup>	
	Coef	95% CI	Coef	95% CI
Duración del LES	0.06	0.03; 0.10	0.10	0.07; 0.14
SLEDAI	-0.67	-1.26; -0.08	-0.60	-1.17; -0.04
SLICC > 0	-0.01	-0.81; 0.62	0.26	-0.32; 0.84
SAF	0.29	-0.77; 1.36	-0.00	-0.88; 0.87
GC	-0.02	-0.25; 0.22	0.28	0.07; 0.14
HCQ	-0.34	-1.19; 0.52	-0.92	-1.63; -0.20
NL	-0.61	-1.20; -0.01	-1.25	-1.80; -0.71
PCR	0.03	-0.02; 0.07	-0.02	-0.06; 0.02
C3	0.02	0.01; 0.03	-0.00	-0.02; 0.01
C4	0.04	-0.01; 0.09	0.06	0.00; 0.11
Proteinuria 24 horas	0.00	-0.00; 0.00	-	-

1: El modelo incluyó todas las variables independientes que se muestran en la tabla excepto proteinuria de 24 horas por ausencia de datos.

Tabla 26. Coeficientes de regresión de los FRCV asociados al LES obtenidos a través del modelo de regresión lineal en función del GIM.

Variable	Estimación cruda		Estimación ajustada <sup>1</sup>	
	Coef	95% CI	Coef	95% CI
Duración del LES	0.00	0.00; 0.01	0.01	0.00; 0.01
SLEDAI	0.01	-0.04; 0.06	-0.01	-0.07; 0.05
SLICC > 0	-0.00	-0.06; 0.06	0.01	-0.05; 0.07
SAF	-0.01	-0.10; 0.08	-0.01	-0.10; 0.08
GC	0.00	-0.02; 0.02	0.02	-0.00; 0.05
HCQ	-0.00	-0.08; 0.07	-0.05	-0.12; 0.03
NL	-0.03	-0.08; 0.02	-0.08	-0.13; -0.02
PCR	0.00	-0.00; 0.00	-0.00	-0.01; 0.00
C3	-0.00	-0.00; 0.00	-0.00	-0.00; 0.00
C4	-0.00	-0.01; 0.00	0.00	-0.00; 0.01
Proteinuria 24 horas	0.00	-0.00; 0.00	-	-

1: El modelo incluyó todas las variables independientes que se muestran en la tabla.

Finalmente, al incluir en los modelos multivariantes tanto los FRCV propios del LES como los FRCV clásicos (Tabla 27) (*OS2-2*) desaparecen todas las asociaciones descritas previamente. Solo se observan asociaciones inversas entre el índice SLICC dicotomizado y la presencia de PC, así como entre el uso de HCQ, los niveles de PCR y el antecedente de NL con los valores de VOP.

Tabla 26. Resultados de la asociación entre los FRCV asociados a LES con los MDCS del modelo multivariante incluyendo los FRCV clásicos (tabaquismo, sedentarismo, HTA, hipercolesterolemia, SM, edad, IMC, Framingham, homocisteína y albuminuria).

Variable	PC <sup>1</sup>		VOP <sup>1</sup>		GIM <sup>1</sup>	
	OR	95% CI	Coef	95% CI	Coef	95% CI
Duración del LES	1.19	0.95; 1.49	0.01	-0.01; 0.03	0.00	-0.00; 0.00
SLEDAI	0.68	0.07; 7.10	-0.06	-0.35; 0.23	-0.00	-0.05; 0.05
SLICC > 0	0.00	0.00; 0.50	0.07	-0.21; 0.35	0.02	-0.03; 0.07
SAF	5.56	0.19; 165.16	0.12	-0.30; 0.54	-0.02	-0.10; 0.05
GC	1.29	0.39; 4.21	0.07	-0.04; 0.18	-0.00	-0.02; 0.02
HCQ	0.57	0.01; 35.34	-0.42	-0.78; -0.05	-0.00	-0.07; 0.06
NL	0.09	0.00; 8.90	-0.40	-0.77; -0.03	0.02	-0.04; 0.09
PCR	0.94	0.78; 1.14	-0.03	-0.04; -0.01	-0.00	-0.01; 0.00
C3	0.91	0.81; 1.02	-0.00	-0.01; 0.01	-0.00	-0.00; 0.00
C4	1.38	0.92; 2.01	0.02	-0.01; 0.05	0.00	-0.01; 0.00

1: El modelo incluyó todas las variables independientes que se muestran en la tabla y los FRCV clásicos.

### 2.2.3. Asociación del LES con los valores de esclerostina (OS3)

En el análisis crudo (*OS3-1*), la presencia de LES se asoció a valores significativamente mayores de los niveles de esclerostina: la media de dichos valores fue de 66.11 U/L en las mujeres con LES, frente a 43.97 U/L en las mujeres sanas ( $p=0.0001$ ). El coeficiente de regresión lineal simple fue igual a 25.14 (IC 95%: 12.50 a 37.79). Para deslindar el posible papel de los FRCV clásicos en esta relación, la Tabla 28 muestra la asociación entre dichos factores y los niveles de esclerostina en el grupo de mujeres sanas (*OS3-2*). Sin embargo, para ninguno de los factores considerados se observó una asociación significativa, en ninguno de los modelos ajustados.

Tabla 28. Coeficientes de regresión de los FRCV clásicos obtenidos a través del modelo de regresión lineal en función de los MDCS en relación a los niveles de esclerostina en las mujeres sanas.

Variable	Estimación ajustada <sup>1</sup>		Estimación ajustada <sup>2</sup>	
	Coef	95% CI	Coef	95% CI
Edad	-0.73	-2.02; 0.57	0.02	-1.66; 1.69
Tabaco	2.17	-10.49; 14.83	-1.44	-17.44; 14.56
Sedentarismo	4.76	-7.55; 17.06	7.88	-7.20; 22.97
IMC	-0.28	-1.41; 0.85	-0.70	-2.13; 0.73
SM	8.11	-13.50; 29.72	4.72	-25.22; 34.66
HTA	13.69	-5.23; 32.61	12.88	-10.29; 36.05
LDL $\geq$ 130 mg/dL	-13.12	-32.21; 5.98	-9.94	-34.38; 14.51
Homocisteína	0.55	-0.87; 1.96	0.39	-1.19; 1.97
CA/C	-0.01	-0.65; 0.67	0.08	-0.62; 0.79
Framingham	2.15	-0.47; 4.76	1.49	-1.19; 5.27

1: El modelo incluyó los MDCS y cada FRCV clásico de forma independiente.

2: El modelo incluyó los MCDS y todas las variables que se muestran en la tabla.

Finalmente, cuando la asociación entre LES y esclerostina se ajusta por los MDCS (*OS3-3*), su magnitud se reduce ligeramente con respecto a la estimación cruda, con un coeficiente de regresión de 21.93 (IC 95%: 11.41 a 32.45). Si además se ajusta por los FRCV clásicos, la diferencia apenas cambia, con un coeficiente de regresión de 23.09 (IC 95%: 11.32 a 34.87). En este último modelo ajustado, además del LES, la presencia de PC y la edad también se asocian significativamente con los valores de esclerostina (Tabla 29).

Tabla 29. Coeficientes de regresión del estado de LES, los MDCS y los FRCV clásicos obtenidos a través del modelo de regresión lineal en relación a los niveles de esclerostina.

Variable	Estimación ajustada <sup>1</sup>	
	Coef	95% CI
LES	23.09	11.31; 34.87
PC	17.88	4.05; 31.70
VOP	-0.49	-14.78; 13.80
GIM	-12.71	-39.45; 14.04
Edad	1.36	0.06; 2.66
Tabaco	10.04	-2.82; 22.89
Sedentarismo	9.88	-1.50; 21.26
IMC	-0.42	-1.60; 0.75
SM	11.66	-7.38; 30.69
HTA	5.38	-9.39; 20.15
LDL $\geq$ 130 mg/dL	-16.63	-31.39; 1.87
Homocisteína	-0.24	-0.79; 0.31
CA/C	-0.02	-0.13; 0.09
Framingham	1.78	-1.35; 4.90

1: El modelo incluye todas las variables independientes mostradas en la tabla.

#### 2.2.4. Asociación de las características del LES (clínicas, analíticas y terapéuticas) con los valores de esclerostina (OS4)

En el análisis crudo (*OS4-1*), el único FRCV propio del LES que se asocia con los niveles de esclerostina es la duración de la enfermedad, con un coeficiente de regresión de 2.34 (IC 95%: 1.22 a 3.47). En los análisis ajustados (*OS4-2*), esta asociación se mantiene al ajustar por los MDCS, pero desaparece al añadir al modelo el resto de FRCV propios del LES. (Tabla 30). Finalmente, cuando añadimos al modelo anterior los FRCV clásicos (Tabla 31) sólo se mantiene la asociación positiva de la edad y el tabaquismo con los niveles de esclerostina.

Tabla 30. Coeficientes de regresión de los FRCV asociados a LES en relación a los niveles de esclerostina.

Variable	Estimación cruda		Estimación ajustada <sup>1</sup>		Estimación ajustada <sup>2</sup>	
	Coef	95% CI	Coef	95% CI	Coef	95% CI
Duración del LES	2.34	1.22; 3.47	1.38	0.23; 2.54	1.46	-0.21; 3.13
SLEDAI	0.07	-21.01; 21.16	13.20	-5.94; 32.35	12.60	-10.04; 35.24
SLICC > 0	-9.80	-34.26; 14.67	-2.96	-24.53; 18.61	-3.00	-25.65; 19.65
SAF	1.32	-35.45; 38.08	-5.71	-37.44; 26.01	-6.37	-39.68; 27.00
GC	-7.00	-14.88; 0.91	-5.98	-12.80; 0.84	-3.56	-12.37; 5.25
HCQ	2.98	-26.46; 32.42	7.85	-17.50; 33.19	0.40	-28.37; 29.17
NL	-15.54	-36.19; 5.11	-5.15	-23.67; 13.39	-10.69	-35.11; 13.73
PCR	0.10	-1.51; 1.70	-0.61	-2.01; 0.80	-0.71	-2.26; 0.84
C3	0.35	-0.15; 0.85	-0.34	-0.51; 0.45	0.19	-0.44; 0.83
C4	0.27	-1.50; 2.02	-0.46	-2.02; 1.09	0.08	-1.98; 2.14
Proteinuria 24 horas	0.07	-0.01; 0.15	0.06	-0.01; 0.13	-	-

1: El modelo incluyó los MDCS y cada FRCV asociado a LES de forma independiente.

2: El modelo incluyó los MDCS y todas las variables que se muestran en la tabla excepto proteinuria de 24 horas por ausencia de datos.

Tabla 31. Coeficientes de regresión de los MDCS, los FRCV clásicos y asociados a LES obtenidos a través del modelo de regresión lineal en relación a los niveles de esclerostina.

Variable	Estimación ajustada <sup>1</sup>		Variable	Estimación ajustada <sup>1</sup>	
	Coef	95% CI		Coef	95% CI
PC	17.90	-7.28; 43.07	Framingham	1.02	-6.03; 8.06
VOP	-20.45	-45.43; 4.53	Duración del LES	0.99	-0.81; 2.79
GIM	-66.60	-207.80; 74.59	SLEDAI	7.33	-17.50; 32.16
Edad	3.29	0.72; 5.85	SLICC > 0	-4.11	-29.12; 20.89
Tabaco	33.16	2.18; 64.13	SAF	-3.52	-39.34; 32.29
Sedentarismo	17.72	-5.52; 40.95	GC	-2.44	-11.88; 6.99
IMC	-0.02	-2.88; 2.84	HCQ	-0.11	-33.00; 32.78
SM	20.04	-21.63; 61.71	NL	-6.64	-40.02; 26.75
HTA	13.24	-9.81; 36.29	PCR	-1.36	-3.08; 0.36
LDL $\geq$ 130 mg/dL	-4.36	-30.58; 21.86	C3	0.29	-0.43; 1.00
Homocisteína	-0.20	-1.11; 0.72	C4	-0.23	-2.56; 2.10
CA/C	-0.09	-0.28; 0.09			

1: El modelo incluye todas las variables independientes mostradas en la tabla.

### 2.2.5. Cuantificación del posible efecto del LES sobre la asociación de los niveles de esclerostina con los MDCS (OS5)

Como se observa en la Tabla 32, la magnitud de la asociación entre los niveles de esclerostina y la presencia de PC no se modifica en función de la presencia de LES, e igual ocurre para la asociación entre esclerostina y GIM. Sin embargo, la asociación entre esclerostina y VOP es significativamente más fuerte en las mujeres sin LES que en las mujeres con LES.

Tabla 31. Asociación entre niveles de esclerostina y los MDCS en función del estado de LES.

Variable	PC		VOP		GIM	
	OR	95% CI	Coef	95% CI	Coef	95% CI
Mujeres con LES	1.31	1.13; 1.53	0.14	0.09; 0.20	0.01	0.00; 0.01
Mujeres sanas	1.39	1.11; 1.73	0.27	0.20; 0.34	0.02	-0.00; 0.04
Término de interacción esclerostina x LES <sup>1</sup>	0.95	0.72; 1.24	-0.13	-0.22; -0.03	-0.01	-0.03; 0.01
Valor p del test de la razón de verosimilitudes	0.6972		0.0075		0.3057	

1: Diferencia entre el peso de la asociación de los MDCS entre mujeres con LES y mujeres sanas.



**CAPÍTULO VI:  
DISCUSIÓN**

## VI. DISCUSIÓN

### 1. Discusión de los resultados

En febrero de 2022 la EULAR publicó por primera vez unas recomendaciones específicas dirigidas al manejo del RCV en pacientes con LES (133) y en las guías de práctica clínica del manejo del RCV de la Sociedad Europea de Cardiología (ESC) de 2021 también se dan recomendaciones específicas para la detección y el manejo de los pacientes con enfermedades inflamatorias (259). Estos hechos demuestran la consciencia y la necesidad actual de la comunidad científica de mejorar la atención y dar respuesta al reto de que exista un manejo específico para disminuir la mortalidad cardiovascular en este tipo de pacientes. A pesar de ello, estas recomendaciones siguen siendo muy generales al existir, por el momento, escasa evidencia y muy pocas herramientas para enfrentarnos al RCV en poblaciones concretas como el LES.

1.1 Análisis de la asociación entre los niveles de esclerostina y el daño cardiovascular subclínico en las pacientes con lupus eritematoso sistémico con función renal conservada

Desde hace décadas, se conoce que la probabilidad de tener un IAM o un ACV es más elevada en los pacientes con LES que en la población general, especialmente si se compara entre la población más joven y del sexo femenino donde el LES es más frecuente (90). De hecho, en muchas series es la primera causa de muerte en estos pacientes (8). La razón por la cual el LES es un factor de riesgo tan importante para la aterosclerosis y la ECV aún no se ha explicado por completo. La estimulación constante por la inflamación sistémica de larga duración, así como el uso crónico de tratamientos como los GC y otros factores propios de esta enfermedad, podrían contribuir a la formación y progresión de las placas ateroscleróticas (88). Además, en estos pacientes se presenta una mayor incidencia de FRCV clásicos como la HTA o la dislipemia (104,112), tal y como se ha corroborado en nuestra muestra donde hemos encontrado mayor prevalencia de HTA e hipercolesterolemia en las mujeres con LES.

Por otra parte, existe amplia evidencia de que en la población diana en la que se presenta el LES, es decir, mujeres con una ratio de 9:1 sobre los hombres en edad fértil, el RCV ha sido subestimado sistemáticamente en la práctica clínica. Por tanto, estos pacientes han recibido una actitud infraterapéutica respecto a poblaciones masculinas de las mismas características (74). Por todas estas razones, las escalas de RCV tradicionales han fallado en la identificación temprana y efectiva de pacientes de alto riesgo (134). En nuestra muestra, la escala de Framingham se ha mostrado como un factor independiente e incluso predictivo de RCV subclínico al relacionarse de forma positiva con la VOP. Por tanto, debe ser considerada en la evaluación de estos pacientes, aumentando, junto con otros factores, el valor predictivo positivo de nuevos algoritmos de cribado de RCV, mediante, por ejemplo, algunos biomarcadores como la esclerostina que puedan determinarse en suero de forma rutinaria y facilitar la elección de a qué paciente realizar un estudio de ECV subclínica más avanzado.

La edad, como se ha demostrado en todo nuestro estudio, es uno de los predictores más potentes del RCV en todas las poblaciones. La principal utilidad de los biomarcadores séricos es poder anticipar dicho riesgo en poblaciones más jóvenes que no están incluidas en las escalas de riesgo habituales que incorporan la edad como factor determinante para cuantificar el RCV. Esto nos ha llevado a excluir aquellos casos en los que el daño cardiovascular está más asociado a la edad y al resto de la comorbilidad que la acompaña, y centrarnos más en aquellos factores propios de la población con LES. Es por ello por lo que se estableció como criterio de exclusión la edad superior a 60 años. Además, por la alta prevalencia de esta enfermedad en mujeres, la variabilidad en el RCV entre sexos y la N potencial de hombres incluidos en el estudio sin capacidad para tener potencia estadística, también se estableció como criterio de inclusión el sexo femenino.

Nuestros resultados confirman por primera vez la existencia de una asociación no ajustada entre la esclerostina y los tres principales MDCS (PC, VOP y GIM) en pacientes con LES. Además, esta asociación se mantuvo en PC en los modelos multivariantes. Estos resultados están en consonancia con las conocidas relaciones entre las concentraciones de esclerostina y la morbimortalidad cardiovascular, especialmente en pacientes con ERC, pero también en diabéticos y en la población general (167,242,244). Además, estudios prospectivos han demostrado una relación directa entre los niveles séricos de esclerostina

y la ECV (245). En cuanto a la ECV subclínica, se ha demostrado que las concentraciones séricas de esclerostina pueden ser un buen biomarcador para identificar pacientes con calcificación vascular subclínica establecida. De hecho, se ha descrito que la esclerostina es un marcador independiente del aumento de la VOP (249), la presencia de PC (251) y está significativamente asociada con la calcificación aórtica (252). Por toda esta evidencia, seleccionamos la esclerostina como biomarcador para realizar nuestro trabajo.

En relación con el OP de nuestra Tesis Doctoral, según los valores del AUC estimados en nuestro estudio, la validez de la esclerostina como marcador tanto de PC como de VOP y GIM parece aceptable, especialmente en lo que respecta a su especificidad. Hasta donde sabemos, ningún trabajo previo en la literatura había comparado el AUC de la esclerostina con estas variables de resultado en otras poblaciones. Los resultados de los modelos univariantes concuerdan con los valores de AUC. Además, a pesar de no alcanzar el tamaño muestral prefijado, hemos observado una relación significativa e independiente entre esclerostina y PC tras ajustar por el resto de FRCV clásicos. Sin embargo, aunque la esclerostina mantuvo la magnitud de su asociación con PC después del ajuste, este no fue el caso para VOP y GIM. Esto puede deberse a mecanismos intrínsecamente diferentes de formación de PC en pacientes con LES en comparación con otras poblaciones con alto RCV. Por ejemplo, un estudio anterior encontró una prevalencia anormalmente alta de PC sin un aumento asociado en el grosor de la íntima-media (255) y este otro trabajo no encontró diferencias en la VOP entre 125 casos de LES y 104 controles (156). Finalmente, los modelos predictivos no incluyeron la esclerostina como un marcador predictivo independiente para PC, VOP o GIM.

En los OS-1 y OS-2 se ha demostrado una mayor incidencia de PC en mujeres con LES, sin haber encontrado dicha relación con la VOP ni con el GIM. Aunque hipotetizábamos que parte de dicha relación estaría explicada por la mayor incidencia en el LES de los FRCV clásicos, como hemos confirmado en nuestra muestra, al ajustar por ellos en los modelos multivariantes hemos encontrado que la magnitud de la asociación con la PC era aún mayor, lo cual vuelve a confirmar que estamos lejos de conocer todos los factores que favorecen el desarrollo de PC y ECV subclínica en las pacientes con LES.

Los únicos FRCV que se han relacionado de forma consistente con los resultados de los MDCS han tenido relación con el tiempo, ya que han sido la edad y la duración de la enfermedad. La escala de Framingham y la HTA han sido los otros FRCV clásicos más consistentemente asociados a la PC y la VOP. En cuanto a los factores propios del LES, al margen de la duración de la enfermedad, destacan sobre todo asociaciones inversas. Algunas de ellas eran esperables como el uso de HCQ que está ampliamente descrito en la literatura como factor protector del RCV en estos pacientes, siendo una de las razones por las que actualmente se aconseja asociar al tratamiento de todo paciente con LES (60,81). En cambio, otras de estas relaciones no eran esperables, como el antecedente de NL, ya que está descrito que aunque no se produzca ERC sí que provoca un aumento de la probabilidad de desarrollar ECV (123). Este carácter protector puede explicarse porque se haya intensificado el tratamiento y el seguimiento en estas pacientes concretas al revestir mayor gravedad en algún momento de la evolución de la enfermedad, ya que los casos seleccionados debían tener seguimiento de al menos un año en nuestra consulta para participar en el estudio.

En resumen, adoptando, tal y como se ha descrito en la literatura (148), la presencia de PC como el principal MDCS y *gold standard* en el estudio de ECV subclínica, los resultados son consistentes con la primera parte de nuestra hipótesis: la esclerostina es un marcador sérico de aterosclerosis subclínica en las pacientes con LES con función renal conservada y dichas pacientes tienen un mayor daño cardiovascular subclínico que las mujeres sin LES. Sin embargo, no hemos podido definir qué factores propios o ajenos a la enfermedad explican esta asociación, al margen de su duración.

1.2. Análisis de las diferencias entre los niveles de esclerostina en las pacientes con lupus eritematoso sistémico y las mujeres sanas

Hasta el momento, sólo un estudio previo de *Fayed et al* había mostrado un aumento en la concentración sérica de esclerostina en pacientes con LES en comparación con sujetos sanos, así como una relación independiente y positiva con los parámetros inflamatorios y los niveles de proteinuria (174). Esta última asociación, además de la conocida relación entre la disminución en el filtrado glomerular y la proteinuria con la ECV establecida y subclínica (119,124), nos llevó a excluir los casos de LES con ERC

establecida para evitar su posible papel como factor de confusión en la asociación entre esclerostina y RCV.

En nuestra muestra hemos observado una concentración sérica de esclerostina significativamente superior en las pacientes con LES respecto a las mujeres sanas (OS-3). Dicha diferencia se ha mantenido prácticamente inalterada tras ajustar por todos los FRCV tanto clásicos como asociados al LES, así como por los MDCS, en los modelos multivariantes. Esto puede dejar entrever que las enfermedades inflamatorias, y en concreto el LES, aún tienen factores, características y mecanismos que nos son completamente desconocidos, y que determinados marcadores como la esclerostina pueden estar detrás de aspectos de la enfermedad como son las alteraciones del eje óseo-vascular, promoviendo una desregulación de dicho eje, facilitando la aparición de desgaste óseo y vascular.

De forma concreta, ninguno de los FRCV clásicos se asocia de forma cruda o ajustada con los niveles de esclerostina. Al igual que sucedía con la presencia de PC, en el OS-4 sí que se ha encontrado asociación con la duración de la enfermedad, incluso tras ajustar por los MDCS, dando a entender que es la propia enfermedad y la duración de la misma el único factor, al margen del propio daño cardiovascular subclínico, que ha tenido un peso específico en los niveles de esclerostina y en la diferencia significativa que hay entre éstos en la población con LES con función renal conservada y las mujeres sanas. En contra de lo descrito por *Fayed et al* (174) no hemos encontrado asociación entre la proteinuria, los parámetros de actividad y los niveles séricos de esclerostina, aunque esto puede deberse a la pérdida de algunos datos de proteinuria de 24 horas y al número de pacientes menor recogido en nuestro trabajo. Dado que no hay en la literatura ningún otro estudio que haya valorado el RCV subclínico con los niveles de esclerostina en una población similar, no podemos comparar dichos resultados.

Por último, nuestros resultados indican que la relación entre la esclerostina y la ECV subclínica no depende de si se trata de pacientes con LES o mujeres sanas para la presencia de PC y el aumento de GIM, y que es, en sí mismo, un marcador directo de RCV subclínico (OS-5). En el caso de la VOP sí hemos apreciado una mayor fuerza de

asociación en las mujeres sanas. Este hecho puede explicarse nuevamente porque la producción de ECV sea intrínsecamente distinta en las pacientes con LES, siendo éstas más propensas a presentar PC y no tanto a alterar la VOP. Además, como se había descrito ya previamente en la introducción, en el LES y en otras enfermedades inflamatorias, la VOP está aumentada con respecto a la población sana (154,155) aunque existen estudios contradictorios dando una mayor importancia a la incidencia de los FRCV clásicos y la afectación renal propia del LES (105,156). Dado que se ha suprimido la ERC en nuestra serie de pacientes, nos podemos explicar que la fuerza de asociación sea mayor en las mujeres sanas.

Valorando conjuntamente todos estos resultados podemos concluir que apoyan la segunda parte de nuestra hipótesis: las pacientes con LES con función renal conservada tienen mayores niveles de esclerostina que las mujeres sanas y la detección de daño cardiovascular subclínico no difiere entre la población con LES y la población sana. A pesar de ello, al contrario de lo que hipotetizábamos, dicha asociación entre la esclerostina y el LES no se explica únicamente por el daño cardiovascular subclínico detectado, siendo la duración de la enfermedad el único factor propio del LES que se ha relacionado de forma fiable con los niveles de esclerostina, sin haber encontrado otros factores causales entre los estudiados en este trabajo.

## 2. Discusión de la metodología. Limitaciones del estudio.

Para una correcta interpretación de nuestros resultados es necesario tener en cuenta las limitaciones que se resumen en los siguientes puntos:

En primer lugar, nuestra muestra no cubre el verdadero espectro de pacientes con LES. Como se señaló anteriormente, las mujeres con ERC no se incluyeron en el estudio. Asimismo, los hombres fueron excluidos del estudio debido a la baja prevalencia de esta enfermedad en la población masculina. Todo ello implica una menor prevalencia de ECV en la muestra que, a su vez, podría haber infravalorado la asociación entre esclerostina y RCV.

En segundo lugar, y aunque el planteamiento del estudio analítico está basado en el conjunto de hipótesis causales presentado en la Figura 6, somos conscientes de que el carácter transversal del estudio impide la identificación y cuantificación de ninguna asociación causal como, por ejemplo, la que pudiera existir entre los MDCS y la concentración de esclerostina. De hecho, la posible utilidad de esta última como marcador de daño cardiovascular subclínico no tiene por qué asentarse en una relación de causalidad entre ambas variables. Además, no se evaluaron los cambios longitudinales en las concentraciones de esclerostina. Por lo tanto, es necesario realizar estudios longitudinales que confirmen nuestros hallazgos.

En tercer lugar, con respecto al tamaño muestral, la prevalencia final de PC encontrada en nuestra serie (35,3%) fue inferior a la utilizada para estimar dicho tamaño (un 50%). Este hecho, junto con no haber podido alcanzar el tamaño de muestra preestablecido, redujo el poder de nuestro estudio para detectar asociaciones no atribuibles al azar y, en particular, para incorporar los niveles de esclerostina como una variable más en los modelos predictivos de RCV.

En cuarto lugar, la medición de PC se ha llevado a cabo por un único ecografista cualificado, sin que se haya realizado una validación de los resultados por otro ecografista independiente. Además, sólo se ha valorado la EC, sin haberse realizado ecografía femoral para valorar presencia de placa en la arteria localizada a este nivel. Asimismo, sólo se ha realizado una medición única de VOP y GIM, sin haber evaluado cambios longitudinales de dichos parámetros.

Por último, destacar las fortalezas de este trabajo. Las pacientes con LES y las mujeres sanas se reclutaron de forma simultánea, emparejadas por rangos de edad, y en un corto período de tiempo, captando las mujeres sanas a partir de una población muy similar de la que provienen las pacientes. Asimismo, las muestras de la serie de pacientes y la serie de mujeres sanas han sido homogéneas y sin diferencias en cuanto a los antecedentes de RCV. Las variables se recogieron de forma consistente sin pérdida de información, siguiendo el mismo procedimiento durante todo el proceso y en todos los sujetos.

### 3. Relevancia y aplicación práctica de los resultados. Propuestas de investigación.

El gran problema al que se enfrentan los clínicos en la práctica habitual a la hora de valorar el RCV subclínico es el acceso a determinadas herramientas de detección que, aunque son costo-efectivas y no tienen una repercusión negativa para el paciente en forma de radiación o complicaciones, no están disponibles de forma habitual en todas las poblaciones en las que las posibilidades de presentar ECV subclínica están aumentadas. En este sentido, conocer otros factores que se puedan valorar de forma rutinaria y que permitan una mejor identificación de los pacientes candidatos a que se les realice un estudio de RCV subclínico puede ser de gran utilidad. Este es el caso de aquellos biomarcadores que pueden medirse de forma fiable en las analíticas de rutina que se suelen solicitar en grupos poblacionales de riesgo, como los pacientes con LES.

Esta Tesis Doctoral es el primer trabajo donde se ha valorado la posible utilidad de la esclerostina como biomarcador de aterosclerosis subclínica en pacientes con LES. Los resultados obtenidos implican que la esclerostina podría utilizarse como biomarcador de aterosclerosis subclínica en las pacientes con LES con función renal preservada y permitir una elección específica de a qué pacientes realizar un estudio de RCV subclínico avanzado. En otras palabras, se podría plantear incluir la esclerostina en los controles analíticos rutinarios a los que sometemos protocolariamente a las pacientes con LES, valorando los niveles de forma longitudinal y, en aquellos casos en los que se apreciara un incremento o unas concentraciones límite, plantear un estudio de RCV subclínico con EC o femoral y medir la VOP.

En cualquier caso, para tener una aplicación en la práctica clínica habitual, serán necesarios estudios prospectivos con mediciones longitudinales de esclerostina, EC y VOP para confirmar estos hallazgos y valorar la utilidad real de estos planteamientos, abriendo de esta forma nuevas e interesantes propuestas futuras de investigación. Además, en el caso del LES, hemos objetivado una concentración aumentada de esclerostina en estas pacientes con respecto a las mujeres sanas, sin haber podido dilucidar exactamente los motivos de esta asociación entre esclerostina y el estado de LES, por lo que también se deberá plantear otra línea de investigación para discernir los factores

causales de ello y su posible implicación en otros aspectos de la enfermedad como la disfunción del metabolismo óseo.

**CAPÍTULO VII:  
CONCLUSIONES**

## VII. CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos, y en respuesta a los objetivos planteados en esta Tesis Doctoral, se desprenden las siguientes conclusiones:

1. Existe una asociación positiva entre los niveles de esclerostina y la presencia de PC, la VOP y el GIM en las pacientes con LES con función renal preservada. Tras ajustar por los FRCV, se estimó que cada incremento de 10 U/L de los niveles séricos de esclerostina se asocia con un incremento del 44% de la presencia de PC. En cambio, la asociación entre los niveles de esclerostina con la VOP y el GIM desaparece tras ajustar por dichos FRCV.

2. Las pacientes con LES y función renal preservada tienen una mayor prevalencia de PC que las mujeres sanas, asociación que no parece depender sustancialmente de una diferente distribución de los FRCV entre ambos grupos de mujeres. Sin embargo, no se han detectado diferencias entre las pacientes con LES y las mujeres sanas con respecto a los valores de VOP y de GIM.

3. La única característica del LES que se asocia con todos los MDCS es la duración de la enfermedad, si bien esta asociación desaparece al tener en cuenta los FRCV.

4. Los niveles de esclerostina son significativamente mayores en las pacientes con LES que en las mujeres sanas, y la magnitud de esta asociación no se modifica al tener en cuenta las diferencias entre ambos grupos con respecto a los FRCV o a la existencia de aterosclerosis subclínica.

5. La duración de la enfermedad es la única característica propia del LES que, independientemente de los MDCS, se asocia a los niveles de esclerostina. Esta asociación desaparece al tener en cuenta el resto de características del LES. Al considerar todos los FRCV, solo la edad y el tabaquismo se asocian a unos mayores niveles de esclerostina en las mujeres con LES.

6. La magnitud de la asociación entre los niveles de esclerostina y la presencia de PC no se modifica en función de la presencia de LES, e igual ocurre para la asociación entre la

esclerostina y el GIM. Sin embargo, la asociación entre esclerostina y VOP es significativamente mayor en las mujeres sanas que en las pacientes con LES.



**CAPÍTULO VIII:  
BIBLIOGRAFÍA**

## **VIII. BIBLIOGRAFÍA**

1. Lisnevskaja L, Murphy G, Isenberg D. Systemic lupus erythematosus. *The Lancet*. 2014 Nov;384(9957):1878–88.
2. Mallavarapu RK, Grimsley EW. The history of lupus erythematosus. *South Med J*. 2007 Sep;100(9):896–8.
3. Smith CD, Cyr M. The history of lupus erythematosus. From Hippocrates to Osler. *Rheum Dis Clin North Am*. 1988 Apr;14(1):1–14.
4. Rampudda M, Marson P, Pasero G. The main stages in the history of systemic lupus erythematosus. *Reumatismo*. 2009;61(2):145–52.
5. D’Cruz DP, Khamashta MA, Hughes GRV. Systemic lupus erythematosus. *Lancet*. 2007 Feb 17;369(9561):587–96.
6. Cortés Verdú R, Pego-Reigosa JM, Seoane-Mato D, Morcillo Valle M, Palma Sánchez D, Moreno Martínez MJ, et al. Prevalence of systemic lupus erythematosus in Spain: higher than previously reported in other countries? *Rheumatology (Oxford)*. 2020 Sep 1;59(9):2556–62.
7. Cervera R, Khamashta MA, Hughes GRV. The Euro-lupus project: epidemiology of systemic lupus erythematosus in Europe. *Lupus*. 2009 Sep;18(10):869–74.
8. Thomas G, Mancini J, Jourde-Chiche N, Sarlon G, Amoura Z, Harlé JR, et al. Mortality Associated With Systemic Lupus Erythematosus in France Assessed by Multiple-Cause-of-Death Analysis: Mortality and Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis & Rheumatology*. 2014 Sep;66(9):2503–11.
9. Long H, Yin H, Wang L, Gershwin ME, Lu Q. The critical role of epigenetics in systemic lupus erythematosus and autoimmunity. *J Autoimmun*. 2016 Nov;74:118–38.
10. Moser KL, Kelly JA, Lessard CJ, Harley JB. Recent insights into the genetic basis of systemic lupus erythematosus. *Genes Immun*. 2009 Jul;10(5):373–9.
11. Goulielmos GN, Zervou MI, Vazgiourakis VM, Ghodke-Puranik Y, Garyfallos A, Niewold TB. The genetics and molecular pathogenesis of systemic lupus erythematosus (SLE) in populations of different ancestry. *Gene*. 2018 Aug 20;668:59–72.
12. Wu H, Chang C, Lu Q. The Epigenetics of Lupus Erythematosus. *Adv Exp Med Biol*. 2020;1253:185–207.
13. Wu H, Chen Y, Zhu H, Zhao M, Lu Q. The Pathogenic Role of Dysregulated Epigenetic Modifications in Autoimmune Diseases. *Front Immunol*. 2019;10:2305.
14. Wu H, Zeng J, Yin J, Peng Q, Zhao M, Lu Q. Organ-specific biomarkers in lupus. *Autoimmun Rev*. 2017 Apr;16(4):391–7.

15. Barbhैया M, Costenbader KH. Environmental exposures and the development of systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol*. 2016 Sep;28(5):497–505.
16. Costenbader KH, Kim DJ, Peerzada J, Lockman S, Nobles-Knight D, Petri M, et al. Cigarette smoking and the risk of systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Arthritis Rheum*. 2004 Mar;50(3):849–57.
17. Pryor WA, Stone K. Oxidants in cigarette smoke. Radicals, hydrogen peroxide, peroxyxynitrate, and peroxyxynitrite. *Ann N Y Acad Sci*. 1993 May 28;686:12–27; discussion 27-28.
18. Wang J, Pan HF, Ye DQ, Su H, Li XP. Moderate alcohol drinking might be protective for systemic lupus erythematosus: a systematic review and meta-analysis. *Clin Rheumatol*. 2008 Dec;27(12):1557–63.
19. Waldschmidt TJ, Cook RT, Kovacs EJ. Alcohol and inflammation and immune responses: summary of the 2006 Alcohol and Immunology Research Interest Group (AIRIG) meeting. *Alcohol*. 2008 Mar;42(2):137–42.
20. Esposito S, Bosis S, Semino M, Rigante D. Infections and systemic lupus erythematosus. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014 Sep;33(9):1467–75.
21. Rigante D, Mazzoni MB, Esposito S. The cryptic interplay between systemic lupus erythematosus and infections. *Autoimmun Rev*. 2014 Feb;13(2):96–102.
22. Illescas-Montes R, Corona-Castro CC, Melguizo-Rodríguez L, Ruiz C, Costela-Ruiz VJ. Infectious processes and systemic lupus erythematosus. *Immunology*. 2019 Nov;158(3):153–60.
23. McMurray RW, May W. Sex hormones and systemic lupus erythematosus: review and meta-analysis. *Arthritis Rheum*. 2003 Aug;48(8):2100–10.
24. Shao WH, Cohen PL. Disturbances of apoptotic cell clearance in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2011;13(1):202.
25. Moulton VR, Tsokos GC. Abnormalities of T cell signaling in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2011 Mar 17;13(2):207.
26. Jacob N, Stohl W. Cytokine disturbances in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2011;13(4):228.
27. Kiriakidou M, Ching CL. Systemic Lupus Erythematosus. *Ann Intern Med*. 2020 Jun 2;172(11):ITC81–96.
28. Medlin JL, Hansen KE, Fitz SR, Bartels CM. A systematic review and meta-analysis of cutaneous manifestations in late- versus early-onset systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum*. 2016 Jun;45(6):691–7.

29. Durosaro O, Davis MDP, Reed KB, Rohlinger AL. Incidence of Cutaneous Lupus Erythematosus, 1965-2005: A Population-Based Study. *Archives of Dermatology*. 2009 Mar 1;145(3):249–53.
30. Ribero S, Sciascia S, Borradori L, Lipsker D. The Cutaneous Spectrum of Lupus Erythematosus. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2017 Dec;53(3):291–305.
31. Sampaio AL, Bressan AL, Vasconcelos BN, Gripp AC. Skin manifestations associated with systemic diseases - Part 1. *An Bras Dermatol*. 2021 Sep 17;S0365-0596(21)00204-X.
32. Aringer M, Costenbader K, Daikh D, Brinks R, Mosca M, Ramsey-Goldman R, et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheumatol*. 2019 Sep;71(9):1400–12.
33. Clinical manifestations and diagnosis of systemic lupus erythematosus in adults - UpToDate [Internet]. [cited 2021 Oct 14]. Available from: [https://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-systemic-lupus-erythematosus-in-adults?search=lupus%20eritematoso%20sistemico%20cl%C3-%ADnica%20&source=search\\_result&selectedTitle=1~150&usage\\_type=default&display\\_rank=1#H2215760526](https://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-systemic-lupus-erythematosus-in-adults?search=lupus%20eritematoso%20sistemico%20cl%C3-%ADnica%20&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1#H2215760526)
34. Zoma A. Musculoskeletal involvement in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2004;13(11):851–3.
35. Marone A, Tang W, Kim Y, Chen T, Danias G, Guo C, et al. Evaluation of SLE arthritis using frequency domain optical imaging. *Lupus Sci Med*. 2021 Aug;8(1):e000495.
36. Di Matteo A, Isidori M, Corradini D, Cipolletta E, McShane A, De Angelis R, et al. Ultrasound in the assessment of musculoskeletal involvement in systemic lupus erythematosus: state of the art and perspectives. *Lupus*. 2019 Apr;28(5):583–90.
37. Di Matteo A, Smerilli G, Cipolletta E, Salaffi F, De Angelis R, Di Carlo M, et al. Imaging of Joint and Soft Tissue Involvement in Systemic Lupus Erythematosus. *Curr Rheumatol Rep*. 2021 Jul 16;23(9):73.
38. Alarcón GS, McGwin Jr. G, Roseman JM, Uribe A, Fessler BJ, Bastian HM, et al. Systemic lupus erythematosus in three ethnic groups. XIX. Natural history of the accrual of the American College of Rheumatology criteria prior to the occurrence of criteria diagnosis. *Arthritis Care & Research*. 2004;51(4):609–15.
39. A VG, Sg C, Da I. The diagnosis and management of the haematologic manifestations of lupus. *Journal of autoimmunity* [Internet]. 2016 Nov [cited 2021 Oct 14];74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27461045/>
40. Li W, Liu S, Chen C, Han Y. Neutrophil-to-lymphocyte ratios and platelet-to-lymphocyte ratios in juvenile systemic lupus erythematosus: correlation with disease manifestations. *Ann Palliat Med*. 2021 Sep;10(9):9406–14.

41. Newman K, Owlia MB, El-Hemaidi I, Akhtari M. Management of immune cytopenias in patients with systemic lupus erythematosus - Old and new. *Autoimmun Rev.* 2013 May;12(7):784–91.
42. Cáliz Cáliz R, Díaz Del Campo Fontecha P, Galindo Izquierdo M, López Longo FJ, Martínez Zamora MÁ, Santamaría Ortiz A, et al. Recommendations of the Spanish Rheumatology Society for Primary Antiphospholipid Syndrome. Part I: Diagnosis, Evaluation and Treatment. *Reumatol Clin (Engl Ed).* 2020 Apr;16(2 Pt 1):71–86.
43. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2006;4(2):295–306.
44. Almaani S, Meara A, Rovin BH. Update on Lupus Nephritis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2017 May 8;12(5):825–35.
45. Nee R, Martinez-Osorio J, Yuan CM, Little DJ, Watson MA, Agodoa L, et al. Survival Disparity of African American Versus Non-African American Patients With ESRD Due to SLE. *Am J Kidney Dis.* 2015 Oct;66(4):630–7.
46. Fiehn C, Hajjar Y, Mueller K, Waldherr R, Ho AD, Andrassy K. Improved clinical outcome of lupus nephritis during the past decade: importance of early diagnosis and treatment. *Ann Rheum Dis.* 2003 May;62(5):435–9.
47. Bajema IM, Wilhelmus S, Alpers CE, Bruijn JA, Colvin RB, Cook HT, et al. Revision of the International Society of Nephrology/Renal Pathology Society classification for lupus nephritis: clarification of definitions, and modified National Institutes of Health activity and chronicity indices. *Kidney Int.* 2018 Apr;93(4):789–96.
48. Hachiya A, Karasawa M, Imaizumi T, Kato N, Katsuno T, Ishimoto T, et al. The ISN/RPS 2016 classification predicts renal prognosis in patients with first-onset class III/IV lupus nephritis. *Sci Rep.* 2021 Dec;11(1):1525.
49. Umeda R, Ogata S, Hara S, Takahashi K, Inaguma D, Hasegawa M, et al. Comparison of the 2018 and 2003 International Society of Nephrology/Renal Pathology Society classification in terms of renal prognosis in patients of lupus nephritis: a retrospective cohort study. *Arthritis Research & Therapy.* 2020 Nov 4;22(1):260.
50. Parikh SV, Almaani S, Brodsky S, Rovin BH. Update on Lupus Nephritis: Core Curriculum 2020. *American Journal of Kidney Diseases.* 2020 Aug;76(2):265–81.
51. Kamen DL, Strange C. Pulmonary manifestations of systemic lupus erythematosus. *Clin Chest Med.* 2010 Sep;31(3):479–88.
52. Pego-Reigosa JM, Medeiros DA, Isenberg DA. Respiratory manifestations of systemic lupus erythematosus: old and new concepts. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2009 Aug;23(4):469–80.

53. Chen J, Tang Y, Zhu M, Xu A. Heart involvement in systemic lupus erythematosus: a systemic review and meta-analysis. *Clin Rheumatol*. 2016 Oct;35(10):2437–48.
54. Palejwala NV, Walia HS, Yeh S. Ocular manifestations of systemic lupus erythematosus: a review of the literature. *Autoimmune Dis*. 2012;2012:290898.
55. Silpa-archa S, Lee JJ, Foster CS. Ocular manifestations in systemic lupus erythematosus. *Br J Ophthalmol*. 2016 Jan;100(1):135–41.
56. Alves SC, Fasano S, Isenberg DA. Autoimmune gastrointestinal complications in patients with systemic lupus erythematosus: case series and literature review. *Lupus*. 2016 Dec;25(14):1509–19.
57. Brewer BN, Kamen DL. Gastrointestinal and Hepatic Disease in Systemic Lupus Erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am*. 2018 Feb;44(1):165–75.
58. Witt M, Zecher D, Anders HJ. Gastrointestinal manifestations associated with systemic lupus erythematosus. *Eur J Med Res*. 2006 Jun 30;11(6):253–60.
59. van Vollenhoven RF, Mosca M, Bertsias G, Isenberg D, Kuhn A, Lerstrøm K, et al. Treat-to-target in systemic lupus erythematosus: recommendations from an international task force. *Ann Rheum Dis*. 2014 Jun;73(6):958–67.
60. Fanouriakis A, Kostopoulou M, Alunno A, Aringer M, Bajema I, Boletis JN, et al. 2019 update of the EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2019 Jun;78(6):736–45.
61. Ruiz-Irastorza G, Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Khamashta MA. Clinical efficacy and side effects of antimalarials in systemic lupus erythematosus: a systematic review. *Ann Rheum Dis*. 2010 Jan;69(1):20–8.
62. Chen HL, Shen LJ, Hsu PN, Shen CY, Hall SA, Hsiao FY. Cumulative Burden of Glucocorticoid-related Adverse Events in Patients with Systemic Lupus Erythematosus: Findings from a 12-year Longitudinal Study. *J Rheumatol*. 2018 Jan;45(1):83–9.
63. Ruiz-Arruza I, Ugarte A, Cabezas-Rodriguez I, Medina JA, Moran MA, Ruiz-Irastorza G. Glucocorticoids and irreversible damage in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2014 Aug;53(8):1470–6.
64. Ruiz-Arruza I, Lozano J, Cabezas-Rodriguez I, Medina JA, Ugarte A, Erdozain JG, et al. Restrictive Use of Oral Glucocorticoids in Systemic Lupus Erythematosus and Prevention of Damage Without Worsening Long-Term Disease Control: An Observational Study. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2018 Apr;70(4):582–91.
65. Pego-Reigosa JM, Cobo-Ibáñez T, Calvo-Alén J, Loza-Santamaría E, Rahman A, Muñoz-Fernández S, et al. Efficacy and safety of nonbiologic immunosuppressants in the treatment of nonrenal systemic lupus erythematosus: a systematic review. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013 Nov;65(11):1775–85.
66. Yasuda S. Emerging targets for the treatment of lupus erythematosus: There is no royal road to treating lupus. *Mod Rheumatol*. 2019 Jan;29(1):60–9.

67. Thanou A, Merrill JT. Treatment of systemic lupus erythematosus: new therapeutic avenues and blind alleys. *Nat Rev Rheumatol*. 2014 Jan;10(1):23–34.
68. Manzi S, Sánchez-Guerrero J, Merrill JT, Furie R, Gladman D, Navarra SV, et al. Effects of belimumab, a B lymphocyte stimulator-specific inhibitor, on disease activity across multiple organ domains in patients with systemic lupus erythematosus: combined results from two phase III trials. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2012 Nov 1;71(11):1833–8.
69. Iaccarino L, Andreoli L, Bocci EB, Bortoluzzi A, Ceccarelli F, Conti F, et al. Clinical predictors of response and discontinuation of belimumab in patients with systemic lupus erythematosus in real life setting. Results of a large, multicentric, nationwide study. *J Autoimmun*. 2018 Jan;86:1–8.
70. Pengo V, Denas G, Zoppellaro G, Jose SP, Hoxha A, Ruffatti A, et al. Rivaroxaban vs warfarin in high-risk patients with antiphospholipid syndrome. *Blood*. 2018 Sep 27;132(13):1365–71.
71. Serris A, Amoura Z, Canouï-Poitrine F, Terrier B, Hachulla E, Costedoat-Chalumeau N, et al. Efficacy and safety of rituximab for systemic lupus erythematosus-associated immune cytopenias: A multicenter retrospective cohort study of 71 adults. *Am J Hematol*. 2018 Mar;93(3):424–9.
72. The causes of death in Korean patients with systemic lupus erythematosus over 11 years - PubMed [Internet]. [cited 2021 Oct 19]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21700655/>
73. Voss A, Lastrup H, Hjelmberg J, Junker P. Survival in systemic lupus erythematosus, 1995-2010. A prospective study in a Danish community. *Lupus*. 2013 Oct;22(11):1185–91.
74. Vogel B, Acevedo M, Appelman Y, Bairey Merz CN, Chieffo A, Figtree GA, et al. The Lancet women and cardiovascular disease Commission: reducing the global burden by 2030. *The Lancet*. 2021 Jun;397(10292):2385–438.
75. Saeed A, Kampangkaew J, Nambi V. Prevention of Cardiovascular Disease in Women. *Methodist Debakey Cardiovasc J*. 2017 Dec;13(4):185–92.
76. Melissaropoulos K, Bogdanos D, Dimitroulas T, Sakkas LI, Kitas GD, Daoussis D. Primary Sjögren's Syndrome and Cardiovascular Disease. *Curr Vasc Pharmacol*. 2020;18(5):447–54.
77. Polytarchou K, Varvarousis D, Manolis AS. Cardiovascular Disease in Antiphospholipid Syndrome. *Curr Vasc Pharmacol*. 2020;18(6):538–48.
78. Persaud A, Ahmed A, Kakked G, Shulik O, Ahlawat S. Association of Autoimmune Hepatitis and Cardiovascular Disease. *Dig Liver Dis*. 2019 Nov;51(11):1604–9.
79. Wolf VL, Ryan MJ. Autoimmune Disease-Associated Hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2019 Feb 2;21(1):10.

80. England BR, Thiele GM, Anderson DR, Mikuls TR. Increased cardiovascular risk in rheumatoid arthritis: mechanisms and implications. *BMJ*. 2018 Apr 23;361:k1036.
81. Kostopoulou M, Nikolopoulos D, Parodis I, Bertias G. Cardiovascular Disease in Systemic Lupus Erythematosus: Recent Data on Epidemiology, Risk Factors and Prevention. *Curr Vasc Pharmacol*. 2020;18(6):549–65.
82. Falk E. Pathogenesis of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 2006 Apr 18;47(8 Suppl):C7-12.
83. Virmani R, Burke AP, Farb A, Kolodgie FD. Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol*. 2006 Apr 18;47(8 Suppl):C13-18.
84. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2005 Apr 21;352(16):1685–95.
85. De Maré A, Maudsley S, Azmi A, Hendrickx JO, Opdebeeck B, Neven E, et al. Sclerostin as Regulatory Molecule in Vascular Media Calcification and the Bone–Vascular Axis. *Toxins*. 2019 Jul 21;11(7):428.
86. Schwartz SM, Virmani R, Rosenfeld ME. The good smooth muscle cells in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*. 2000 Sep;2(5):422–9.
87. Croca S, Rahman A. Atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 2017 Jun;31(3):364–72.
88. Bruce IN. ‘Not only...but also’: factors that contribute to accelerated atherosclerosis and premature coronary heart disease in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology*. 2005 Dec 1;44(12):1492–502.
89. Manzi S, Meilahn EN, Rairie JE, Conte CG, Medsger TA Jr, Jansen-McWilliams L, et al. Age-specific Incidence Rates of Myocardial Infarction and Angina in Women with Systemic Lupus Erythematosus: Comparison with the Framingham Study. *American Journal of Epidemiology*. 1997 Mar 1;145(5):408–15.
90. Aviña-Zubieta JA, To F, Vostretsova K, De Vera M, Sayre EC, Esdaile JM. Risk of Myocardial Infarction and Stroke in Newly Diagnosed Systemic Lupus Erythematosus: A General Population-Based Study. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2017 Jun;69(6):849–56.
91. Yazdany J, Pooley N, Langham J, Nicholson L, Langham S, Embleton N, et al. Systemic lupus erythematosus; stroke and myocardial infarction risk: a systematic review and meta-analysis. *RMD Open*. 2020 Sep;6(2):e001247.
92. Abu-Shakra M, Urowitz MB, Gladman DD, Gough J. Mortality studies in systemic lupus erythematosus. Results from a single center. I. Causes of death. *J Rheumatol*. 1995 Jul;22(7):1259–64.

93. Kay SD, Poulsen MK, Diederichsen ACP, Voss A. Coronary, Carotid, and Lower-extremity Atherosclerosis and Their Interrelationship in Danish Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *J Rheumatol*. 2016 Feb;43(2):315–22.
94. Su-angka N, Khositseth A, Vilaiyuk S, Tangnararatchakit K, Prangwatanagul W. Carotid intima-media thickness and arterial stiffness in pediatric systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2017 Aug;26(9):989–95.
95. Roldan PC, Greene ER, Qualls CR, Sibbitt WL, Roldan CA. Progression of atherosclerosis versus arterial stiffness with age within and between arteries in systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int*. 2019 Jun;39(6):1027–36.
96. Vázquez-Del Mercado M, Perez-Vazquez F de J, Gomez-Bañuelos E, Chavarria-Avila E, Llamas-García A, Arrona-Rios KI, et al. Subclinical parameters of arterial stiffness and arteriosclerosis correlate with QRISK3 in systemic lupus erythematosus. Kirchmair R, editor. *PLoS ONE*. 2018 Dec 5;13(12):e0207520.
97. Sacre K, Escoubet B, Zennaro MC, Chauveheid MP, Gayat E, Papo T. Overweight Is a Major Contributor to Atherosclerosis in Systemic Lupus Erythematosus Patients at Apparent Low Risk for Cardiovascular Disease: A Cross-Sectional Controlled Study. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Dec;94(48):e2177.
98. Bessant R, Duncan R, Ambler G, Swanton J, Isenberg DA, Gordon C, et al. Prevalence of conventional and lupus-specific risk factors for cardiovascular disease in patients with systemic lupus erythematosus: A case-control study. *Arthritis Rheum*. 2006 Dec 15;55(6):892–9.
99. Urowitz MB, Gladman D, Ibañez D, Fortin P, Sanchez-Guerrero J, Bae S, et al. Clinical manifestations and coronary artery disease risk factors at diagnosis of systemic lupus erythematosus: data from an international inception cohort. *Lupus*. 2007;16(9):731–5.
100. Urowitz MB, Gladman D, Ibañez D, Fortin P, Sanchez-Guerrero J, Bae S, et al. Accumulation of coronary artery disease risk factors over three years: data from an international inception cohort. *Arthritis Rheum*. 2008 Feb 15;59(2):176–80.
101. Szabó MZ, Szodoray P, Kiss E. Dyslipidemia in systemic lupus erythematosus. *Immunol Res*. 2017 Apr;65(2):543–50.
102. Borba EF, Bonfá E. Dyslipoproteinemias in systemic lupus erythematosus: influence of disease, activity, and anticardiolipin antibodies. *Lupus*. 1997;6(6):533–9.
103. Borba EF, Carvalho JF, Bonfá E. Mechanisms of dyslipoproteinemias in systemic lupus erythematosus. *Clin Dev Immunol*. 2006 Dec;13(2–4):203–8.
104. Sabio JM, Vargas-Hitos JA, Navarrete-Navarrete N, Mediavilla JD, Jiménez-Jáimez J, Díaz-Chamorro A, et al. Prevalence of and Factors Associated with Hypertension in Young and Old Women with Systemic Lupus Erythematosus. *J Rheumatol*. 2011 Jun;38(6):1026–32.

105. Sabio JM, Martínez-Bordonado J, Sánchez-Berná I, Vargas-Hitos JA, Mediavilla JD, Navarrete-Navarrete N, et al. Nighttime Blood Pressure Patterns and Subclinical Atherosclerosis in Women with Systemic Lupus Erythematosus. *J Rheumatol*. 2015 Dec;42(12):2310–7.
106. Mathis KW, Wallace K, Flynn ER, Maric-Bilkan C, LaMarca B, Ryan MJ. Preventing autoimmunity protects against the development of hypertension and renal injury. *Hypertension*. 2014 Oct;64(4):792–800.
107. Munguia-Realpozo P, Mendoza-Pinto C, Sierra Benito C, Escarcega RO, Garcia-Carrasco M, Mendez Martinez S, et al. Systemic lupus erythematosus and hypertension. *Autoimmun Rev*. 2019 Oct;18(10):102371.
108. Sabio JM, Vargas-Hitos JA, Martínez-Bordonado J, Navarrete-Navarrete N, Díaz-Chamorro A, Olvera-Porcel C, et al. Relationship Between Homocysteine Levels and Hypertension in Systemic Lupus Erythematosus: Hypertension and Homocysteine Levels in SLE. *Arthritis Care & Research*. 2014 Oct;66(10):1528–35.
109. Dong Y, Dai Z, Wang Z, Wang H, Yuan F, Zhu Y, et al. Risk of gestational diabetes mellitus in systemic lupus erythematosus pregnancy: a systematic review and meta-analysis. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2019 May 22;19(1):179.
110. Bruce IN, Urowitz MB, Gladman DD, Ibañez D, Steiner G. Risk factors for coronary heart disease in women with systemic lupus erythematosus: the Toronto Risk Factor Study. *Arthritis Rheum*. 2003 Nov;48(11):3159–67.
111. AlAhmed O, Sivaraman V, Moore-Clingenpeel M, Ardoin SP, Bout-Tabaku S, CARRA registry investigators. Autoimmune thyroid diseases, autoimmune hepatitis, celiac disease and type 1 diabetes mellitus in pediatric systemic lupus erythematosus: Results from the CARRA Legacy Registry. *Lupus*. 2020 Dec;29(14):1926–36.
112. Sabio J, Zamora-Pasadas M, Jiménez-Jáimez J, Albadalejo F, Vargas-Hitos J, Rodríguez del Águila M, et al. Metabolic syndrome in patients with systemic lupus erythematosus from Southern Spain. *Lupus*. 2008 Sep;17(9):849–59.
113. Mok CC. Metabolic syndrome and systemic lupus erythematosus: the connection. *Expert Rev Clin Immunol*. 2019 Jul;15(7):765–75.
114. Chen YM, Lin CH, Lan TH, Chen HH, Chang SN, Chen YH, et al. Hydroxychloroquine reduces risk of incident diabetes mellitus in lupus patients in a dose-dependent manner: a population-based cohort study. *Rheumatology (Oxford)*. 2015 Jul;54(7):1244–9.
115. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med*. 2000 Mar 23;342(12):836–43.
116. Hansson GK, Libby P, Schönbeck U, Yan ZQ. Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ Res*. 2002 Aug 23;91(4):281–91.

117. Janssen BA, Luqmani RA, Gordon C, Hemingway IH, Bacon PA, Gearing AJ, et al. Correlation of blood levels of soluble vascular cell adhesion molecule-1 with disease activity in systemic lupus erythematosus and vasculitis. *Br J Rheumatol*. 1994 Dec;33(12):1112–6.
118. Amaya-Amaya J, Rojas-Villarraga A, Anaya JM. Cardiovascular disease in the antiphospholipid syndrome. *Lupus*. 2014 Oct 1;23(12):1288–91.
119. Gansevoort RT, Correa-Rotter R, Hemmelgarn BR, Jafar TH, Heerspink HJL, Mann JF, et al. Chronic kidney disease and cardiovascular risk: epidemiology, mechanisms, and prevention. *Lancet*. 2013 Jul 27;382(9889):339–52.
120. Liu M, Li XC, Lu L, Cao Y, Sun RR, Chen S, et al. Cardiovascular disease and its relationship with chronic kidney disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014 Oct;18(19):2918–26.
121. Lees JS, Welsh CE, Celis-Morales CA, Mackay D, Lewsey J, Gray SR, et al. Glomerular filtration rate by differing measures, albuminuria and prediction of cardiovascular disease, mortality and end-stage kidney disease. *Nat Med*. 2019 Nov;25(11):1753–60.
122. Caravaca-Fontán F, Praga M. [Cardiovascular disease in lupus nephritis: An underestimated risk]. *Hipertens Riesgo Vasc*. 2018 Jun;35(2):51–3.
123. Todolí-Parra JA, Tung-Chen Y, Micó L, Gutiérrez J, Hernández-Jaras J, Ruiz-Cerda JL. Lupus nephritis with preserved kidney function associated with poorer cardiovascular risk control: A call for more awareness. *Hipertens Riesgo Vasc*. 2018 Jan 27;S1889-1837(17)30088-0.
124. Mancardi D, Arrigo E, Cozzi M, Cecchi I, Radin M, Fenoglio R, et al. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk in lupus nephritis: New roles for old players? *Eur J Clin Invest*. 2021 Feb;51(2):e13441.
125. Strohmayr EA, Krakoff LR. Glucocorticoids and cardiovascular risk factors. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2011 Jun;40(2):409–17, ix.
126. Salmasi S, Sayre EC, Antonio Aviña-Zubieta J, Esdaile JM, De Vera MA. Adherence to Antimalarial Therapy and Risk of Type 2 Diabetes Mellitus Among Patients With Systemic Lupus Erythematosus: A Population-Based Study. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2021 May;73(5):702–6.
127. Legato MJ, Johnson PA, Manson JE. Consideration of Sex Differences in Medicine to Improve Health Care and Patient Outcomes. *JAMA*. 2016 Nov 8;316(18):1865–6.
128. Jin X, Chandramouli C, Allocco B, Gong E, Lam CSP, Yan LL. Women’s Participation in Cardiovascular Clinical Trials From 2010 to 2017. *Circulation*. 2020 Feb 18;141(7):540–8.

129. Nanna MG, Wang TY, Xiang Q, Goldberg AC, Robinson JG, Roger VL, et al. Sex Differences in the Use of Statins in Community Practice: The Patient and Provider Assessment of Lipid Management (PALM) Registry. 2020;19.
130. Udell JA, Fonarow GC, Maddox TM, Cannon CP, Frank Peacock W, Laskey WK, et al. Sustained sex-based treatment differences in acute coronary syndrome care: Insights from the American Heart Association Get With The Guidelines Coronary Artery Disease Registry. *Clin Cardiol*. 2018 Jun;41(6):758–68.
131. Virani SS, Alonso A, Aparicio HJ, Benjamin EJ, Bittencourt MS, Callaway CW, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2021 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2021 Feb 23;143(8):e254–743.
132. Tselios K, Koumaras C, Urowitz MB, Gladman DD. Do current arterial hypertension treatment guidelines apply to systemic lupus erythematosus patients? a critical appraisal. *Semin Arthritis Rheum*. 2014 Feb;43(4):521–5.
133. Drosos GC, Vedder D, Houben E, Boekel L, Atzeni F, Badreh S, et al. EULAR recommendations for cardiovascular risk management in rheumatic and musculoskeletal diseases, including systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2022 Jun;81(6):768–79.
134. Esdaile JM, Abrahamowicz M, Grodzicky T, Li Y, Panaritis C. Traditional Framingham risk factors fail to fully account for accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. :7.
135. Ahmad Y, Shelmerdine J, Bodill H, Lunt M, Patrick MG, Teh LS, et al. Subclinical atherosclerosis in systemic lupus erythematosus (SLE): the relative contribution of classic risk factors and the lupus phenotype. *Rheumatology*. 2007 Jun 1;46(6):983–8.
136. Pike MM, Decker PA, Larson NB, St Sauver JL, Takahashi PY, Roger VL, et al. Improvement in Cardiovascular Risk Prediction with Electronic Health Records. *J Cardiovasc Transl Res*. 2016 Jun;9(3):214–22.
137. McMahon M, Skaggs BJ, Grossman JM, Sahakian L, FitzGerald J, Wong WK, et al. A Panel of Biomarkers Is Associated With Increased Risk of the Presence and Progression of Atherosclerosis in Women With Systemic Lupus Erythematosus: Biomarkers of Atherosclerosis Risk in SLE. *Arthritis & Rheumatology*. 2014 Jan;66(1):130–9.
138. López P, Rodríguez-Carrio J, Martínez-Zapico A, Pérez-Álvarez ÁI, Suárez-Díaz S, Mozo L, et al. Low-density granulocytes and monocytes as biomarkers of cardiovascular risk in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2020 Jul 1;59(7):1752–64.
139. Kim SY, Yu M, Morin EE, Kang J, Kaplan MJ, Schwendeman A. High-Density Lipoprotein in Lupus: Disease Biomarkers and Potential Therapeutic Strategy. *Arthritis Rheumatol*. 2020 Jan;72(1):20–30.

140. Mercurio V, Lobasso A, Barbieri L, Parrella P, Ciervo D, Liccardo B, et al. Inflammatory, Serological and Vascular Determinants of Cardiovascular Disease in Systemic Lupus Erythematosus Patients. *Int J Mol Sci*. 2019 Apr 30;20(9):E2154.
141. Wigren M, Svenungsson E, Mattisson IY, Gustafsson JT, Gunnarsson I, Zickert A, et al. Cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus is associated with increased levels of biomarkers reflecting receptor-activated apoptosis. *Atherosclerosis*. 2018 Mar;270:1–7.
142. Paccou J, Mentaverri R, Renard C, Liabeuf S, Fardellone P, Massy ZA, et al. The Relationships Between Serum Sclerostin, Bone Mineral Density, and Vascular Calcification in Rheumatoid Arthritis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014 Dec 1;99(12):4740–8.
143. Zeng C, Guo C, Cai J, Tang C, Dong Z. Serum sclerostin in vascular calcification and clinical outcome in chronic kidney disease. *Diabetes and Vascular Disease Research*. 2018 Mar;15(2):99–105.
144. Hannawi S, Hannawi H, Al Salmi I. Cardiovascular disease and subclinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Hypertens Res*. 2020 Sep;43(9):982–4.
145. Patrìtti JP, Deferrari A, Patrìtti Isasi JJ. Diagnóstico no invasivo de la aterosclerosis subclínica: Riesgo cardiovascular. *Archivos de Medicina Interna*. 2009 Mar;31(1):3–10.
146. Burkard T, Trendelenburg M, Daikeler T, Hess C, Bremerich J, Haaf P, et al. The heart in systemic lupus erythematosus – A comprehensive approach by cardiovascular magnetic resonance tomography. *PLOS ONE*. 2018 Oct 1;13(10):e0202105.
147. Koos R, Brandenburg V, Mahnken AH, Schneider R, Dohmen G, Autschbach R, et al. Sclerostin as a potential novel biomarker for aortic valve calcification: an in-vivo and ex-vivo study. *J Heart Valve Dis*. 2013 May;22(3):317–25.
148. Nambi V, Chambless L, Folsom AR, He M, Hu Y, Mosley T, et al. Carotid intima-media thickness and presence or absence of plaque improves prediction of coronary heart disease risk in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *J Am Coll Cardiol*. 2010 Apr 13;55(15):1600–7.
149. Jung J, Kim H, Lee H, Suh C. Body mass index and glucocorticoid dose contribute to subclinical atherosclerosis in Korean patients with systemic lupus erythematosus: A prospective 4 year follow-up study. *Int J Rheum Dis*. 2019 May 2;1756-185X.13588.
150. Wu GC, Liu HR, Leng RX, Li XP, Li XM, Pan HF, et al. Subclinical atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus: A systemic review and meta-analysis. *Autoimmunity Reviews*. 2016 Jan;15(1):22–37.
151. Kravvariti E, Konstantonis G, Sfikakis PP, Tektonidou MG. Progression of subclinical atherosclerosis in systemic lupus erythematosus versus rheumatoid arthritis: the impact of low disease activity. *Rheumatology*. 2018 Dec 1;57(12):2158–66.

152. Kravvariti E, Konstantonis G, Tentolouris N, Sfikakis PP, Tektonidou MG. Carotid and femoral atherosclerosis in antiphospholipid syndrome: Equivalent risk with diabetes mellitus in a case-control study. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 2018 Jun;47(6):883–9.
153. Cecelja M, Jiang B, Bevan L, Frost ML, Spector TD, Chowienczyk PJ. Arterial Stiffening Relates to Arterial Calcification But Not to Noncalcified Atheroma in Women. *Journal of the American College of Cardiology*. 2011 Mar;57(13):1480–6.
154. Kocabay G, Hasdemir H, Yildiz M. Evaluation of pulse wave velocity in systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and Behçet's disease. *J Cardiol*. 2012 Jan;59(1):72–7.
155. Wang P, Mao YM, Zhao CN, Liu LN, Li XM, Li XP, et al. Increased Pulse Wave Velocity in Systemic Lupus Erythematosus: A Meta-Analysis. *Angiology*. 2018 Mar;69(3):228–35.
156. Stortz M, Triantafyllias K, Schwarting A, Weinmann-Menke J. Vascular stiffness: influencing factors on carotid-femoral pulse wave velocity in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol*. 2020 Feb;38(1):74–81.
157. Gupta DK, Skali H, Claggett B, Kasabov R, Cheng S, Shah AM, et al. Heart failure risk across the spectrum of ankle-brachial index: the ARIC study (Atherosclerosis Risk In Communities). *JACC Heart Fail*. 2014 Oct;2(5):447–54.
158. Alizargar J, Bai CH. Value of the arterial stiffness index and ankle brachial index in subclinical atherosclerosis screening in healthy community-dwelling individuals. *BMC Public Health*. 2019 Jan 15;19(1):65.
159. Tziomalos K, Gkougkourelas I, Sarantopoulos A, Bekiari E, Makri E, Raptis N, et al. Arterial stiffness and peripheral arterial disease in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int*. 2017 Feb;37(2):293–8.
160. Erdozain JG, Villar I, Nieto J, Ruiz-Irastorza G. Peripheral arterial disease in systemic lupus erythematosus: prevalence and risk factors. *J Rheumatol*. 2014 Feb;41(2):310–7.
161. Erdozain JG, Pijoan JI, Villar I, Nieto J, Ruiz-Arruza I, Ruiz-Irastorza G, et al. Ankle-brachial index and arterial vascular events in systemic lupus erythematosus patients: a 5-year prospective cohort. *Clin Exp Rheumatol*. 2020 Oct;38(5):978–84.
162. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol*. 2002 Jan 16;39(2):257–65.
163. Taraborelli M, Sciatti E, Bonadei I, Terlizzi V, Fredi M, Zani R, et al. Endothelial Dysfunction in Early Systemic Lupus Erythematosus Patients and Controls Without Previous Cardiovascular Events. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2018 Sep;70(9):1277–83.

164. Mendoza-Pinto C, Rojas-Villarraga A, Molano-González N, García-Carrasco M, Munguía-Realpozo P, Etchegaray-Morales I, et al. Endothelial dysfunction and arterial stiffness in patients with systemic lupus erythematosus: A systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis*. 2020 Mar;297:55–63.
165. Hu L, Chen Z, Jin Y, Jiang B, Wang X, Yu H, et al. Incidence and predictors of aorta calcification in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2019 Mar;28(3):275–82.
166. Von Feldt JM, Eisner ER, Sawaires A. Coronary electron beam computed tomography in 13 patients with systemic lupus erythematosus and two or more cardiovascular risk factors. *J Clin Rheumatol*. 2002 Dec;8(6):316–21.
167. Kalousová M, Dusilová-Sulková S, Kuběna AA, Zakiyanov O, Zima T. Sclerostin levels predict cardiovascular mortality in long-term haemodialysis patients: a prospective observational cohort study. :25.
168. He XW, Wang E, Bao YY, Wang F, Zhu M, Hu XF, et al. High serum levels of sclerostin and Dickkopf-1 are associated with acute ischaemic stroke. *Atherosclerosis*. 2016 Oct;253:22–8.
169. Urano T, Shiraki M, Ouchi Y, Inoue S. Association of Circulating Sclerostin Levels with Fat Mass and Metabolic Disease—Related Markers in Japanese Postmenopausal Women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2012 Aug;97(8):E1473–7.
170. Chang YC, Hsu BG, Liou HH, Lee CJ, Wang JH. Serum levels of sclerostin as a potential biomarker in central arterial stiffness among hypertensive patients. *BMC Cardiovasc Disord*. 2018 Dec;18(1):214.
171. Popovic DS, Mitrovic M, Tomic-Naglic D, Icin T, Bajkin I, Vukovic B, et al. The Wnt/B-catenin Signalling Pathway Inhibitor Sclerostin is a Biomarker for Early Atherosclerosis in Obesity. *CNR [Internet]*. 2017 Aug 25 [cited 2021 Nov 6];14(3). Available from: <http://www.eurekaselect.com/153380/article>
172. Brabnikova-Maresova K, Jarosova K, Pavelka K, Stepan JJ. Serum sclerostin in high-activity adult patients with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2014 Oct;16(5):460.
173. Fernández-Roldán C, Genre F, López-Mejías R, Ubilla B, Mijares V, Cano DS, et al. Sclerostin serum levels in patients with systemic autoimmune diseases. *BoneKEY Reports [Internet]*. 2016 Feb 3 [cited 2021 Oct 11];5. Available from: <http://www.portico.org/Portico/article?article=pgk2x16x7wz>
174. Fayed A, Soliman A, Elgohary R. Measuring Serum Sclerostin in Egyptian Patients With Systemic Lupus Erythematosus and Evaluating Its Effect on Disease Activity: A Case-Control Study. *J Clin Rheumatol*. 2021 Jun 1;27(4):161–7.
175. Kronenberg HM. Developmental regulation of the growth plate. *Nature*. 2003 May;423(6937):332–6.

176. Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA, editors. Contributors. In: Principles of Bone Biology (Second Edition) [Internet]. San Diego: Academic Press; 2002 [cited 2021 Nov 6]. p. xiii–xx. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780120986521501001>
177. Sims NA, Gooi JH. Bone remodeling: Multiple cellular interactions required for coupling of bone formation and resorption. *Semin Cell Dev Biol.* 2008 Oct;19(5):444–51.
178. Florencio-Silva R, Sasso GR da S, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *Biomed Res Int.* 2015;2015:421746.
179. Pogoda P, Priemel M, Rueger JM, Amling M. Bone remodeling: new aspects of a key process that controls skeletal maintenance and repair. *Osteoporos Int.* 2005 Mar;16(S02):S18–24.
180. Wein MN, Kronenberg HM. Regulation of Bone Remodeling by Parathyroid Hormone. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2018 Aug 1;8(8):a031237.
181. Feng W, Guo J, Li M. RANKL-independent modulation of osteoclastogenesis. *J Oral Biosci.* 2019 Mar;61(1):16–21.
182. Matsuo K, Irie N. Osteoclast-osteoblast communication. *Arch Biochem Biophys.* 2008 May 15;473(2):201–9.
183. Mochizuki A, Takami M, Kawawa T, Suzumoto R, Sasaki T, Shiba A, et al. Identification and Characterization of the Precursors Committed to Osteoclasts Induced by TNF-Related Activation-Induced Cytokine/Receptor Activator of NF- $\kappa$ B Ligand. *J Immunol.* 2006 Oct 1;177(7):4360–8.
184. Ponzetti M, Rucci N. Osteoblast Differentiation and Signaling: Established Concepts and Emerging Topics. *Int J Mol Sci.* 2021 Jun 22;22(13):6651.
185. Komori T. Runx2, an inducer of osteoblast and chondrocyte differentiation. *Histochem Cell Biol.* 2018 Apr;149(4):313–23.
186. van Amerongen R, Nusse R. Towards an integrated view of Wnt signaling in development. *Development.* 2009 Oct 1;136(19):3205–14.
187. Kestler HA, Kühl M. From individual Wnt pathways towards a Wnt signalling network. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2008 Apr 12;363(1495):1333–47.
188. Baron R, Kneissel M. WNT signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments. *Nat Med.* 2013 Feb;19(2):179–92.
189. Kim W, Kim M, Jho E hoon. Wnt/ $\beta$ -catenin signalling: from plasma membrane to nucleus. *Biochem J.* 2013 Feb 15;450(1):9–21.

190. Ke HZ, Richards WG, Li X, Ominsky MS. Sclerostin and Dickkopf-1 as therapeutic targets in bone diseases. *Endocr Rev.* 2012 Oct;33(5):747–83.
191. Monroe DG, McGee-Lawrence ME, Oursler MJ, Westendorf JJ. Update on Wnt signaling in bone cell biology and bone disease. *Gene.* 2012 Jan 15;492(1):1–18.
192. Winkler DG, Sutherland MK, Geoghegan JC, Yu C, Hayes T, Skonier JE, et al. Osteocyte control of bone formation via sclerostin, a novel BMP antagonist. *EMBO J.* 2003 Dec 1;22(23):6267–76.
193. Kubota T, Michigami T, Ozono K. Wnt Signaling in Bone. *Clin Pediatr Endocrinol.* 2010 Jul;19(3):49–56.
194. Mani A, Radhakrishnan J, Wang H, Mani A, Mani MA, Nelson-Williams C, et al. LRP6 mutation in a family with early coronary disease and metabolic risk factors. *Science.* 2007 Mar 2;315(5816):1278–82.
195. Toledo C, Lucero C, Andrade DC, Díaz HS, Schwarz KG, Pereyra KV, et al. Cognitive impairment in heart failure is associated with altered Wnt signaling in the hippocampus. *Aging (Albany NY).* 2019 Aug 25;11(16):5924–42.
196. Zhou L, Liu Y. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and renin-angiotensin system in chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2016 Mar;25(2):100–6.
197. Wang W, Smits R, Hao H, He C. Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling in Liver Cancers. *Cancers.* 2019 Jul 2;11(7):926.
198. Evenepoel P, D'Haese P, Brandenburg V. Sclerostin and DKK1: new players in renal bone and vascular disease. *Kidney Int.* 2015 Aug;88(2):235–40.
199. Mao B, Wu W, Davidson G, Marhold J, Li M, Mechler BM, et al. Kremen proteins are Dickkopf receptors that regulate Wnt/beta-catenin signalling. *Nature.* 2002 Jun 6;417(6889):664–7.
200. Rachner TD, Khosla S, Hofbauer LC. Osteoporosis: now and the future. *Lancet.* 2011 Apr 9;377(9773):1276–87.
201. Baek K, Hwang HR, Park HJ, Kwon A, Qadir AS, Ko SH, et al. TNF- $\alpha$  upregulates sclerostin expression in obese mice fed a high-fat diet. *J Cell Physiol.* 2014 May;229(5):640–50.
202. Poole KES, van Bezooijen RL, Loveridge N, Hamersma H, Papapoulos SE, Löwik CW, et al. Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation. *FASEB J.* 2005 Nov;19(13):1842–4.
203. Balemans W, Ebeling M, Patel N, Van Hul E, Olson P, Dioszegi M, et al. Increased bone density in sclerosteosis is due to the deficiency of a novel secreted protein (SOST). *Human Molecular Genetics.* 2001 Mar 1;10(5):537–44.

204. Pederson L, Ruan M, Westendorf JJ, Khosla S, Oursler MJ. Regulation of bone formation by osteoclasts involves Wnt/BMP signaling and the chemokine sphingosine-1-phosphate. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Dec 30;105(52):20764–9.
205. Choi HY, Dieckmann M, Herz J, Niemeier A. Lrp4, a Novel Receptor for Dickkopf 1 and Sclerostin, Is Expressed by Osteoblasts and Regulates Bone Growth and Turnover In Vivo. *PLoS One*. 2009 Nov 20;4(11):e7930.
206. Glass DA, Bialek P, Ahn JD, Starbuck M, Patel MS, Clevers H, et al. Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation. *Dev Cell*. 2005 May;8(5):751–64.
207. Ryan ZC, Ketha H, McNulty MS, McGee-Lawrence M, Craig TA, Grande JP, et al. Sclerostin alters serum vitamin D metabolite and fibroblast growth factor 23 concentrations and the urinary excretion of calcium. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 Apr 9;110(15):6199–204.
208. Ryan ZC, Craig TA, McGee-Lawrence M, Westendorf JJ, Kumar R. Alterations in vitamin D metabolite, parathyroid hormone and fibroblast growth factor-23 concentrations in sclerostin-deficient mice permit the maintenance of a high bone mass. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2015 Apr;148:225–31.
209. Yee CS, Manilay JO, Chang JC, Hum NR, Muruges DK, Bajwa J, et al. Conditional Deletion of Sost in MSC-Derived Lineages Identifies Specific Cell-Type Contributions to Bone Mass and B-Cell Development. *J Bone Miner Res*. 2018 Oct;33(10):1748–59.
210. Brandenburg VM, D’Haese P, Deck A, Mekahli D, Meijers B, Neven E, et al. From skeletal to cardiovascular disease in 12 steps—the evolution of sclerostin as a major player in CKD-MBD. *Pediatr Nephrol*. 2016 Feb;31(2):195–206.
211. Cejka D, Jäger-Lansky A, Kieweg H, Weber M, Bieglmayer C, Haider DG, et al. Sclerostin serum levels correlate positively with bone mineral density and microarchitecture in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2012 Jan;27(1):226–30.
212. Pelletier S, Dubourg L, Carlier MC, Hadj-Aissa A, Fouque D. The Relation between Renal Function and Serum Sclerostin in Adult Patients with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2013 May 7;8(5):819–23.
213. Gonçalves FLC, Elias RM, dos Reis LM, Gracioli FG, Zampieri FG, Oliveira RB, et al. Serum sclerostin is an independent predictor of mortality in hemodialysis patients. *BMC Nephrol*. 2014 Dec;15(1):190.
214. Drechsler C, Evenepoel P, Vervloet MG, Wanner C, Ketteler M, Marx N, et al. High levels of circulating sclerostin are associated with better cardiovascular survival in incident dialysis patients: results from the NECOSAD study. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2015 Feb 1;30(2):288–93.
215. García-Martín A, Rozas-Moreno P, Reyes-García R, Morales-Santana S, García-Fontana B, García-Salcedo JA, et al. Circulating levels of sclerostin are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Jan;97(1):234–41.

216. Gennari L, Merlotti D, Valenti R, Ceccarelli E, Ruvio M, Pietrini MG, et al. Circulating sclerostin levels and bone turnover in type 1 and type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 May;97(5):1737–44.
217. Cejka D, Marculescu R, Kozakowski N, Plischke M, Reiter T, Gessl A, et al. Renal elimination of sclerostin increases with declining kidney function. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014 Jan;99(1):248–55.
218. Bonani M, Rodriguez D, Fehr T, Mohebbi N, Brockmann J, Blum M, et al. Sclerostin blood levels before and after kidney transplantation. *Kidney Blood Press Res.* 2014;39(4):230–9.
219. Catalano A, Bellone F, Morabito N, Corica F. Sclerostin and Vascular Pathophysiology. *Int J Mol Sci.* 2020 Jul 6;21(13):E4779.
220. Roforth MM, Fujita K, McGregor UI, Kirmani S, McCready LK, Peterson JM, et al. Effects of age on bone mRNA levels of sclerostin and other genes relevant to bone metabolism in humans. *Bone.* 2014 Feb;59:1–6.
221. Cozzolino M, Ureña-Torres P, Vervloet MG, Brandenburg V, Bover J, Goldsmith D, et al. Is chronic kidney disease-mineral bone disorder (CKD-MBD) really a syndrome? *Nephrol Dial Transplant.* 2014 Oct;29(10):1815–20.
222. Carr JJ, Register TC, Hsu FC, Lohman K, Lenchik L, Bowden DW, et al. Calcified Atherosclerotic Plaque and Bone Mineral Density in Type 2 Diabetes. *Bone.* 2008 Jan;42(1):43–52.
223. Divers J, Register TC, Langefeld CD, Wagenknecht LE, Bowden DW, Carr JJ, et al. Relationships Between Calcified Atherosclerotic Plaque and Bone Mineral Density in African Americans With Type 2 Diabetes. *J Bone Miner Res.* 2011 Jul;26(7):1554–60.
224. Thompson B, Towler DA. Arterial calcification and bone physiology: role of the bone-vascular axis. *Nat Rev Endocrinol.* 2012 Sep;8(9):529–43.
225. Farhat GN, Newman AB, Sutton-Tyrrell K, Matthews KA, Boudreau R, Schwartz AV, et al. The association of bone mineral density measures with incident cardiovascular disease in older adults. *Osteoporos Int.* 2007 Jul;18(7):999–1008.
226. Farhat GN, Strotmeyer ES, Newman AB, Sutton-Tyrrell K, Bauer DC, Harris T, et al. Volumetric and areal bone mineral density measures are associated with cardiovascular disease in older men and women: the health, aging, and body composition study. *Calcif Tissue Int.* 2006 Aug;79(2):102–11.
227. Hyder JA, Allison MA, Wong N, Papa A, Lang TF, Sirlin C, et al. Association of Coronary Artery and Aortic Calcium With Lumbar Bone Density. *Am J Epidemiol.* 2009 Jan 15;169(2):186–94.
228. Sinnott B, Syed I, Sevrukov A, Barengolts E. Coronary calcification and osteoporosis in men and postmenopausal women are independent processes associated with aging. *Calcif Tissue Int.* 2006 Apr;78(4):195–202.

229. Chow JT, Khosla S, Melton LJ, Atkinson EJ, Camp JJ, Kearns AE. Abdominal Aortic Calcification, BMD, and Bone Microstructure: A Population-Based Study. *J Bone Miner Res.* 2008 Oct;23(10):1601–12.
230. Cheng C wen, Yeh J ching, Fan TP, Smith SK, Charnock-Jones DS. Wnt5a-mediated non-canonical Wnt signalling regulates human endothelial cell proliferation and migration. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008 Jan 11;365(2):285–90.
231. Mill C, George SJ. Wnt signalling in smooth muscle cells and its role in cardiovascular disorders. *Cardiovasc Res.* 2012 Jul 15;95(2):233–40.
232. Tickenbrock L, Schwäble J, Strey A, Sargin B, Hehn S, Baas M, et al. Wnt signaling regulates transendothelial migration of monocytes. *J Leukoc Biol.* 2006 Jun;79(6):1306–13.
233. Claes KJ, Viaene L, Heye S, Meijers B, d’Haese P, Evenepoel P. Sclerostin: Another vascular calcification inhibitor? *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Aug;98(8):3221–8.
234. Zhu D, Mackenzie NCW, Millán JL, Farquharson C, MacRae VE. The appearance and modulation of osteocyte marker expression during calcification of vascular smooth muscle cells. *PLoS One.* 2011;6(5):e19595.
235. Pelletier S, Confavreux CB, Haesebaert J, Guebre-Egziabher F, Bacchetta J, Carlier MC, et al. Serum sclerostin: the missing link in the bone-vessel cross-talk in hemodialysis patients? *Osteoporos Int.* 2015 Aug;26(8):2165–74.
236. Leto G, D’Onofrio L, Lucantoni F, Zampetti S, Campagna G, Foffi C, et al. Sclerostin is expressed in the atherosclerotic plaques of patients who undergoing carotid endarterectomy. *Diabetes Metab Res Rev.* 2019 Jan;35(1):e3069.
237. Kim JM, Lee WS, Kim J. Therapeutic strategy for atherosclerosis based on bone-vascular axis hypothesis. *Pharmacol Ther.* 2020 Feb;206:107436.
238. Ishibashi H, Crittenden DB, Miyauchi A, Libanati C, Maddox J, Fan M, et al. Romosozumab increases bone mineral density in postmenopausal Japanese women with osteoporosis: A phase 2 study. *Bone.* 2017 Oct;103:209–15.
239. Brandenburg VM, Verhulst A, Babler A, D’Haese PC, Evenepoel P, Kaesler N. Sclerostin in chronic kidney disease—mineral bone disorder think first before you block it! *Nephrology Dialysis Transplantation.* 2019 Mar 1;34(3):408–14.
240. Saag KG, Petersen J, Brandi ML, Karaplis AC, Lorentzon M, Thomas T, et al. Romosozumab or Alendronate for Fracture Prevention in Women with Osteoporosis. *N Engl J Med.* 2017 Oct 12;377(15):1417–27.
241. Fixen C, Tunoa J. Romosozumab: a Review of Efficacy, Safety, and Cardiovascular Risk. *Curr Osteoporos Rep.* 2021 Feb;19(1):15–22.

242. Novo-Rodríguez C, García-Fontana B, Luna-Del Castillo JDD, Andújar-Vera F, Ávila-Rubio V, García-Fontana C, et al. Circulating levels of sclerostin are associated with cardiovascular mortality. Shimosawa T, editor. PLoS ONE. 2018 Jun 21;13(6):e0199504.
243. Chen A, Sun Y, Cui J, Zhao B, Wang H, Chen X, et al. Associations of sclerostin with carotid artery atherosclerosis and all-cause mortality in Chinese patients undergoing maintenance hemodialysis. BMC Nephrol. 2018 Dec;19(1):264.
244. Zou Y, Yang M, Wang J, Cui L, Jiang Z, Ding J, et al. Association of sclerostin with cardiovascular events and mortality in dialysis patients. Renal Failure. 2020 Jan 1;42(1):282–8.
245. Gong L, Zheng D, Yuan J, Cao L, Ni Z, Fang W. Elevated levels of serum sclerostin are linked to adverse cardiovascular outcomes in peritoneal dialysis patients. Int Urol Nephrol. 2018 May;50(5):955–61.
246. Kundakci Gelir G, Sengul S, Nergizoglu G, Ertürk S, Duman N, Kutlay S. Is Sclerostin Level Associated with Cardiovascular Diseases in Hemodialysis Patients? Blood Purif. 2018;46(2):118–25.
247. Klingenschmid G, Tschiederer L, Himmler G, Rungger G, Brugger S, Santer P, et al. Associations of Serum Dickkopf-1 and Sclerostin With Cardiovascular Events: Results From the Prospective Bruneck Study. J Am Heart Assoc. 2020 Mar 17;9(6):e014816.
248. Golledge J, Thanigaimani S. Role of Sclerostin in Cardiovascular Disease. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2022 Jul;42(7):e187–202.
249. Gaudio A, Fiore V, Rapisarda R, Sidoti MH, Xourafa A, Catalano A, et al. Sclerostin is a possible candidate marker of arterial stiffness: Results from a cohort study in Catania. Molecular Medicine Reports. 2017 May;15(5):3420–4.
250. Hampson G, Edwards S, Conroy S, Blake GM, Fogelman I, Frost ML. The relationship between inhibitors of the Wnt signalling pathway (Dickkopf-1(DKK1) and sclerostin), bone mineral density, vascular calcification and arterial stiffness in post-menopausal women. Bone. 2013 Sep;56(1):42–7.
251. Morales-Santana S, Garcia-Fontana B, Garcia-Martin A, Rozas-Moreno P, Garcia-Salcedo JA, Reyes-Garcia R, et al. Atherosclerotic Disease in Type 2 Diabetes Is Associated With an Increase in Sclerostin Levels. Diabetes Care. 2013 Jun 1;36(6):1667–74.
252. Kuipers AL, Miljkovic I, Carr JJ, Terry JG, Nestlerode CS, Ge Y, et al. Association of Circulating Sclerostin with Vascular Calcification in Afro-Caribbean Men. Atherosclerosis. 2015 Mar;239(1):218–23.
253. Shalash MAM, Rohoma KH, Kandil NS, Abdel Mohsen MA, Taha AAF. Serum sclerostin level and its relation to subclinical atherosclerosis in subjects with type 2 diabetes. Journal of Diabetes and its Complications. 2019 Aug;33(8):592–7.

254. Stavrinou E, Sarafidis PA, Koumaras C, Loutradis C, Giamalis P, Tziomalos K, et al. Increased Sclerostin, but Not Dickkopf-1 Protein, Is Associated with Elevated Pulse Wave Velocity in Hemodialysis Subjects. *Kidney Blood Press Res.* 2019;44(4):679–89.
255. Frerix M, Stegbauer J, Kreuter A, Weiner S. Atherosclerotic plaques occur in absence of intima-media thickening in both systemic sclerosis and systemic lupus erythematosus: a duplexsonography study of carotid and femoral arteries and follow-up for cardiovascular events. *Arthritis Res Ther.* 2014;16(1):R54.
256. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997 Sep;40(9):1725.
257. Li R, Cai J, Tegeler C, Sorlie P, Metcalf PA, Heiss G. Reproducibility of extracranial carotid atherosclerotic lesions assessed by B-mode ultrasound: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Ultrasound Med Biol.* 1996;22(7):791–9.
258. Li R, Duncan BB, Metcalf PA, Crouse JR, Sharrett AR, Tyroler HA, et al. B-mode-detected carotid artery plaque in a general population. Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. *Stroke.* 1994 Dec;25(12):2377–83.
259. Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, Carballo D, Koskinas KC, Bäck M, et al. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *European Heart Journal.* 2021 Sep 7;42(34):3227–337.

**CAPÍTULO IX:  
ANEXOS**

## 1. Hoja de información al paciente y consentimiento informado

*(Documento redactado en base a la Ley Orgánica de Protección de datos de carácter personal 15/1999, BOE de 14 de diciembre de 1999).*

*Para formar parte de este estudio, es importante que lea esta hoja en la que se le proporciona la información y en la que se solicita su participación.*

### CONSENTIMIENTO INFORMADO – INFORMACIÓN AL PACIENTE

Antes de proceder a la firma de este consentimiento informado, lea atentamente la información que a continuación se le facilita y realice las preguntas que considere oportunas.

**Naturaleza:** El proyecto titulado “Esclerostina como biomarcador sérico de aterosclerosis subclínica en pacientes con lupus eritematoso sistémico” pretende ver si los niveles elevados de la proteína denominada “esclerostina” que está en su sangre, se relaciona con la presencia de aterosclerosis. La aterosclerosis se asocia con un mayor riesgo de padecer enfermedades del corazón como infartos y angina, ictus y otras enfermedades de las arterias.

Si decide participar se realizarán las siguientes pruebas: a) determinación de la altura, peso y medida de la cintura, b) medida de la tensión arterial, c) se le preguntará acerca de su enfermedad lúpica d) medida de la velocidad de la onda de pulso mediante la colocación de un manguito en el brazo, e) ecografía de la arteria carótida localizada en el cuello para ver si tiene placas de ateroma o la pared de la arteria está engrosada, Finalmente se le extraerá una muestra de sangre para determinar los parámetros que habitualmente se le solicitan antes de cada visita en la consulta y para medir la esclerostina (dos tubos de unos 2 cc). Estas muestras de sangre serán destruidas después de ser analizadas.

#### **Importancia:**

Si se demuestra nuestra hipótesis, la determinación de la esclerostina podría servir en un futuro para identificar qué pacientes con lupus, como usted, tienen más aterosclerosis y por lo tanto, más riesgo de presentar enfermedades cardiovasculares

#### **Implicaciones para el donante/paciente:**

- La donación/participación es totalmente voluntaria.
- El donante/paciente puede retirarse del estudio cuando así lo manifieste, sin dar explicaciones y sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.
- Todos los datos carácter personal, obtenidos en este estudio son confidenciales y se tratarán conforme a la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales.
- La donación/información obtenida se utilizará exclusivamente para los fines específicos de este estudio.

#### **Riesgos de la investigación para el donante/paciente:**

No existe ningún riesgo salvo el derivado de la extracción de la muestra de sangre

Si requiere información adicional se puede poner en contacto con nuestro personal de la Unidad de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas. Servicio de Medicina Interna (Hospital Universitario Virgen de las Nieves) en el teléfono: 958 020624 o en el correo electrónico: jomasabio@gmail.com

CONSENTIMIENTO INFORMADO – CONSENTIMIENTO POR ESCRITO DEL PACIENTE

**ESCLEROSTINA COMO BIOMARCADOR SÉRICO DE ATEROSCLEROSIS SUB-CLÍNICA EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO**

Yo(Nombre y Apellidos):.....

- He leído el documento informativo que acompaña a este consentimiento (Información al Paciente)
- He podido hacer preguntas sobre el estudio < *Esclerostina como biomarcador sérico de ateromatosis subclínica en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico* >
- He recibido suficiente información sobre el estudio < *Esclerostina como biomarcador sérico de ateromatosis subclínica en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico* > He hablado con el profesional sanitario informador: .....
- Comprendo que mi participación es voluntaria y soy libre de participar o no en el estudio.
- Se me ha informado que todos los datos obtenidos en este estudio serán confidenciales y se tratarán conforme establece la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales.
- Se me ha informado de que la donación/información obtenida sólo se utilizará para los fines específicos del estudio.
- **Deseo** ser informado/a de mis datos genéticos y otros de carácter personal que se obtengan en el curso de la investigación, incluidos los descubrimientos inesperados que se puedan producir, siempre que esta información sea necesaria para evitar un grave perjuicio para mi salud o la de mis familiares biológicos.

Si No

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera
- Sin tener que dar explicaciones
- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el *proyecto titulado < Esclerostina como biomarcador sérico de ateromatosis subclínica en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico >*

Firma del paciente  
(o representante legal en su caso)

Firma del profesional  
sanitario informador

Nombre y apellidos:.....  
Fecha: .....

Nombre y apellidos: .....  
Fecha: .....



# **Esclerostina como biomarcador de aterosclerosis subclínica en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico**

## **CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS**

**PACIENTES**

**FECHA INCLUSIÓN:**     /     / 2020

**NOMBRE PACIENTE:**

**CÓDIGO PACIENTE:**

## 1. DATOS DEMOGRÁFICOS

- Año de nacimiento:
- Raza:  Blanca  Negra  Latinoamericana  Asiática  Etnia gitana
- Nivel educacional:  
 Sin estudios (1)  EGB/FP  Estudios superiores

(1): No saber leer y/o escribir

## 2. DATOS ANTROPOMÉTRICOS

Peso (vestido -2 kg)	Presión arterial sistólica**
Altura (cm) (descalzo)	Presión arterial diastólica**
Cintura (cm)*	Frecuencia cardiaca**

\* Cintura: perímetro espinas ilíacas

\*\* Se registra la segunda determinación

## 3. ENFERMEDADES CONCOMITANTES

- Síndrome antifosfolípido SI  NO
- Diabetes mellitus tipo 2 (1) SI  NO
- Hipercolesterolemia (2) SI  NO
- Hipertensión arterial (3) SI  NO
- Hipotiroidismo SI  NO
- Fumador (4) SI  NO
- N° de bebidas por semana (5): Cerveza: Vino: Copas:
- Sedentarismo (6) SI  NO
- Menopausia (7) SI  NO

(1) Glucemia en ayunas >126 mg/dl y/p tratamiento antidiabético

(2) CT ≥ 200 mg/dl ó LDLc ≥ 115 mg/dl ó Triglicéridos >150 mg/dl ó HDLc: Hombres < 40 mg/dl. Mujeres: < 46 mg/dl ó recibir estatinas y/o fibratos y/o ácido nicotínico y/o omega 3

(3) PAS ≥140 mmHg y/o PAD ≥90 mmHg y/o recibir anti-HTA salvo por proteinuria o Raynaud

(4) No fumador: nunca fumador o ex-fumador desde hace 6 meses. Fumador: lo contrario

(5) N° de bebidas en UBE/semana.

(6) No sedentarismo: ≥ 3 horas semanales de actividad física moderada o intensa (correr, montar en bicicleta, practicar algún deporte, ir a un gimnasio, etc) ó Andar rápido durante al menos 1 hora y al menos 5 días por semana. Sedentarismo: lo contrario

(7) Ausencia de menstruación por cualquier motivo

#### 4. ANTECEDENTES Y CARACTERÍSTICAS DEL LES

- Año del diagnóstico del LES
- Órganos / Sistemas afectados (datos acumulados en el momento de la inclusión)
  - Cutáneo-mucoso (1) NO  SI
  - Fotosensibilidad NO  SI
  - Músculo-esquelético (2) NO  SI
  - Hematológico NO  SI 
    - Leucopenia NO  SI
    - Anemia hemolítica NO  SI
    - Plaquetopenia NO  SI
  - Serositis NO  SI 
    - Pleuritis NO  SI
    - Pericarditis NO  SI
  - Neurológico(3) NO  SI
  - Renal (4) NO  SI  (En caso afirmativo)
    - Biopsia realizada NO  SI
    - Tipo de GN:  I  II  III  IV  V
    - Trasplantado NO  SI

- (1) Erupción de cualquier tipo relacionado con el LES, eritema malar, lupus discoide crónico, lupus cutáneo subagudo o aftas orales
- (2) Artralgias, artritis o miositis
- (3) Cualquier afectación neurológica del SNC o periférico atribuida al LES, incluyendo psicosis.
- (4) Nefritis lúpica diagnosticada por biopsia, proteinuria persistente >0.5 g/24h o sedimento patológico persistente.

## 5. ÍNDICE DE ACTIVIDAD SELENA-SLEDAI

Puntúa en la escala SELENA-SLEDAI si el descriptor está presente en el día de la visita o 10 días antes.

PUNTOS	MARCAR (X) SI PRESENTE	DESCRIPTOR	DEFINICIÓN
8		Convulsiones	De comienzo reciente. Excluir causas infecciosas, metabólicas y fármacos o convulsiones por daño irreversible en SNC en el pasado
8		Psicosis	Habilidad alterada para la actividad diaria debido a la alteración grave en la percepción de la realidad. Incluye alucinaciones, incoherencia, asociaciones ilógicas, contenido mental escaso, pensamiento ilógico, raro, desorganizado, y comportamiento catatónico. <i>Excluir encefalopatía urémica y fármacos.</i>
8		Síndrome orgánico cerebral	Función mental alterada con falta de orientación, memoria u otras funciones intelectuales, de comienzo rápido y manifestaciones clínicas fluctuantes. Incluye disminución del nivel de conciencia con capacidad reducida para mantener la focalizar o atención, más al menos 2 de los siguientes: alteración de la percepción, Lenguaje incoherente, insomnio o mareo matutino, o actividad psicomotora aumentada o disminuida. <i>Excluir causas infecciosas, metabólicas y fármacos.</i>
8		Alteraciones visuales	Retinopatía lúpica. Incluye cuerpos citoides, hemorragias retinianas, exudados serosos, y hemorragias en la coroides, o neuritis óptica, escleritis o epiescleritis. <i>Excluir HTA, infección o fármacos.</i>
8		Alteraciones pares craneales	De reciente comienzo, motor o sensitivo. Incluye vértigo debido a LES.
8		Cefalea lúpica	Grave, persistente: puede ser migrañosa pero no responde a analgésicos narcóticos
8		ACV	De reciente comienzo. <i>Excluir arteriosclerosis e HTA</i>
8		Vasculitis	Ulceración, gangrena, nódulos cutáneos dolorosos, infartos periungueales, hemorragias en astillas, o biopsia o angiografía que confirme la vasculitis.
4		Artritis	Más de dos articulaciones dolorosas e inflamadas
4		Miositis	Debilidad proximal y/o dolor asociado a elevación de CPK y/o aldolasa o EMG sugerente o biopsia compatible con miositis

4		Cilindros urinarios	Cilindros hemáticos o granulosos
4		Hematuria	>5 hematias por campo. <i>Excluir litiasis, infección u otras causas</i>
4		Proteinuria	>5 g/24 h. De reciente comienzo o aumento de la proteinuria ya conocida en más de 0.5 g/24 h.
4		Piuria	>5 leucocitos/c. <i>Excluir infección</i>
2		Exantema nuevo	Comienzo reciente o recurrente. Exantema inflamatorio
2		Alopecia	De comienzo reciente o recurrente, difuso o en placas, por LES activo
2		Úlceras mucosas	De comienzo reciente o recurrente, orales o nasales
2		Pleuritis	Dolor pleurítico con roce o derrame, o engrosamiento pleural
2		Pericarditis	Dolor pericárdico con alguno de los siguientes: roce, derrame, cambios en ECG o confirmación ecocardiográfica
2		Disminución del complemento	Descenso de CH50 y/o C3 y/o C4 por debajo del límite inferior del laboratorio
2		Aumento de Ac anti-DNA	>25% determinación anterior o por encima del valor del laboratorio
1		Fiebre	>38°C. <i>Excluir infección</i>
1		Trombopenia	<100.000 plaquetas/mm <sup>3</sup>
1		Leucopenia	<3.000 / mm <sup>3</sup>

**Puntuación total del índice SELENA-SLEDAI:.....**

(Por favor, marcad con una cruz en cada ítem que corresponda)

## 6. ÍNDICE DE DAÑO ACUMULADO (SLICC)

Cada lesión debe ser evaluada si el daño está presente al menos durante 6 meses. Por definición el daño debe ser irreversible, no relacionado con la actividad del LES

Item	PUNTUACIÓN
<b>Ocular</b> (ambos ojos, por evaluación clínica)	
Catarata	<input type="checkbox"/> 1
Cambios en la retina o atrofia óptica	<input type="checkbox"/> 1
<b>Neuropsiquiátrico</b>	
Afectación cognitiva (déficit de memoria, dificultad en el cálculo, dificultad para la concentración, dificultad con el lenguaje escrito o hablado, deterioro en el nivel de adaptación) o psicosis mayor.	<input type="checkbox"/> 1
Convulsiones	<input type="checkbox"/> 1
ACV (puntuar 2 si más de uno) - no tienen.	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Neuropatía craneal o periférica	<input type="checkbox"/> 1
Mielitis transversa	<input type="checkbox"/> 1
<b>Renal</b>	
Filtrado glomerular medido o calculado < 50%	<input type="checkbox"/> 1
Proteinuria > 3,5 g/24 h	<input type="checkbox"/> 1
Enfermedad renal terminal (independientemente de diálisis o trasplante)	<input type="checkbox"/> 3
<b>Pulmonar</b>	
Hipertensión pulmonar	<input type="checkbox"/> 1
Fibrosis pulmonar	<input type="checkbox"/> 1
Pulmón encogido (Rx tórax)	<input type="checkbox"/> 1
Fibrosis pleural (Rx tórax)	<input type="checkbox"/> 1
Infarto pulmonar (Rx tórax)	<input type="checkbox"/> 1
<b>Cardiovascular</b>	
Angina o bypass coronarios — No tienen	<input type="checkbox"/> 1
Infarto de miocardio (puntuar 2 si más de uno) — No tienen	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Miocardiopatía (disfunción ventricular)	<input type="checkbox"/> 1
Enfermedad valvular (soplo diastólico o sistólico >3/6)	<input type="checkbox"/> 1
Pericarditis durante ≥6 meses o pericardiectomía	<input type="checkbox"/> 1
<b>Sistema vascular periférico</b>	
Claudicación durante ≥6 meses — No tienen	<input type="checkbox"/> 1

Ulceración con pérdida de partes blandas	<input type="checkbox"/> 1
Pérdida de tejido significativa y permanente (por ej., pérdida de dedos o miembros (puntuar 2 si más de una localización)	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Trombosis venosa con tumefacción, ulceración o estasis venoso	<input type="checkbox"/> 1
<b>Gastrointestinal</b>	
Infarto o resección intestinal por debajo de duodeno, bazo, hígado o vesícula biliar por cualquier causa (puntuar 2 si más de una localización)	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Insuficiencia mesentérica	<input type="checkbox"/> 1
Peritonitis crónica	<input type="checkbox"/> 1
Estenosis o cirugía del tracto gastrointestinal superior	<input type="checkbox"/> 1
<b>Músculoesquelético</b>	
Atrofia muscular o debilidad	<input type="checkbox"/> 1
Artritis erosiva o deformante (incluyendo deformidades reductibles y excluyendo necrosis avascular)	<input type="checkbox"/> 1
Osteoporosis con fractura o aplastamiento vertebral (excluyendo necrosis avascular)	<input type="checkbox"/> 1
Necrosis avascular (puntuar 2 si más de una)	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Osteomielitis	<input type="checkbox"/> 1
<b>Cutáneo</b>	
Alopecia crónica cicatricial	<input type="checkbox"/> 1
Cicatrices extensas excepto en cuero cabelludo o partes blandas	<input type="checkbox"/> 1
Úlceras cutáneas ( excluyendo tumores) durante >6 meses	<input type="checkbox"/> 1
<b>Fallo gonadal prematuro</b>	<input type="checkbox"/> 1
<b>Diabetes</b> (indistintamente del tratamiento)	<input type="checkbox"/> 1
<b>Malignidad</b> (excluyendo displasia) (puntuar 2 si más de una localización)	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2

**Puntuación total del índice SLICC:**

## 7. TRATAMIENTO

### A) Para la actividad del LES

- \*Prednisona o equivalente (1) (mg/día):
- Dosis acumulada de prednisona (o equivalente) en el último año (g) (2):
- Hidroxicloroquina (3): SI  NO
- Azatioprina: SI  NO  (en momento de inclusión)
- Metotrexato: SI  NO  (en momento de inclusión)
- Micofenolato mofetilo o sódico SI  NO  (en momento de inclusión)
- Ciclofosfamida SI  NO  (en momento de inclusión)
- Uso AINES  $\geq 3$  días por semana (5): SI  NO  (en momento de inclusión)
- Biológicos (especificar): SI  NO  (inclusión) SI  NO  (algún momento)

\* Dosis en el momento de la inclusión

(1): Equivalencias: Prednisona 5 mg = Deflazacort 6 mg = Metilprednisolona 3 mg

(2): Dosis acumulada de prednisona = dosis diaria x 30 días x 12 meses (1 decimal)

(3): Estar tomando HCQ en el momento de la inclusión

(4) No contemplar paracetamol ni metamizol pero sí AAS

### B) Para la dislipemia (en el momento de la inclusión) (se puede marcar más de uno)

- Estatinas SI  NO
- Fibratos SI  NO
- Ácido nicotínico SI  NO
- Ácido omega 3 SI  NO

### C) Para la diabetes mellitas (en momento de la inclusión) (se puede marcar más de uno)

- Antidiabéticos orales SI  NO
- Insulina SI  NO

### D) Para la hipertensión arterial (excluir uso de antihipertensivos empleados SOLO para control de la proteinuria y del fenómeno de Raynaud). Se puede marcar más de uno.

- IECAS SI  NO
- ARA II SI  NO
- Antagonistas del calcio SI  NO
- Betabloqueantes SI  NO
- Diuréticos SI  NO
- Otros (especificar): SI  NO

### E) Para osteoporosis/osteopenia

- Vitamina D + Ca SI  NO
- Bifosfonato SI  NO
- Otros (especificar):.....

## 8. DATOS ANALÍTICOS

<b>HEMATOLOGÍA</b>	
Leucocitos (cel/mm <sup>3</sup> )	Hemoglobina (mg/dl)
Neutrófilos (cel/mm <sup>3</sup> )	Plaquetas (cel/mm <sup>3</sup> )
Linfocitos (cel/mm <sup>3</sup> )	
<b>BIOQUÍMICA</b>	
Glucosa (mg/dl)	Albúmina (g/dl)
Urea (mg/dl)	Ferritina (ng/ml)
Creatinina (mg/dl)	MDRD-7 (1)
Colesterol total (mg/dl)	Insulina (mU/L)
LDL colesterol (mg/dl)	Índice HOMA (2)
HDL colesterol (mg/dl)	Calcio corregido (unidades) (3)
Triglicéridos (mg/dl)	25 (OH) Vitamina D (ng/ml)
Homocisteína (µmol/L)	Paratohormona (PTH) (unidades)
Ácido úrico (mg/dl)	Troponina HS (unidades)
<b>ORINA</b>	
Proteinuria/24 h (g/24h)	

<b>INFLAMACIÓN</b>	
VSG 1º h	PCR ultrasensible (mg/l)

<b>AUTOINMUNIDAD</b>	
C3 (mg/dl)	C4 (mg/dl)
Anti-DNAn <input type="checkbox"/> Positivo <input type="checkbox"/> Negativo    (1)	
Acs. ANTIFOSFOLÍPIDO (AAF) (2)	Positivo <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/>
Anticoag. lúpico (+)    SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>	Anticardiolipina (+)    SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>

(1) Según rango de cada hospital. Es positivo si lo es en el momento de la inclusión

(2) Los AAF son positivos si el anticoagulante lúpico y/o Acs anticardiolipina son positivos a títulos medios/altos ( $\geq 40$ ) en 2 ocasiones. Es válida una determinación positiva en los 24 meses previos.

## 9. CARACTERIZACIÓN DEL SD. METABÓLICO

- Sd. Metabólico                      SI                       NO
- N° de criterios de SM que cumple (rango 0-5)
- Criterios de SM que cumple (marcar 3, 4 o 5 criterios)
  - HTA
  - Cintura
  - HDL bajo
  - TG altos
  - Glucosa alta

Presentar 3 o más de los siguientes criterios:

	Mujeres	Hombres
Cintura <sup>§</sup>	≥ 88 cm	≥ 102 cm
Glucemia	≥ 100 mg/dl o en tratamiento <sup>&amp;</sup>	≥ 100 mg/dl o en tratamiento <sup>&amp;</sup>
Triglicéridos	≥ 150 mg/dl o en tratamiento <sup>¶</sup>	≥ 150 mg/dl o en tratamiento <sup>¶</sup>
HDL colesterol	< 50 mg/dl	<40 mg/dl
Presión arterial	≥ 130 o ≥ 85 mmHg o en tratamiento antihipertensivo <sup>£</sup> .	≥ 130 o ≥ 85 mmHg o en tratamiento antihipertensivo <sup>£</sup> .

## 10. RIESGO ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

FRAMINGHAM:

REGICOR:

SCORE (a 10 años):

## **PRUEBAS A REALIZAR EN EL ESTUDIO**

### 1. VALORES DE ESCLEROSTINA (1):

(1) Reflejar unidades y valores de referencia.

### 2. ECOGRAFÍA CAROTÍDEA:

- Presencia de placa carotídea (1):            SI     NO
- Localización:
- Grosor de íntima media (2):

(1) Placa carotídea grosor > 1.2mm.

(2) Patológica > 0.9mm.

### 3. VELOCIDAD DE ONDA DE PULSO (1):

- Valor obtenido (m/s):
- Valores de referencia (intervalo en m/s):

### 4. ÍNDICE TOBILLO-BRAZO:

- Miembro inferior derecho:
- Miembro inferior izquierdo:



**Esclerostina como biomarcador de aterosclerosis subclínica en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico**

**CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS**

**CONTROLES**

**FECHA INCLUSIÓN:**     /     /

**NOMBRE PACIENTE:**

**CÓDIGO PACIENTE:** SC\_\_\_\_\_

## 1. DATOS DEMOGRÁFICOS

- Año de nacimiento:
- Raza:  Blanca  Negra  Latinoamericana  Asiática  Etnia gitana
- Nivel educacional:  
 Sin estudios (1)  EGB/FP  Estudios superiores

(1): No saber leer y/o escribir

## 2. DATOS ANTROPOMÉTRICOS

Peso (vestido -2 kg)	Presión arterial sistólica**
Altura (cm) (descalzo)	Presión arterial diastólica**
Cintura (cm)*	Frecuencia cardiaca**

\* Cintura: perímetro espinas ilíacas

\*\* Se registra la segunda determinación

## 3. ENFERMEDADES CONCOMITANTES

- Síndrome antifosfolípido SI  NO
- Diabetes mellitus tipo 2 (1) SI  NO
- Hipercolesterolemia (2) SI  NO
- Hipertensión arterial (3) SI  NO
- Hipotiroidismo SI  NO
- Fumador (4) SI  NO
- N° de bebidas por semana (5): Cerveza: Vino: Copas:
- Sedentarismo (6) SI  NO
- Menopausia (7) SI  NO

(1) Glucemia en ayunas >126 mg/dl y/p tratamiento antidiabético

(2) CT ≥ 200 mg/dl ó LDLc ≥ 115 mg/dl ó Triglicéridos >150 mg/dl ó HDLc: Hombres < 40 mg/dl. Mujeres: < 46 mg/dl ó recibir estatinas y/o fibratos y/o ácido nicotínico y/o omega 3

(3) PAS ≥140 mmHg y/o PAD ≥90 mmHg y/o recibir anti-HTA salvo por proteinuria o Raynaud

(4) No fumador: nunca fumador o ex-fumador desde hace 6 meses. Fumador: lo contrario

(5) N° de bebidas en UBE/semana.

(6) No sedentarismo: ≥ 3 horas semanales de actividad física moderada o intensa (correr, montar en bicicleta, practicar algún deporte, ir a un gimnasio, etc) ó Andar rápido durante al menos 1 hora y al menos 5 días por semana. Sedentarismo: lo contrario

(7) Ausencia de menstruación por cualquier motivo

#### 4. TRATAMIENTO

**A) Para la dislipemia** (en el momento de la inclusión) (se puede marcar más de uno)

- Estatinas SI  NO
- Fibratos SI  NO
- Ácido nicotínico SI  NO
- Ácido omega 3 SI  NO

**B) Para la diabetes mellitas** (en el momento de la inclusión) (se puede marcar más de uno)

- Antidiabéticos orales SI  NO
- Insulina SI  NO

**C) Para la hipertensión arterial** (excluir uso de antihipertensivos empleados SOLO para control de la proteinuria y del fenómeno de Raynaud). Se puede marcar más de uno.

- IECAS SI  NO
- ARA II SI  NO
- Antagonistas del calcio SI  NO
- Betabloqueantes SI  NO
- Diuréticos SI  NO
- Otros (especificar): SI  NO

**D) Para osteoporosis/osteopenia**

- Vitamina D + Ca SI  NO
- Bifosfonato SI  NO
- Otros (especificar):.....

## 8. DATOS ANALÍTICOS

<b>HEMATOLOGÍA</b>	
Leucocitos (cel/mm <sup>3</sup> )	Hemoglobina (mg/dl)
Neutrófilos (cel/mm <sup>3</sup> )	Plaquetas (cel/mm <sup>3</sup> )
Linfocitos (cel/mm <sup>3</sup> )	
<b>BIOQUÍMICA</b>	
Glucosa (mg/dl)	Albúmina (g/dl)
Urea (mg/dl)	Ferritina (ng/ml)
Creatinina (mg/dl)	MDRD-7 (1)
Colesterol total (mg/dl)	Insulina (mU/L)
LDL colesterol (mg/dl)	Índice HOMA (2)
HDL colesterol (mg/dl)	Calcio corregido (unidades) (3)
Triglicéridos (mg/dl)	25 (OH) Vitamina D (ng/ml)
Homocisteína (μmol/L)	Paratohormona (PTH) (unidades)
Ácido úrico (mg/dl)	Troponina HS (unidades)
<b>ORINA</b>	
Proteinuria/24 h (g/24h)	

<b>INFLAMACIÓN</b>	
VSG 1° h	PCR ultrasensible (mg/l)

## 9. CARACTERIZACIÓN DEL SD. METABÓLICO

- Sd. Metabólico                      SI                       NO
- N° de criterios de SM que cumple (rango 0-5)
- Criterios de SM que cumple (marcar 3, 4 o 5 criterios)
  - HTA
  - Cintura
  - HDL bajo
  - TG altos
  - Glucosa alta

Presentar 3 o más de los siguientes criterios:

	Mujeres	Hombres
Cintura <sup>§</sup>	≥ 88 cm	≥ 102 cm
Glucemia	≥ 100 mg/dl o en tratamiento <sup>&amp;</sup>	≥ 100 mg/dl o en tratamiento <sup>&amp;</sup>
Triglicéridos	≥ 150 mg/dl o en tratamiento <sup>¶</sup>	≥ 150 mg/dl o en tratamiento <sup>¶</sup>
HDL colesterol	< 50 mg/dl	<40 mg/dl
Presión arterial	≥ 130 o ≥ 85 mmHg o en tratamiento antihipertensivo <sup>£</sup> .	≥ 130 o ≥ 85 mmHg o en tratamiento antihipertensivo <sup>£</sup> .

## 10. RIESGO ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

FRAMINGHAM:

REGICOR:

SCORE (a 10 años):

## **PRUEBAS A REALIZAR EN EL ESTUDIO**

### 1. VALORES DE ESCLEROSTINA (1):

(1) Reflejar unidades y valores de referencia.

### 2. ECOGRAFÍA CAROTÍDEA:

- Presencia de placa carotídea (1):            SI     NO
- Localización:
- Grosor de íntima media (2):

(1) Placa carotídea > 1.2mm.

(2) GIM patológico > 0.9mm.

### 3. VELOCIDAD DE ONDA DE PULSO (1):

- Valor obtenido (m/s):
- Valores de referencia (intervalo en m/s):

### 4. ÍNDICE TOBILLO-BRAZO:

- Miembro inferior derecho:
- Miembro inferior izquierdo:

#### 4. Aprobación del estudio por el Comité Ético de la Junta de Andalucía

### DICTAMEN ÚNICO EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE ANDALUCÍA

D/D<sup>a</sup>: CRISTINA LUCIA DAVILA FAJARDO como secretario/a del CEIM/CEI Provincial de Granada

#### CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del promotor/investigador (No hay promotor/a asociado/a) para realizar el estudio de investigación titulado:

TÍTULO DEL ESTUDIO: Esclerostina como biomarcador serico de aterosclerosis subclinica en pacientes con Lupus Eritematoso Sistemico. ,( ESCLEROSTINA-LES)  
Protocolo, Versión: 1  
HIP, Versión: 1  
CI, Versión: 1

Y que considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y se ajusta a los principios éticos aplicables a este tipo de estudios.

La capacidad del/de la investigador/a y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Están justificados los riesgos y molestias previsibles para los participantes.

Que los aspectos económicos involucrados en el proyecto, no interfieren con respecto a los postulados éticos.

Y que este Comité considera, que dicho estudio puede ser realizado en los Centros de la Comunidad Autónoma de Andalucía que se relacionan, para lo cual corresponde a la Dirección del Centro correspondiente determinar si la capacidad y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Lo que firmo en Granada a 23/10/2019

D/D<sup>a</sup>: CRISTINA LUCIA DAVILA FAJARDO, como Secretario/a del CEIM/CEI Provincial de Granada



<b>Código Seguro De Verificación:</b>	1ec707c2e631118e6a5bc3cble64726137e80d0f	<b>Fecha</b>	23/10/2019	
<b>Normativa</b>	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.			
<b>Firmado Por</b>	Cristina Lucia Davila Fajardo			
<b>Url De Verificación</b>	<a href="https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/xhtml/ayuda/verificarFirmaDocumento.iface/code/1ec707c2e631118e6a5bc3cble64726137e80d0f">https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/xhtml/ayuda/verificarFirmaDocumento.iface/code/1ec707c2e631118e6a5bc3cble64726137e80d0f</a>	<b>Página</b>	1/3	

## CERTIFICA

Que este Comité ha ponderado y evaluado en sesión celebrada el 30/09/2019 y recogida en acta 9/19 la propuesta del/de la Promotor/a (No hay promotor/a asociado/a), para realizar el estudio de investigación titulado:

TÍTULO DEL ESTUDIO: Esclerostina como biomarcador serico de aterosclerosis subclinica en pacientes con Lupus Eritematoso Sistemico. ,( ESCLEROSTINA-LES)  
Protocolo, Versión: 1  
HIP, Versión: 1  
CI, Versión: 1

Que a dicha sesión asistieron los siguientes integrantes del Comité:

### Presidente/a

D/Dª.

### Vicepresidente/a

D/Dª. Francisco Manuel Luque Martínez

### Secretario/a

D/Dª. CRISTINA LUCIA DAVILA FAJARDO

### Vocales

D/Dª. Encarnación Martínez García  
D/Dª. Jesús Martínez Tapias  
D/Dª. Juan Ramón Delgado Pérez  
D/Dª. Berta Gorlat Sánchez  
D/Dª. José Darío Sánchez López  
D/Dª. José Cabeza Barrera  
D/Dª. Juan Mozas Moreno  
D/Dª. José Uberos Fernández  
D/Dª. MARIA ESPERANZA DEL POZO GAVILAN  
D/Dª. José Antonio López Escámez  
D/Dª. MAXIMILIANO OCETE ESPINOLA  
D/Dª. Joaquina Martínez Galán  
D/Dª. AURORA BUENO CAVANILLAS  
D/Dª. Paloma Muñoz de Rueda  
D/Dª. Manuel Gálvez Ibáñez  
D/Dª. Esther Espinola García  
D/Dª. ANTONIO MORALES ROMERO  
D/Dª. FRANCISCO LUIS MANZANO MANZANO  
D/Dª. MIGUEL LÓPEZ GUADALUPE  
D/Dª. JUAN ROMERO COTELO  
D/Dª. JOSÉ LUIS MARTÍN RODRÍGUEZ  
D/Dª. JUAN DIAZ GARCIA  
D/Dª. LUIS MIGUEL DOMENECH GIL  
D/Dª. Luis Javier Martínez González  
D/Dª. JESÚS CARDONA CONTRERAS  
D/Dª. Pilar Guijosa Campos  
D/Dª. José Luis Martín Ruiz  
D/Dª. MANUEL MARTIN DIAZ  
D/Dª. Sonia Dominguez Almendros  
D/Dª. MARIANA FÁTIMA FERNÁNDEZ CABRERA



<b>Código Seguro De Verificación:</b>	1ec707c2e631118e6a5bc3cb1e64726137e80d0f	<b>Fecha</b>	23/10/2019	
<b>Normativa</b>	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.			
<b>Firmado Por</b>	Cristina Lucia Davila Fajardo			
<b>Url De Verificación</b>	<a href="https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/xhtml/ayuda/verificarfirmaDocumento.iface/code/1ec707c2e631118e6a5bc3cb1e64726137e80d0f">https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/xhtml/ayuda/verificarfirmaDocumento.iface/code/1ec707c2e631118e6a5bc3cb1e64726137e80d0f</a>	<b>Página</b>	2/3	

Que dicho Comité, está constituido y actúa de acuerdo con la normativa vigente y las directrices de la Conferencia Internacional de Buena Práctica Clínica.

Lo que firmo en Granada a 23/10/2019



<b>Código Seguro De Verificación:</b>	1ec707c2e631118e6a5bc3cbe64726137e80d0f	<b>Fecha</b>	23/10/2019	
<b>Normativa</b>	Este documento incorpora firma electrónica reconocida de acuerdo a la Ley 59/2003, de 19 de diciembre, de firma electrónica.			
<b>Firmado Por</b>	Cristina Lucia Davila Fajardo			
<b>Url De Verificación</b>	<a href="https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/xhtml/ayuda/verificarFirmaDocumento.iface/code/1ec707c2e631118e6a5bc3cbe64726137e80d0f">https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/xhtml/ayuda/verificarFirmaDocumento.iface/code/1ec707c2e631118e6a5bc3cbe64726137e80d0f</a>	<b>Página</b>	3/3	



**CAPÍTULO X:**  
**COPIA ÍNTEGRA DEL TRABAJO PUBLICADO**  
*(Revista Scientific Reports. JCR IF 4.996, percentil 75 [2021])*



OPEN

# Sclerostin as a biomarker of cardiovascular risk in women with systemic lupus erythematosus

Carlos García-de los Ríos<sup>1</sup>, Marta Medina-Casado<sup>2</sup>, Antonio Díaz-Chamorro<sup>1</sup>, María Sierras-Jiménez<sup>3</sup>, Pablo Lardelli-Claret<sup>4,5,6</sup>, Rafael Cáliz-Cáliz<sup>7</sup> & José Mario Sabio<sup>8</sup>✉

Cardiovascular disease is one of the main causes of death in patients with systemic lupus erythematosus (SLE). On the other hand, sclerostin is a reliable and early biomarker of vascular calcification. This study aimed to estimate the association between sclerostin and two markers of cardiovascular risk, carotid atherosclerotic plaque (CP) and carotid-femoral pulse wave velocity (PWV), in women with SLE. The presence of CP (determined by carotid artery ultrasound) and PWV were measured in 68 women with SLE and preserved renal function. None of the participants had a history of cardiovascular disease. Serum levels of sclerostin were determined using the ELISA method. Other factors associated with increased cardiovascular risk were also measured. The association between sclerostin, CP and PWV was assessed using Receiver Operating Characteristic (ROC) curves and multivariate regression models. The area under the ROC curve was 0.785 (95% confidence interval [CI] 0.662–0.871) for CP and 0.834 (95% CI 0.729–0.916) for dichotomized PWV. After adjusting for other cardiovascular risk factors, it was found that a 10-units increase in sclerostin values was associated with a 44% increase in the odds of CP (95% CI 1–105), but no adjusted association was observed between sclerostin and PWV. Predictive models included age (for both outcomes), hypertension, Framingham risk score and C-reactive protein (for PWV), but not sclerostin. Sclerostin is associated with the presence of CP in women with SLE. Further research should confirm its possible role as a biomarker of cardiovascular risk in these patients.

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease that can damage any organ or system and usually affects women of childbearing age with a 9:1 female to male ratio<sup>1</sup>. There is evidence that cardiovascular disease (CVD), the leading cause of deaths in these patients<sup>2,3</sup>, is significantly increased in patients with SLE compared to the general population<sup>4</sup>. Despite the association between SLE and classical cardiovascular risk factors is well established<sup>5–7</sup>, the predictive value of the Framingham criteria and other conventional cardiovascular risk scores is low in these patients<sup>8</sup>. This can be explained by emerging cardiovascular risk factors specifically associated with SLE that seem to be crucial in the pathogenesis of atherosclerosis in autoimmune patients, and which are usually less frequent than classical cardiovascular risk factors (e.g., higher incidence in women, earlier age of presentation, or chronic inflammation)<sup>9</sup>. The growing knowledge on this topic has led to the proposal of mixed algorithms that combine traditional predictors with new serum biomarkers to predict CVD and identify subclinical atherosclerosis in selected cases<sup>10</sup>.

The presence of carotid atherosclerotic plaque (CP) determined by carotid artery ultrasound (CAU) has been extensively validated as a surrogate marker of subclinical CVD in the general population<sup>11,12</sup>. In addition, multiple studies have reported a higher prevalence of CP in SLE patients, as well as a more rapid progression compared to healthy controls<sup>13–15</sup>. On the other hand, the carotid-femoral pulse wave velocity (PWV) is increased from the onset of the atherosclerosis process<sup>16</sup>. Such increase, which is directly related to subclinical CVD<sup>14</sup>, can be non-invasively quantified using automated devices.

<sup>1</sup>Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, Spain. <sup>2</sup>Regional Blood Transfusional Center, Granada, Spain. <sup>3</sup>Emergency Department, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, Spain. <sup>4</sup>Department of Preventive Medicine and Public Health, University of Granada, Granada, Spain. <sup>5</sup>Centros de Investigación Biomédica en Red de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Barcelona, Spain. <sup>6</sup>Instituto de Investigación Biosanitaria Ibs.GRANADA, Granada, Spain. <sup>7</sup>Department of Rheumatology, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, Spain. <sup>8</sup>Systemic Autoimmune Diseases Unit, Department of Internal Medicine, 9th Floor, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Avda. Fuerzas Armadas, N° 2, 18014 Granada, Spain. ✉email: jomasabio@gmail.com

Sclerostin is a glycoprotein that inhibits the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway, preventing osteoblast differentiation, and represents the main antagonist of bone calcification<sup>17</sup>. It is secreted almost exclusively by osteocytes, although its production has also been observed in other cells such as osteoclast precursors, renal and vascular cells<sup>18</sup>. After discovering its important anti-calcifying role, as well as its existence and production in endothelial cells, the role of sclerostin in the process of vascular calcification has been extensively studied in recent years. It is currently considered as one of the possible factors that may be included in the paradoxical regulation of the bone-vascular axis, presumably acting as an antagonist of this process<sup>19</sup>, and having been correlated with both clinical and subclinical CVD<sup>20</sup>, although with some studies with contradictory results, probably because the high blood sclerostin concentrations in participants with CVD may be a response to the disease rather than a cause<sup>21</sup>. In certain autoimmune diseases, such as rheumatoid arthritis, a correlation between sclerostin and arterial calcification has been observed<sup>22</sup>. However, the possible role of sclerostin as a marker of cardiovascular risk in women with SLE has not been studied up to date. To address this hypothesis, we designed the present study with the aim of quantifying the association between serum levels of sclerostin and two of the main cardiovascular risk markers (CP and PWV) in women with SLE.

## Methods

We analyzed a case series consisting of all women diagnosed with SLE that were consecutively attended in the outpatient clinic of the Systemic Autoimmune Diseases Unit (Department of Internal Medicine) of the Hospital Universitario Virgen de las Nieves (Granada, southern Spain) between October 2019 and March 2020. This is a tertiary-level hospital that provides specialized health care to a population of 450,000 inhabitants. The following inclusion criteria were established: meeting diagnostic criteria for SLE defined by the European Alliance of Associations for Rheumatology (EULAR) and the American College of Rheumatology (ACR)<sup>23</sup>, follow-up in our clinic for at least the previous year, being aged between 18 and 60 years, having an estimated glomerular filtration rate (eGFR) higher than 75 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> at the time of inclusion, a body mass index (BMI) below 40 kg/m<sup>2</sup>, no previously diagnosed cardiovascular events, and providing written informed consent to participate in the study. All procedures performed in the study involving human participants were in accordance with the ethical standards of the local ethics committee and with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments or comparable ethical standards. The study was approved by the Bioethics Committee of the Junta de Andalucía, Spain (verification code 1ec707c2e631118e6a5bc3cb1e64726137e80d0f).

In total, 68 women met these criteria and made up the final study sample. To estimate the sample size needed to achieve our primary objective, an a priori prevalence of CP among SLE around 50% was assumed based on the study by Frerix et al.<sup>24</sup>. To detect sensitivity and specificity values of sclerostin (as a marker of CP) equal or higher than 90% with an accuracy of 10%, 71 women with SLE would be required. Unfortunately, the outbreak of the SARS-CoV-2 pandemic at the end of our study period restricted our ability to reach this sample size.

All eligible cases who provided informed consent were scheduled for a second fasting visit in the morning (between 8 and 9 AM) in order to fulfil a questionnaire aimed to obtain clinical and demographic information. After the clinical examination, blood and urine samples were collected. Finally, the patients were scheduled for a final visit within the next 10 days to perform CAU (with the General Electric's Logiq F6 ultrasound machine)<sup>25</sup> and measurement of PWV (with the Mobil-O-Graph<sup>®</sup> 24-h pulse wave analysis monitor, IEM GmbH, Stolberg, Germany)<sup>26</sup>. The following variables were also collected and recorded in a database: age, BMI, disease duration (in years), tobacco use, sedentary lifestyle, presence of metabolic syndrome (MetS), dyslipidemia and hypertension (HTN), eGFR, SLE Disease Activity Index (SLEDAI)<sup>27</sup>, and Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index (SDI) to measure accumulated organ damage<sup>28</sup>, presence of antiphospholipid antibodies (ELISA), serum levels of sclerostin (measured by the bioactive Sclerostin ELISA kit, BI-20472) and specific treatments for SLE (grams of prednisone taken in the past year and use of hydroxychloroquine). Blood pressure (BP) was measured in duplicate, 5 min apart, in the dominant arm with the patient seated and after at least 5 min of rest, using a validated automatic oscillometric device (HEM-7051T; Omron Health Care, Kyoto, Japan). The lowest value of the two measurements taken was considered for the study. BMI was calculated as the weight in kilograms divided by height in meters squared. Dyslipidemia was defined as a low-density lipoprotein cholesterol (LDLc) level above 130 mg/dL. The definitions of HTN, obesity, smoking, and sedentary lifestyle have been previously described elsewhere<sup>29</sup>. MetS was defined according to the criteria of the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III<sup>30</sup>. Finally, eGFR was calculated using the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD)-7 equation.

Carotid plaques were defined as any focal protrusion into the arterial lumen of thickness >0.5 mm or >50% of the surrounding intima-media thickness or a diffuse thickness >1.5 mm measured between the media-adventitia and intima-lumen interfaces<sup>12</sup>. PWV was expressed in meters per second.

**Data analysis.** First, differences in the distribution of sclerostin, PWV and the remaining study variables were evaluated according to CP status. The Receiver Operating Characteristic (ROC) curve of PWV values as a marker of CP was obtained to estimate the area under the curve (AUC) and the best cut-off point of the PWV values. The same procedure was applied to assess the relationship between sclerostin levels and both CP and PWV values (using the previously defined cut-off point). Finally, two regression models were adjusted to estimate the relationship between sclerostin and the two cardiovascular outcomes: a logistic model for CP and a linear model for PWV values. The former allowed the estimation of the Odds Ratio (OR) as a measure of association; and the latter provides the corresponding regression coefficient. Both models were applied in three steps: first, univariate models were constructed for each independent variable to estimate crude measures of association between the two outcomes variables; second, multivariate explanatory models were adjusted, including all study variables as independent terms in the models; finally, predictive models were adjusted using a stepwise

Variable	Total sample		Presence of CP				P value <sup>d</sup>
			Yes (n = 24)		No (n = 44)		
	Mean/n <sup>a</sup>	SD/% <sup>b</sup>	Mean/n <sup>a</sup>	SE/% <sup>c</sup>	Mean/n <sup>a</sup>	SE/% <sup>c</sup>	
PWV <sup>e</sup> (m/s)	6.4	1.2	7.4	0.21	5.9	0.15	<0.001
Sclerostin <sup>e</sup> (U/L)	69.1	10.2	96.6	9.3	54.1	5.0	<0.001
Age <sup>e</sup> (years)	43.8	11.0	52.2	1.2	39.3	1.6	<0.001
BMI <sup>e</sup> (kg/m <sup>2</sup> )	25.6	4.9	26.4	1.2	25.2	0.61	0.359
SLE duration (years)	15.5	8.3	19.4	1.4	13.3	1.2	0.003
Smoking (n, %)	16	23.5	6	25.0	10	22.7	0.833
Sedentary (n, %)	34	50.0	13	54.2	21	47.7	0.612
HTN (n, %)	29	42.7	14	58.3	15	34.1	0.053
LDL $\geq$ 130 (mg/dL) (n, %)	24	35.3	11	45.8	13	29.6	0.179
MetS (n, %)	12	17.7	7	29.2	5	11.4	0.066
SLEDAI-SELENA <sup>f</sup>	0	0–2	0	0–2	1	0–2	0.084 <sup>g</sup>
SDI = 1 (n, %)	13	19.1	2	8.3	11	25.0	0.240
SDI = 2 (n, %)	3	4.4	1	4.2	2	4.6	
APS (n, %)	6	8.8	3	12.5	3	6.8	0.430
Prednisone <sup>h</sup> (g)	0.86	1.3	0.68	0.25	0.96	0.20	0.400
HCQ use (n, %)	58	85.3	20	83.3	38	86.4	0.736
LN (n, %)	30	44.1	8	33.3	22	50.0	0.186
CPR (mg/dL)	3.31	6.5	5.2	1.9	2.3	0.7	0.083
C3 (mg/dL)	82.36	20.8	90.4	5.0	77.9	2.6	0.016
C4 (mg/dL)	14.6	6.0	16.0	1.5	13.9	0.7	0.176
Framingham <sup>f</sup>	1	1–4	4	2–6	1	0–1	<0.001 <sup>g</sup>

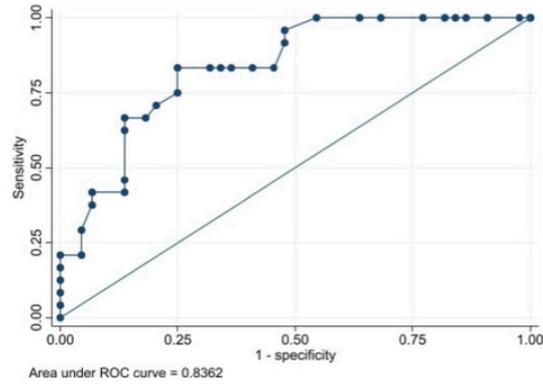
**Table 1.** Distribution of study variables in the whole sample and according to CP status. CP carotid plaque, SD standard deviation, SE standard error, PWV pulse wave velocity, BMI body mass index, HTN hypertension, LDL low density lipoprotein, MetS metabolic syndrome, SLEDAI-SELENA Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index, SDI Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index, APS antiphospholipid syndrome, HCQ hydroxychloroquine, LN lupus nephritis, CPR C-reactive protein. <sup>a</sup>Mean values (for continuous variables)/number of subjects (for categorical variables); <sup>b</sup>SD (for continuous variables)/%: percent of cases in the sample (for categorical variables); <sup>c</sup>SE (for continuous variables)/%: percent of cases in each category of CP (for categorical variables); <sup>d</sup>p values of Student's t test for independent samples (for continuous variables), p values of chi square test (for categorical variables); <sup>e</sup>Continuous variables; <sup>f</sup>Median and interquartile range is shown for these variables; <sup>g</sup>p value of Mann–Whitney U test; <sup>h</sup>Glucocorticoids accumulated during the last year.

forward procedure, according to which only the independent terms with p values below 0.05 were included in the model, while those with p values higher than 0.1 were excluded. All analyses were performed with the Stata statistical package (version 17)<sup>31</sup>.

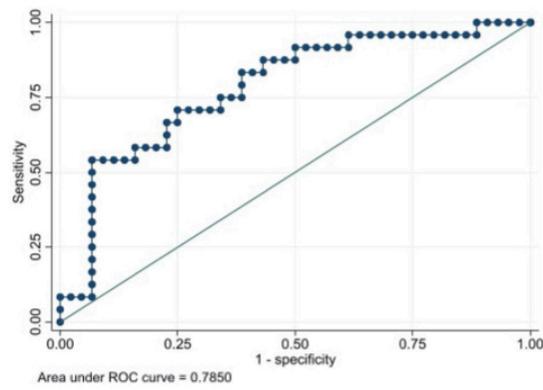
## Results

**Differences between women with SLE with and without CP.** Carotid plaques were present in 24 of the 68 women (35.3%). Table 1 shows the descriptive statistics for the main study variables in the whole sample and separately in women with and without CP. The mean value of PWV was 6.4 m/s (SD: 1.2), and was significantly higher in patients with CP (7.4 vs 5.9 m/s;  $p < 0.001$ ). The mean value of sclerostin in the entire sample was 69.1 U/L, with significant differences depending on the presence or absence of CP (96.6 vs 54.1 U/L, respectively,  $p < 0.001$ ). Other cardiovascular risk predictors directly related to CP with significant or almost significant values were age ( $p < 0.001$ ), disease duration ( $p = 0.003$ ), HTN ( $p = 0.053$ ), presence of MetS ( $p = 0.066$ ), serum levels of C3 ( $p = 0.016$ ), and the Framingham risk score ( $p < 0.001$ ).

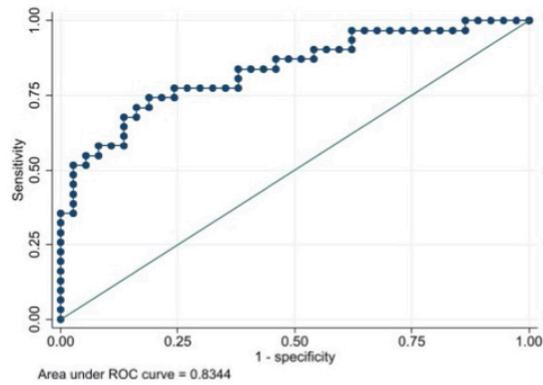
**Relationship between PWV and sclerostin with CP status.** Figure 1 shows the ROC curve for the values of PWV versus CP status. An AUC of 0.836 (95% CI 0.729–0.916) was obtained. The cut-off point of PWV that maximized its classification accuracy regarding CP status was 6.7 m/s, with a sensitivity value of 83.3% (95% CI 62.6–95.3) and a specificity value of 75.0% (95% CI 59.7–86.8). Figure 2 shows the ROC curve for the values of sclerostin versus CP status. An AUC of 0.785 (95% CI 0.662–0.871) was obtained. The cut-off point of sclerostin that maximized its classification accuracy regarding CP status was 99.2 U/L, with a sensitivity value of 54.2% (95% CI 32.8–74.4) and a specificity value of 93.2% (95% CI 81.3–98.6). Finally, Fig. 3 shows the ROC curve for the values of sclerostin versus PWV dichotomized into values below or equal/above 6.7 m/s. An AUC of 0.834 (95% CI 0.729–0.916) was obtained. The cut-off point of sclerostin that maximized its classification



**Figure 1.** ROC curve and AUC for the values of PWV versus CP status.



**Figure 2.** ROC curve for the values of sclerostin versus CP status.



**Figure 3.** ROC curve for the values of sclerostin versus PWV dichotomized into values below or equal/above than 6.7 m/s.

Variables	Crude estimates		Adjusted estimates <sup>a</sup>		Predictive model <sup>b</sup>	
	OR	95% CI	OR	95% CI	OR	95% CI
Sclerostin <sup>c</sup>	1.31	1.13; 1.53	1.44	1.01; 2.05		
Age	1.19	1.09; 1.30	1.16	0.90; 1.50	1.19	1.09; 1.30
BMI	1.05	0.95; 1.16	0.67	0.46; 0.96		
SLE duration	1.10	1.03; 1.19	1.06	0.91; 1.25		
Smoking	1.13	0.35; 3.62	0.02	0.00; 1.92		
Sedentary	1.29	0.48; 3.51	0.44	0.05; 3.84		
HTN	2.71	0.97; 7.53	0.71	0.08; 6.68		
LDL $\geq$ 130 mg/dL	2.02	0.72; 5.66	2.34	0.18; 29.79		
MetS	3.21	0.89; 11.57	25.12	0.36; 1737		
SLEDAI-SELENA	0.81	0.60; 1.07	0.51	0.18; 1.45		
SDI > 0	0.34	0.09; 1.34	0.03	0.00; 0.86		
APS	1.95	0.36; 10.52	3.37	0.06; 186.88		
Prednisone	0.84	0.55; 1.27	0.87	0.31; 2.45		
HCQ use	0.79	0.20; 3.13	1.27	0.03; 54.47		
LN	0.50	0.18; 1.41	1.40	0.04; 48.04		
CPR	1.07	0.97; 1.19	1.10	0.85; 1.42		
C3	1.03	1.00; 1.06	0.93	0.85; 1.01		
C4	1.06	0.97; 1.16	1.17	0.85; 1.60		
Framingham	1.69	1.29; 2.22	2.02	0.78; 5.29		

**Table 2.** Odds ratio estimates obtained through logistic regression models for the presence of CP. *BMI* body mass index, *HTN* hypertension, *LDL* low density lipoprotein, *MetS* metabolic syndrome, *SLEDAI-SELENA* Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index, *SDI* Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index, *APS* antiphospholipid syndrome, *HCQ* hydroxychloroquine, *LN* lupus nephritis. <sup>a</sup>The model included all the independent variables shown in the table. <sup>b</sup>The stepwise model included only variables with a p-to-enter value < 0.05 and a p-to-remove value > 0.10. <sup>c</sup>Estimated for sclerostin value  $\times$  10.

accuracy regarding dichotomized PWV was 62.9 U/L, with a sensitivity value of 75.8% (95% CI 57.7–88.9) and a specificity value of 81.1% (95% CI 64.8–90.4).

**Logistic models applied to CP as the dependent variable.** Table 2 summarizes the results of the logistic models applied to CP as the dependent variable. The crude OR estimate for sclerostin ( $\times$  10 units) was 1.31 (95% CI 1.13–1.53), indicating a 31% increase in the odds of CP being present for each 10-units increase in sclerostin values. Other independent variables related to significant increases in the odds of CP were age, disease duration and the Framingham risk score. In the multivariate explanatory model (which included all independent variables), the adjusted OR estimate for sclerostin yielded a slightly higher significant value (OR 1.44; 95% CI 1.01–2.05). In the predictive model, the stepwise procedure only allowed for the inclusion of age, with a significant 19% increase in the odds of CP for each 1-year increment in age.

**Logistic models applied to PWV as the dependent variable.** Table 3 displays the regression coefficients of the linear models adjusted for PWV values as the dependent variable. The crude estimate reveals a significant positive association for sclerostin: every 10-units increase was associated with 0.14-units of increase in PWV values (95% CI 0.08–0.20). Age, BMI, disease duration, HTN, LDL values higher than 130 mg/dL, MetS, serum levels of C3 and the Framingham risk score were also positively related to PWV values. In contrast, SLEDAI and lupus nephritis exhibited an inverse relationship with PWV. The adjusted regression coefficient for sclerostin was  $-0.03$  (95% CI  $-0.06$  to  $0.00$ ). The stepwise model included age, HTN and the Framingham risk score (with positive coefficients), and C-reactive protein (with a negative coefficient), as significant independent predictors of PWV values.

## Discussion

Our results suggest for the first time the existence of an unadjusted association between sclerostin and two of the main cardiovascular risk markers (CP and PWV) in patients with SLE. In addition, this association was maintained in CP in the adjusted models. These results are in line with the possible relationships between sclerostin concentrations and cardiovascular morbidity and mortality, especially in patients with chronic kidney disease, but also in diabetics and in the general population<sup>20,32–34</sup>. Moreover, prospective studies have demonstrated a possible relationship between serum sclerostin levels and CVD<sup>34,35</sup>. Regarding subclinical CVD, it has been shown that serum concentrations of sclerostin may be a good biomarker to identify patients with established subclinical vascular calcification. In fact, sclerostin has been found to be an independent marker of increased PWV<sup>36,37</sup>, presence of CP<sup>38</sup>, and to be significantly associated with aortic calcification<sup>39</sup>.

Variable	Crude estimates		Adjusted estimates <sup>a</sup>		Predictive model <sup>b</sup>	
	Coeff	95% CI	Coeff	95% CI	Coeff	95% CI
Sclerostin <sup>c</sup>	0.14	0.08; 0.20	- 0.03	- 0.06; 0.00		
Age	0.10	0.09; 0.11	0.08	0.06; 0.10	0.08	0.07; 0.09
BMI	0.11	0.05; 0.16	- 0.01	- 0.04; 0.02		
SLE duration	0.06	0.03; 0.10	0.02	- 0.00; 0.03		
Smoking	0.44	- 0.27; 1.15	0.16	- 0.18; 0.50		
Sedentary	0.49	- 0.11; 1.08	- 0.04	- 0.29; 0.21		
HTN	1.05	0.49; 1.61	0.35	0.10; 0.60	0.29	0.08; 0.51
LDL $\geq$ 130 mg/dL	0.88	0.29; 1.48	- 0.13	- 0.41; 0.14		
MetS	1.33	0.60; 2.05	0.33	- 0.11; 0.78		
SLEDAI-SELEN	- 0.15	- 0.30; - 0.02	0.00	- 0.06; 0.06		
SDI > 0	- 0.10	- 0.81; 0.62	0.04	- 0.23; 0.30		
APS	0.29	- 0.77; 1.36	0.13	- 0.26; 0.52		
Prednisone	- 0.02	- 0.25; 0.22	0.06	- 0.04; 0.16		
HCQ use	- 0.34	- 1.19; 0.52	- 0.38	- 0.72; - 0.04		
LN	- 0.61	- 1.20; - 0.01	- 0.39	- 0.71; - 0.06		
CPR	0.03	- 0.02; 0.07	- 0.03	- 0.05; - 0.01	- 0.02	- 0.04; - 0.01
C3	0.02	0.01; 0.03	- 0.00	- 0.01; 0.01		
C4	0.04	- 0.01; 0.09	0.02	- 0.01; 0.04		
Framingham	0.39	0.33; 0.46	0.10	0.03; 0.17	0.12	0.07; 0.18

**Table 3.** Regression coefficients obtained through linear regression models for PWV values. *BMI* body mass index, *HTN* hypertension, *LDL* low density lipoprotein, *MetS* metabolic syndrome, *SLEDAI-SELENA* Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index, *SDI* Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index, *APS* antiphospholipid syndrome, *HCQ* hydroxychloroquine, *LN* lupus nephritis. <sup>a</sup>The model included all the independent variables shown in the table. <sup>b</sup>The stepwise model included only variables with a p-to-enter value < 0.05 and a p-to-remove value > 0.10. <sup>c</sup>Estimated for sclerostin value  $\times$  10.

There is no current evidence on the possible role of sclerostin as a marker of cardiovascular risk in SLE patients. Only one previous study by Fayed et al. showed an increase in the serum concentration of sclerostin in patients with SLE compared to healthy subjects, as well as an independent relationship with proteinuria levels<sup>40</sup>. This latter association prompted us to exclude cases of SLE with chronic kidney disease in order to avoid its possible role as a confounding factor in the association between sclerostin and cardiovascular risk.

The reason why SLE is such an important risk factor for atherosclerosis and CVD has not yet been fully explained. The constant stimulation due to long-lasting systemic inflammation, as well as the chronic use of treatments such as corticosteroids and other factors typical of this disease, could all contribute to the formation and disruption of atherosclerotic plaques<sup>9</sup>. In addition, a higher incidence of classical cardiovascular risk factors like HTN or dyslipidemia is present in these patients<sup>5,10,29</sup>, as has been corroborated in our sample. On the other hand, there is ample evidence that the cardiovascular risk in the target population in which SLE occurs has been systematically underestimated in clinical practice. Therefore, these patients have received an under-therapeutic attitude with respect to male populations with the same characteristics<sup>41</sup>. For all these reasons, traditional cardiovascular risk scores have failed on their own in the early and effective identification of high-risk patients and it has been recommended in the latest cardiovascular risk guidelines to consider CVD risk assessment in patients with any chronic inflammatory condition<sup>42</sup>. In our sample, the Framingham score has been shown to be an independent and even predictive factor of subclinical cardiovascular risk. Thus, it should be considered in the evaluation of these patients, increasing, along with other factors, the positive predictive value of new algorithms of cardiovascular risk screening. On the other hand, markers of inflammation and scales of activity or cumulative damage have not been related to subclinical CVD.

According to the AUCs values estimated in our study, the accuracy of sclerostin as a marker of both CP and dichotomized PWV seems acceptable, especially with regard to its specificity. To our knowledge, no previous work in the literature compared the AUC of sclerostin with these outcome variables in other populations. The results of univariate models agree with the AUC values. Furthermore, despite not reaching the statistically required sample, we have observed a significant and independent relationship between sclerostin and CP after adjusting for the rest of the classical risk factors. However, although sclerostin maintained the magnitude of its association with CP after adjustment, this was not the case for PWV. This may be due to intrinsically different mechanisms of CP formation in SLE patients compared to other populations with high cardiovascular risk. For instance, a previous study found an abnormally high prevalence of CP without an associated increase in the intima-media thickness<sup>24</sup>. Finally, predictive models did not include sclerostin as an independent predictive marker for either CP or PWV. Age is by far the strongest predictor for both outcomes in our sample.

Some limitations should be taken into account for a correct interpretation of our results. First, our sample does not cover the true spectrum of SLE patients. As previously noted, women with chronic kidney disease were not included in the study, which implies a lower prevalence of CVD in the sample that, in turn, could have led to an underestimation of the association between sclerostin and cardiovascular risk. Likewise, men were excluded from the study due to the low prevalence of this disease in the male population. In fact, the final prevalence of CP found in our case series (35.3%) was lower than that used to estimate our sample size (i.e., 50%). This fact, together with not having been able to reach the prespecified sample size, reduced our capacity to include sclerostin in the predictive models of cardiovascular risk. On the other hand, our study only included an isolated measurement of serum sclerostin levels, without taking into account other factors that can modify its concentration, such as vitamin D or parathormone. Serial measurements of both PWV and sclerostin levels are necessary to establish true clinical utility.

In conclusion, our results reveal a significant association between sclerostin levels and CP and, to a lesser extent, PWV. This finding suggests that sclerostin could be tested as a serum marker in routine medical practice to screen and facilitate the detection of potential candidates for CAU. Further studies of SLE patients with larger sample sizes and prospectively followed-up should be carried out to confirm the clinical utility of sclerostin in routine practice.

### Data availability

The datasets that support the findings of this study are available from the corresponding author on reasonable request.

Received: 11 July 2022; Accepted: 2 December 2022

Published online: 14 December 2022

### References

1. Cervera, R., Khamashta, M. A. & Hughes, G. R. V. The Euro-lupus project: Epidemiology of systemic lupus erythematosus in Europe. *Lupus* **18**, 869–874 (2009).
2. Thomas, G. *et al.* Mortality associated with systemic lupus erythematosus in France assessed by multiple-cause-of-death analysis: Mortality and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheumatol.* **66**, 2503–2511 (2014).
3. Voss, A., Laustrop, H., Hjelmborg, J. & Junker, P. Survival in systemic lupus erythematosus, 1995–2010. A prospective study in a Danish community. *Lupus* **22**, 1185–1191 (2013).
4. Kostopoulou, M., Nikolopoulos, D., Parodis, I. & Bertias, G. Cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus: Recent data on epidemiology, risk factors and prevention. *Curr. Vasc. Pharmacol.* **18**, 549–565 (2020).
5. Sabio, J. *et al.* Metabolic syndrome in patients with systemic lupus erythematosus from Southern Spain. *Lupus* **17**, 849–859 (2008).
6. Sabio, J. M. *et al.* Prevalence of and factors associated with hypertension in young and old women with systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.* **38**, 1026–1032 (2011).
7. Sabio, J. M. *et al.* Nighttime blood pressure patterns and subclinical atherosclerosis in women with systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.* **42**, 2310–2317 (2015).
8. Esdaile, J. M., Abrahamowicz, M., Grodzicky, T., Li, Y. & Panaritis, C. Traditional Framingham risk factors fail to fully account for accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus 7.
9. Bruce, I. N. 'Not only...but also': Factors that contribute to accelerated atherosclerosis and premature coronary heart disease in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* **44**, 1492–1502 (2005).
10. Croca, S. & Rahman, A. Atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* **31**, 364–372 (2017).
11. Nambi, V. *et al.* Carotid intima-media thickness and presence or absence of plaque improves prediction of coronary heart disease risk in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *J. Am. Coll. Cardiol.* **55**, 1600–1607 (2010).
12. Fernández-Friera, L. *et al.* Prevalence, vascular distribution, and multiterritorial extent of subclinical atherosclerosis in a middle-aged cohort. *Circulation* **131**, 2104–2113 (2015).
13. Vázquez-Del Mercado, M. *et al.* Subclinical parameters of arterial stiffness and arteriosclerosis correlate with QRISK3 in systemic lupus erythematosus. *PLoS One* **13**, e0207520 (2018).
14. Wu, G.-C. *et al.* Subclinical atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus: A systemic review and meta-analysis. *Autoimmun. Rev.* **15**, 22–37 (2016).
15. Kravvariti, E., Konstantonis, G., Sfikakis, P. P. & Tektonidou, M. G. Progression of subclinical atherosclerosis in systemic lupus erythematosus versus rheumatoid arthritis: The impact of low disease activity. *Rheumatology* **57**, 2158–2166 (2018).
16. Hametner, B. *et al.* Oscillometric estimation of aortic pulse wave velocity: Comparison with intra-aortic catheter measurements. *Blood Press. Monit.* **18**, 173–176 (2013).
17. Winkler, D. G. *et al.* Osteocyte control of bone formation via sclerostin, a novel BMP antagonist. *EMBO J.* **22**, 6267–6276 (2003).
18. Poole, K. E. S. *et al.* Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation. *FASEB J.* **19**, 1842–1844 (2005).
19. Brandenburg, V. M. *et al.* From skeletal to cardiovascular disease in 12 steps—the evolution of sclerostin as a major player in CKD-MBD. *Pediatr. Nephrol.* **31**, 195–206 (2016).
20. Novo-Rodríguez, C. *et al.* Circulating levels of sclerostin are associated with cardiovascular mortality. *PLoS One* **13**, e0199504 (2018).
21. Golledge, J. & Thanigaimani, S. Role of sclerostin in cardiovascular disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **42**, e187–e202 (2022).
22. Paccou, J. *et al.* The relationships between serum sclerostin, bone mineral density, and vascular calcification in rheumatoid arthritis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **99**, 4740–4748 (2014).
23. Aringer, M. *et al.* 2019 European league against rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheumatol.* **71**, 1400–1412 (2019).
24. Frerix, M., Stegbauer, J., Kreuter, A. & Weiner, S. Atherosclerotic plaques occur in absence of intima-media thickening in both systemic sclerosis and systemic lupus erythematosus: A duplexsonography study of carotid and femoral arteries and follow-up for cardiovascular events. *Arthritis Res. Ther.* **16**, R54 (2014).
25. GE Logiq F6 Ultrasound Machine. *Ultrasound Supply*. <https://www.ultrasoundupply.com/products/ultrasound-machines/ge-ultrasound/ge-logiq-f6/>.
26. Mobil-O-Graph. *IEM GmbH*. <https://www.iem.de/en/produkt/mobil-o-graph-pwa/>.
27. Bombardier, C. *et al.* Derivation of the Sledai. A disease activity index for lupus patients. *Arthritis Rheumat.* **35**, 630–640 (1992).
28. Gladman, D. *et al.* The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* **39**, 363–369 (1996).

29. Sabio, J. M. *et al.* Relationship between homocysteine levels and hypertension in systemic lupus erythematosus: Hypertension and homocysteine levels in SLE. *Arthritis Care Res.* **66**, 1528–1535 (2014).
30. Grundy, S. M. *et al.* Diagnosis and management of the metabolic syndrome: An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* **112**, 2735–2752 (2005).
31. StataCorp. *Stata Statistical Software: Release 17* (StataCorp LLC, 2021).
32. Kalousová, M., Dusilová-Sulková, S., Kuběna, A. A., Zakiyanov, O. & Zima, T. Sclerostin levels predict cardiovascular mortality in long-term haemodialysis patients: A prospective observational cohort study 25.
33. Chen, A. *et al.* Associations of sclerostin with carotid artery atherosclerosis and all-cause mortality in Chinese patients undergoing maintenance hemodialysis. *BMC Nephrol.* **19**, 264 (2018).
34. Zou, Y. *et al.* Association of sclerostin with cardiovascular events and mortality in dialysis patients. *Renal Fail.* **42**, 282–288 (2020).
35. Gong, L. *et al.* Elevated levels of serum sclerostin are linked to adverse cardiovascular outcomes in peritoneal dialysis patients. *Int. Urol. Nephrol.* **50**, 955–961 (2018).
36. Gaudio, A. *et al.* Sclerostin is a possible candidate marker of arterial stiffness: Results from a cohort study in Catania. *Mol. Med. Rep.* **15**, 3420–3424 (2017).
37. Hampson, G. *et al.* The relationship between inhibitors of the Wnt signalling pathway (Dickkopf-1(DKK1) and sclerostin), bone mineral density, vascular calcification and arterial stiffness in post-menopausal women. *Bone* **56**, 42–47 (2013).
38. Morales-Santana, S. *et al.* Atherosclerotic disease in type 2 diabetes is associated with an increase in sclerostin levels. *Diabetes Care* **36**, 1667–1674 (2013).
39. Kuipers, A. L. *et al.* Association of circulating sclerostin with vascular calcification in afro-caribbean men. *Atherosclerosis* **239**, 218–223 (2015).
40. Fayed, A., Soliman, A. & Elgohary, R. Measuring serum sclerostin in egyptian patients with systemic lupus erythematosus and evaluating its effect on disease activity: A case-control study. *J. Clin. Rheumatol.* **27**, 161–167 (2021).
41. Vogel, B. *et al.* The Lancet women and cardiovascular disease Commission: Reducing the global burden by 2030. *Lancet* **397**, 2385–2438 (2021).
42. Visseren, F. L. J. *et al.* 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur. Heart J.* **42**, 3227–3337 (2021).

### Author contributions

All the authors contributed equally.

### Competing interests

The authors declare no competing interests.

### Additional information

**Correspondence** and requests for materials should be addressed to J.M.S.

**Reprints and permissions information** is available at [www.nature.com/reprints](http://www.nature.com/reprints).

**Publisher's note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2022