



Universidad
de La Laguna

D. Iván Ferraz Amaro, Médico Adjunto del Servicio de Reumatología del Hospital Universitario de Canarias.

D. Federico Díaz González, Profesor Titular del Departamento de Medicina Interna, Dermatología y Psiquiatría de la Universidad de la Laguna. Médico Adjunto del Servicio de Reumatología del Hospital Universitario de Canarias.

CERTIFICAN

Que Dña. Esmeralda Delgado Frías ha realizado bajo su dirección el trabajo titulado “Composición corporal y adiposidad abdominal en artritis reumatoide”, que presenta para optar al grado de Doctor por la Universidad de La Laguna.

Para que conste y surta los efectos oportunos, firmamos el presente certificado en La Laguna a 25 de noviembre de 2015.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Iván Ferraz Amaro'.

Iván Ferraz Amaro
Médico adjunto S. de Reumatología
Hospital Universitario de Canarias

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Federico Díaz González'.

Federico Díaz González
Profesor Titular de Reumatología
Departamento de Medicina Interna

COMPOSICIÓN CORPORAL Y ADIPOSIDAD ABDOMINAL EN ARTRITIS REUMATOIDE

Doctorando: Esmeralda Delgado Frías

Directores: Iván Ferraz Amaro, Federico Díaz González

Departamento de Medicina Interna, Psiquiatría y Dermatología.

Universidad de La Laguna.

La Laguna, 14 de enero de 2016

AGRADECIMIENTOS

Creo que no me equivoco si digo que este es uno de los apartados más importantes de la tesis, y lo escribo habiendo finalizado ya la redacción de la misma. No sé por dónde empezar...

En primer lugar me viene a la mente mi hija, eres un bebe de meses ahora pero cuando seas mayor y leas esto, decirte que eres lo más grande que me ha pasado en la vida, cuando me miras y sonríes el resto del mundo no importa. Quiero pedirte perdón porque en estos meses no he estado al cien por cien contigo y me siento culpable, nunca piensas que tu vida puede cambiar tanto con la llegada de un hijo y te das cuenta que realmente lo importante en tu vida está ahí, al lado tuyo, a escasos centímetros de ti. Por eso, esto va dedicado especialmente a ti.

A ti, mi niña, y a tu padre. Gracias Darío, gracias por ser como eres, por ser el padre de Emma, por querer tanto a tu hija, por ayudarme a mí en todo, en cualquier momento y a cualquier hora, por apoyarme en absolutamente todo lo que hago, por calmar mis ataques de "histeria" cuando veía que se me echaba el tiempo encima, por no dejarme morir de inanición cuando no encontraba el momento para comer, por ser mi bastón en estos años y mi empuje. Más de un tercio de nuestras vidas las hemos pasado, más bien disfrutado juntos. Espero que cuando llegue el otoño a nuestras vidas y seamos unos abuelitos canosos, nos encuentre juntos.

A mis padres y hermanos porque con ellos la palabra familia se escribe en mayúsculas. Papá, mamá, sin vosotros esto tampoco habría sido posible, habéis cuidado a Emma para que yo pudiera acabar la tesis, y han sido muchas tardes dedicadas por entero a ella. Gracias por eso y por los valores que nos habéis inculcado a vuestros hijos, por ayudarnos a ser independientes, por luchar por lo que queremos y querer ser mejores, pero también por enseñarnos a asumir que en la vida también hay fracasos y que hay que aprender de ellos y volverse a levantar. A mi hermano David porque es un ejemplo a seguir, siempre constante, pero sobre todo generoso. A mi hermano Humberto porque es la única persona que te puede sacar una sonrisa cuando sólo tienes motivos para llorar. A mi hermana Ruth porque es la amabilidad y la dulzura personificadas y porque es mi hermana. A mi abuela Expedita porque nunca ha habido en la faz de la tierra una mujer más fuerte que ella. A mis abuelos Antonio y María, que ya no están aquí, pero siempre los

tengo presentes en mi corazón. A mis sobrinos Alba, David, Adriana e Irene porque cambiasteis mi nombre por tía, os adoro.

A Manolo y Gloria, gracias, porque desde el minuto 0 habéis estado dispuestos siempre para mí, porque mi incorporación al trabajo tras mi baja maternal ha sido menos dura sabiendo que mi hija estaba con vosotros, porque me habéis acogido desde que entre por vuestra puerta. Porque me enseñasteis lo que significa la palabra clan, porque siempre cabe una silla más en vuestra mesa, siempre con una sonrisa. Y por enseñarme a apreciar las papayas! De verdad gracias, una parte de esta tesis también es vuestra. Al resto del clan también gracias (Mama Yoya, Papa Isma, Ana, Akeka, Ariel y Gemma y Laia, Oscar, Meli y Tino y Thalia, Nestor, Omar y Ana, Juana, espero no haberme olvidado de nadie)

A mi querido Iván, mi mentor, mi maestro, mi amigo, porque tú me has enseñado lo que es la constancia, el rigor, el trabajo duro, por todas esas tardes que han sido muchas, explicándome, aclarándome dudas y por tener tanta tanta paciencia conmigo. Por tu apoyo desde el principio, por confiar en mi para hacer la tesis, porque a pesar de que he tenido altibajos en estos años tu siempre has estado al lado mío animándome, evitando que me rinda. Gracias, porque existe un más allá tras la reumatología clínica, por las inquietudes que nos metes en la cabeza, por intentar que la estadística sea nuestra amiga (mira que nos cuesta). Iván, sin tí, esta tesis no habría salido a la luz, también es tuya.

A Vanesa, mi querida "R" mayor, siempre has estado dispuesta a ayudarme en todo, has sido mi guía durante la residencia y después de ella. Recuerdo con mucho cariño las tardes y salir de noche de la "quinta", comiendo a base de los bocadillos de la uno...Y los acelerómetros, como no acordarse de esos artilugios que te volvieron loca pero que al final derivaron en una tesis magnífica....al final lo conseguimos.

A Federico porque gracias a él la reumatología cada vez es más puntera, porque te apoya cuando queremos hacer algo diferente a lo ya establecido y a lo convencionar y por despertar la curiosidad por la investigación.

A Ada que en el último tramo de recogida de pacientes nos ayudó muchísimo y me organizó las cosas como nadie, dentro del caos que yo llevaba.

A Anabel porque me ayudó también al tomar las muestras de los pacientes.

A mis compañeros del servicio de Reumatología del HUC que me ayudaron aportando pacientes para yo poder hacer este trabajo, y a los que llevo anunciado mi tesis desde el principio de los tiempos, ahora sí que la acabo.

Y con esto cierro este capítulo de mi vida, a la espera de empezar uno nuevo que añadir a mi libro, gracias a todos.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	19
1 ARTRITIS REUMATOIDE	21
1.1 <i>Patogenia</i>	21
1.2 <i>Etiología</i>	22
1.3 <i>Criterios de clasificación</i>	24
1.4 <i>Manifestaciones clínicas</i>	24
1.5 <i>Evaluación de actividad</i>	25
1.6 <i>Evaluación de daño radiográfico.</i>	27
1.7 <i>Tratamiento</i>	28
1.8 <i>Pronóstico</i>	29
2 COMPOSICIÓN CORPORAL	30
2.1 <i>Generalidades</i>	30
2.2 <i>Métodos de medición de composición corporal</i>	31
2.3 <i>Índices de medición</i>	33
2.4 <i>Fenotipos de composición corporal</i>	36
2.5 <i>Adiposidad abdominal</i>	36
2.6 <i>Masa ósea</i>	37
3 DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y RIESGO CARDIOVASCULAR.....	38
4 COMPOSICIÓN CORPORAL Y ADIPOSIDAD ABDOMINAL EN AR.....	40
5 MASA ÓSEA EN AR.....	42
HIPÓTESIS	45
OBJETIVOS	49
MATERIAL Y MÉTODOS	53
1 PACIENTES	55
2 RECOLECCIÓN DE DATOS	56
3 DETERMINACIONES ANALÍTICAS	57
4 ADIPOSIDAD ABDOMINAL MEDIANTE RESONANCIA MAGNÉTICA	58
5 COMPOSICIÓN CORPORAL MEDIANTE DEXA. DEFINICIÓN DE FENOTIPOS DE OBESIDAD Y SARCOPENIA	58
5.1 <i>Definición de Gallagher</i>	59
5.2 <i>Definición de Schutz</i>	60
5.3 <i>Definición de Janssen</i>	60
6 MEDICIÓN DE DENSIDAD MINERAL ÓSEA.....	61
7 MEDICIÓN DE LA DILATACIÓN ENDOTELIAL DEPENDIENTE DE FLUJO EN ARTERIA BRAQUIAL.	62
8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	62
RESULTADOS	65
1 CARACTERES DEMOGRÁFICAS, ANALÍTICAS Y DE ACTIVIDAD.....	67
2 COMPOSICIÓN CORPORAL POR DEXA.....	71
3 MASA ÓSEA.....	73
4 NIVELES DE OSTEOPROTEGERINA Y VITAMINA D.	75
5 RELACIÓN DE LA COMPOSICIÓN CORPORAL CON LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE	75
6 ASOCIACIÓN DE LA MASA ÓSEA, VITAMINA D Y OSTEOPROTEGERINA CON DISFUNCIÓN ENDOTELIAL.....	78
DISCUSIÓN	83
1 COMPOSICIÓN CORPORAL, ADIPOSIDAD ABDOMINAL Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL.....	85
2 MASA ÓSEA, VITAMINA D, OSTEOPROTEGERINA Y DISFUNCIÓN ENDOTELIAL.....	88
3 LIMITACIONES	91
4 CONCLUSIONES	92
BIBLIOGRAFÍA.....	93
ABREVIATURAS	115

ANEXO 1.....	118
ANEXO 2.....	120

INTRODUCCIÓN

1 Artritis reumatoide

La Artritis Reumatoide (AR) es una enfermedad articular inflamatoria crónica que origina una sinovitis poliarticular que en su curso natural conduce a un daño estructural irreversible, y se asocia a la aparición de importantes comorbilidades, discapacidad y mortalidad prematuras.

Es una enfermedad frecuente, su prevalencia varía entre 0,5-1% entre países, con un 0,5% en España (aproximadamente 200.000 personas en nuestro país) (1) y su incidencia anual es de aproximadamente 40 por 100.000 habitantes siendo en mujeres el doble que en hombres. En países mediterráneos la enfermedad podría tener un curso más benigno que en los del norte de Europa, con menos manifestaciones extrarticulares y erosiones. Esta enfermedad puede debutar a cualquier edad, pero el pico de aparición suele ser entre la 5ª y 7ª década de la vida, siendo el riesgo a lo largo de la vida para desarrollar AR en la vida adulta, de un 3.6% en mujeres y de un 1,7% en hombres (2).

1.1 Patogenia

En su patogenia están implicados procesos dependientes e independientes de la célula B que van a contribuir al inicio y perpetuación de esta enfermedad. La activación de la inmunidad innata es probablemente el primer proceso en la AR, seguido de la citrulinación, la activación de las células presentadoras de antígeno, ya sea con proteínas nativas o modificadas en la articulación, y luego la migración a los órganos linfoides centrales. Una vez allí, las células presentadoras de antígeno expresan una gran variedad de antígenos a las células T, que a continuación pueden activar las células B y /o pueden emigrar de nuevo a la membrana sinovial.

Es poco probable que exista un único "antígeno reumatoide", por ello, un amplio espectro de antígenos específicos de las articulaciones, como el colágeno tipo II o antígenos citrulinados no específicos, pueden ser los responsables.

Una de las respuestas histopatológicas tempranas en la AR es la generación de nuevos vasos sanguíneos sinoviales, que se acompaña de la trasudación de fluido y la transmigración de linfocitos en la membrana sinovial y de leucocitos

polimorfonucleares en el líquido sinovial. Con el desarrollo de los nuevos vasos, las citoquinas producidas en la membrana sinovial en respuesta al factor de necrosis tumoral (TNF) activan las células endoteliales para producir moléculas de adhesión, que aceleran la adherencia dependiente de la activación de los leucocitos, facilitando de ese modo la diapédesis y extravasación en la membrana sinovial (3, 4).

La cascada de citoquinas proinflamatorias juega un papel clave en la iniciación y perpetuación de la enfermedad, de manera que las células inflamatorias son reclutadas hacia la membrana sinovial por la acción de IL-17a, TNF, IL-1, IL-6, IL-18, factor de crecimiento endotelial vascular, IL-33 y quimioquinas; y su retención en la membrana sinovial se ve facilitada por la inhibición de la apoptosis y otros mecanismos de inmunidad innata por medio del interferón-alfa y -beta, IL-15, y TNF. Las células T se organizan y activan en presencia de IL-23, IL-27, IL-12, IL-15, IL-18 y quimioquinas. Al mismo tiempo, el componente proliferativo/destructivo de la sinovitis se genera por el TNF, la IL-17, proteínas morfogénicas óseas, y *transforming growth factor beta*.

Se ha visto también que la caderina-11, una proteína de membrana, interviene en la organización y la invasión de sinoviocitos fibroblastos-*like* en el tejido sinovial (5, 6), lo que hace que la sinovial reumatoide activada destruya el cartílago articular. Esa destrucción de cartílago, hueso y tendones en la AR se inicia en gran medida por las metaloproteasas (7) y finalmente existe un desequilibrio dramático del recambio óseo en el que la resorción ósea local es mayor que la formación de hueso (8).

1.2 Etiología

No se conoce la causa exacta de la AR, pero se han identificado muchas etiologías posibles.

En estos años han surgido datos sólidos sobre la importancia de factores de riesgo genéticos para AR. El vínculo más firme entre un factor de susceptibilidad genética y la AR es la asociación de la enfermedad con un epítipo en la tercera región hipervariable de las cadenas beta de HLA-DR, conocido como "epítipo

compartido" (9). Los individuos con la secuencia *leu-glu-lys-arg-ala* en los residuos 67, 70, 71, 72 y 74 tienen una mayor incidencia y prevalencia de la AR que aquellos que no tienen este epítipo. Esta secuencia se encuentra en DR4 y DR14 y algunas cadenas beta DR1. Las cadenas beta DR4 con las asociaciones más fuertes con AR son DR-beta*0401, DR-beta*0404, DR-beta*0101, y el DR-beta*1402 (10). Aunque este hallazgo se ha demostrado en muchas cohortes, como en el norte de Europa, judíos israelíes, indios *Yakima* y coreanos, no parece encontrarse con todas las poblaciones. Entre los afroamericanos, por ejemplo, otros factores de riesgo genéticos, parecen contribuir significativamente a la susceptibilidad a la enfermedad y la gravedad.

También se han estudiado polimorfismos de nucleótido único, por ejemplo, los del TNF que se han asociado con la AR, y otros han sido relacionados con mejores respuestas terapéuticas a los inhibidores del TNF. Se han encontrado asociaciones estadísticamente significativas entre la respuesta a la terapia anti-TNF y un alelo en el locus del gen *PTPRC* (protein tyrosine phosphatase, receptor type, C) (11).

Se ha confirmado un mayor riesgo de AR en varias poblaciones diferentes con el polimorfismo de nucleótido único del N22 (*PTPN22*), gen de la proteína tirosina fosfatasa, que codifica una fosfatasa implicada en la señalización intracelular de las células T (12). El mismo polimorfismo *PTPN22* también puede aumentar la tasa de progresión de la AR. *STAT4* (*Signal Transducer and Activator of Transcription 4*) que codifica un factor de transcripción que transmite señales inducidas por varias citoquinas clave, se ha estudiado como factor de riesgo tanto para la AR como para el lupus eritematoso sistémico, lo que sugiere una vía compartida para estos trastornos autoinmunes (13).

Igualmente, el tabaquismo es un fuerte factor de riesgo para el desarrollo de la AR, sobre todo en los individuos con el epítipo compartido (14). Además de aumentar la susceptibilidad a la enfermedad, el hábito de fumar también puede ser un factor de riesgo para una mayor gravedad de la misma. En comparación con aquellos que nunca habían fumado, los pacientes con una historia de fumar de 25 paquetes/año tienen más probabilidades de ser seropositivos, tener nódulos, o tener erosiones radiológicamente aparentes (15).

Se ha planteado también la hipótesis de que una infección viral o bacteriana podría ser el desencadenante de la enfermedad, aunque ningún agente aislado se ha demostrado como responsable. Algunos estudios parecen involucrar a los receptores tipo *toll*, inflammasoma y respuestas a superantígenos en la vinculación de la infección y el proceso de la artritis autoinmune.

Además, los pacientes con títulos significativos de factor reumatoide (FR) tienen una mayor probabilidad de enfermedad extraarticular que los pacientes seronegativos, aunque el FR por sí solo no causa la AR. Tanto el FR como los anticuerpos anti péptidos citrulinados (ACCP) pueden estar presentes en la sangre antes de la aparición de la artritis, y la combinación de ACCP con los marcadores genéticos, el epítipo compartido, y *PTPN22* aumenta en gran medida el riesgo para el desarrollo de la AR (16).

En definitiva, los factores etiológicos son múltiples y desconocidos por el momento. Recientemente (17), se ha demostrado también que la obesidad y el sobrepeso son factores etiológicos de la enfermedad. De esta forma, en dos cohortes recientes, de más de 100.000 pacientes cada una, se demuestra que el riesgo relativo para AR es de 1,37 (IC 95% 0,95-1,98) y 1,37 (0,91-2,09) para pacientes con obesidad y sobrepeso respectivamente.

1.3 Criterios de clasificación

En 1987 se establecieron los criterios de clasificación por parte del *American College of Rheumatology* (18), pero estos criterios dejan al margen a pacientes con artritis de reciente comienzo, por lo que en 2010 se formó un grupo de trabajo ACR/EULAR del que salieron publicados los nuevos criterios de clasificación (19). De esta manera se incluían como AR aquellas artritis antes indiferenciadas identificándose las que van a tener una actividad persistente y un curso más agresivo para poder iniciar así la terapia de manera precoz.

1.4 Manifestaciones clínicas

Habitualmente el inicio de la AR es insidioso, siendo los síntomas principales el dolor, la rigidez y la inflamación de varias articulaciones. Típicamente, se afectan

las articulaciones metacarpofalángicas e interfalángicas proximales, interfalángicas de ambos primeros dedos, ambos carpos y las articulaciones metatarsofalángicas de ambos pies. El inicio puede ser o bien intermitente o monoarticular o afectando de manera migratoria a las articulaciones y suele afectar la capacidad del paciente para realizar sus actividades de la vida diaria. La afectación característicamente suele ser simétrica aunque en estadios precoces puede no ser así, siendo la afectación axial menos común (20-50%) que la periférica. Existe además probabilidad de afectación extraarticular de la enfermedad en forma de anemia, fatiga, nódulos reumatoides, pleuropericarditis, neuropatía, epi-/escleritis, esplenomegalia, vasculitis, síndrome de Sjogren, enfermedad renal, etc.

Dentro de las manifestaciones clínicas de la enfermedad recientemente han cobrado interés otras relacionadas con daño endotelial, aparición de arteriosclerosis acelerada, mayor frecuencia de eventos cardiovasculares, así como, aparición de patrones de composición corporal diferentes a los de la población sana.

1.5 Evaluación de actividad

La necesidad de medir la actividad de la enfermedad se basa en tres principios, el primero es que la enfermedad activa va a llevar a destrucción articular severa, incapacidad funcional y deterioro de la salud. Segundo, el hecho de monitorizar la actividad de la enfermedad de manera regular y a corto plazo con las modificaciones apropiadas de los fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad nos va a llevar a la mejoría tanto a nivel funcional como radiológico. Y tercero, el daño articular habitualmente progresa incluso en estados de baja actividad, aunque evidentemente siempre de manera menor y más lenta que en estados de actividad alta de la enfermedad. El objetivo terapéutico es lograr la remisión o la actividad más baja de enfermedad posible (20). En la mayoría de los pacientes, lograr una remisión mantenida se asocia con cese del daño articular.

Para evaluar la actividad de la AR existen varios indicadores como son el contaje de articulaciones dolorosas e inflamadas, reactantes de fase aguda, evaluación global del paciente y del médico, duración de la rigidez matutina, fatiga, medidas

de funcionalidad (*Health Assessment Questionnaire -HAQ-*) o del estado de salud (SF-36). Se han desarrollado unos índices compuestos que combinan varias variables principales, como son el *Disease Activity Score* sobre 28 articulaciones (DAS28), *Simplified Disease Activity Score* (SDAI) y *Clinical Disease Activity Score* (CDAI).

Además de los índices compuestos para evaluar actividad clínica y de la evaluación de la función física también como medida para estimar la actividad, se han establecido unos criterios de respuesta que normalmente son de aplicación en el contexto de los pacientes con AR en ensayos clínicos. Existen los criterios de respuesta ACR (21) que engloban ACR 20, 50 y 70 según el porcentaje de mejoría de las variables que engloban (número de articulaciones inflamadas y dolorosas junto con mejoría de ese porcentaje en al menos tres de los siguientes: en la evaluación global del paciente y del médico, en la evaluación del dolor por el paciente, en la incapacidad funcional o en los reactantes de fase aguda). Junto a estos están los criterios de respuesta EULAR (22) basados en el DAS28 y categorizados en buena respuesta si hay un descenso mayor de 1,2 con un resultado final de DAS28 < 3,2, y en moderada respuesta si hay un descenso también mayor de 1,2 pero sin lograr un DAS28 final menor de 3,2; o un descenso entre 0,6 y 1,2 alcanzando por lo menos un DAS28 final < 5,1.

En lo que se refiere a remisión, la ACR conjuntamente con la EULAR han desarrollado definiciones de remisión, ya validadas en varios estudios, para su uso tanto en ensayos clínicos como en práctica clínica (23, 24). En esta última, se define la remisión como un CDAI menor o igual de 2,8 o un número de articulaciones inflamadas y dolorosas (según un recuento de 28) ≤ 1 (cada una) junto con una evaluación global del paciente (en una escala de 0 a 10) ≤ 1 . Debido a la destrucción progresiva de las articulaciones y la pérdida de la funcionalidad, cuando la actividad de la enfermedad persiste incluso en un nivel bajo, se necesitan criterios estrictos para distinguir bien la remisión de la baja actividad de la enfermedad. Por dicho motivo tanto los criterios de remisión por SDAI (para ensayos clínicos, < 3.3) como por CDAI se consideran más estrictos que los criterios basados en el DAS28, y han sido ampliamente validados (23, 24).

1.6 Evaluación de daño radiográfico.

Los pacientes con AR desarrollan estrechamiento del espacio articular y erosiones óseas, que se observan mejor en las radiografías simples de manos y pies. Estos hallazgos pueden estar ya presentes en el momento del diagnóstico aunque lo más habitual es que aparezcan a lo largo del tiempo si persiste la sinovitis. Estas erosiones son típicas en la AR pero pueden aparecer en otras artropatías inflamatorias. Lo que se observa en la radiografía simple es osteopenia periarticular, disminución espacio articular y las ya nombradas erosiones. Las deformidades, incluyendo subluxaciones de la articulación, con cambios degenerativos secundarios pueden ocurrir en el curso de una enfermedad activa. Al principio de la enfermedad puede que sólo se observe inflamación de tejidos blandos y la osteopenia articular, y luego se desarrollaran las erosiones en el margen de la articulación; se ha visto que en las metacarpofalángicas y en las interfalángicas proximales se pueden identificar erosiones en el 15-30% de los pacientes en el primer año de evolución de la enfermedad. Y en aquellos pacientes que no responden a la terapia al final del segundo año la incidencia acumulada de erosiones es del 90% (25, 26). En algunos pacientes, sin embargo, las erosiones aparecen primero en la estiloides cubital o en las metatarsofalángicas.

Por todo lo anteriormente expuesto, es apropiado obtener al inicio de la enfermedad radiografías simples de manos y pies comparados, de tal manera que tengamos un estudio de imagen basal para poder evaluar el cambio que se pueda producir en las articulaciones durante el tratamiento. Se deben repetir cada dos años, y se consideraría que el tratamiento es insuficiente si aparecen o hay evidencias radiológicas de progresión de la enfermedad (osteopenia periarticular, estrechamiento) a pesar de tener un buen control de la actividad de la AR por otras medidas.

La resonancia magnética (RMN) y la ecografía son más sensibles que la radiología simple para la detección de cambios secundarios a la sinovitis aunque todavía no se ha demostrado la importancia pronóstica de los cambios observados con estas técnicas que no son evidentes radiográficamente. Su papel en la toma de decisiones terapéuticas está bajo investigación, aunque la ecografía en estos últimos años sí está empezando a utilizarse como técnica de evaluación clínica.

El daño radiológico se ha relacionado con manifestaciones extraarticulares de la enfermedad dentro de las que también se han incluido la enfermedad cardiovascular o las alteraciones en los patrones de composición corporal. En este sentido se ha propuesto la existencia de un efecto protector de la obesidad sobre el daño radiológico (27).

1.7 Tratamiento

En los pacientes con AR es fundamental hacer un diagnóstico precoz y una detección temprana de la enfermedad activa, así como establecer unas medidas para lograr y mantener el control de la inflamación y el proceso de la enfermedad subyacente, con el objetivo de remisión o baja actividad de la enfermedad. La aplicación de estos principios en el manejo de los pacientes con AR, junto con el desarrollo y el uso de medicamentos nuevos y más potentes, se ha traducido en una mejora significativa en la calidad de vida del paciente. Además de los medicamentos, existen medidas no farmacológicas, como la educación al paciente, las intervenciones psicosociales, y la terapia física y ocupacional, que deben usarse, junto con otras intervenciones médicas que son importantes en la gestión integral de la AR en todas las etapas de la enfermedad, como es la reducción del riesgo cardiovascular.

Se recomienda que todos los pacientes diagnosticados de AR deben iniciar la terapia con fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FAME) tan pronto como sea posible tras el diagnóstico, en lugar de utilizar medicamentos antiinflamatorios solos, como los AINEs y los glucocorticoides (20, 28-31), que se usarán de manera coadyuvante. Se recomienda el uso de estrategias de tratamiento basadas en un control estricto de la actividad de la enfermedad, utilizando los índices cuantitativos (32) y ajustando la terapéutica para lograr la remisión o la baja actividad de la enfermedad. Tales estrategias están asociadas con mejores resultados radiográficos y funcionales en comparación con los métodos menos agresivos (33).

1.8 Pronóstico

La AR es una enfermedad que siempre se asoció a un elevado coste económico, alta morbilidad y mortalidad precoz hasta que se generalizó, en los 80, el uso del metotrexato y hasta que en la última parte de la década de los 90 se empezó a disponer de las terapias biológicas. Se ha visto que los pacientes con AR que requieren ingreso hospitalario tienen al menos un riesgo doble de mortalidad con respecto a los que no la padecían (34), y que las AR más severas se asociaban con tasas de mortalidad más elevadas debido a enfermedad cardiovascular, infección y algunas neoplasias (35). La mortalidad por cualquier causa es de dos a cinco veces mayor en los pacientes con AR con respecto a la población general y la causa más frecuente de muerte es la enfermedad cardiovascular (36, 37). Este aumento en la tasa de mortalidad cardiovascular en la AR no se puede explicar completamente por los factores de riesgo clásicos de aterosclerosis, y se piensa que podría ser el resultado de un proceso acelerado de aterogénesis debido a una inflamación crónica (38). Sin embargo, los mecanismos subyacentes que van a llevar a la enfermedad cardiovascular en la AR todavía están siendo investigados (39, 40).

Por otro lado, las mejoras en los tratamientos también han reducido la necesidad de cirugía articular con la consecuente disminución de la discapacidad que se asocia a esta enfermedad.

Existen una serie de factores que se han asociado con peor pronóstico en los pacientes con AR (28), por lo que se pueden utilizar para identificar a los pacientes que pueden requerir un tratamiento más agresivo al inicio de la enfermedad: limitación funcional, enfermedad extraarticular, positividad del factor reumatoide o presencia de ACCP y erosiones óseas vistas por radiografía. Otros factores asociados a un peor pronóstico incluyen otras enfermedades crónicas concurrentes, el tabaquismo, menor nivel socioeconómico (41), edad avanzada, sexo femenino, y presencia de epítipo compartido (28).

Por lo tanto, el pronóstico de la AR ha mejorado en estos últimos años, aunque la enfermedad cardiovascular sigue siendo la causa más frecuente de mortalidad. La disfunción endotelial, de la que se hablará más adelante, y las alteraciones en la

composición corporal que concurren en la AR nos deben de poner alerta por el impacto que van a producir a medio-largo plazo en estos pacientes.

2 Composición corporal

2.1 Generalidades

La cantidad y la distribución de la grasa corporal y de la masa magra tiene importantes implicaciones a nivel sanitario. Un índice de masa corporal muy bajo, así como el ser obeso, se asocian con una reducción en la esperanza de vida, aumento de la morbilidad y pobre calidad de vida (42). No sólo la cantidad de grasa, sino también la manera en la que se distribuye, va a tener consecuencias perjudiciales en la salud. De manera que se sabe que un acúmulo desproporcionado de tejido adiposo en la región abdominal se asocia con un estado protrombótico y proinflamatorio y confiere un riesgo mayor de desarrollar enfermedades cardiovasculares (43).

La composición corporal se puede visualizar desde 5 perspectivas.

- *Composición atómica.* Una persona estándar que pesa 70 kg contiene 61% de oxígeno, 23% de carbono, 10% de hidrógeno, 2,6 % de nitrógeno, 1,4% de calcio, y menos de 1% de otros átomos (fósforo, potasio, sodio...). De esta manera, seis elementos (oxígeno, carbono, hidrógeno, nitrógeno, calcio y fósforo) representan más del 98% de la masa corporal, mientras que menos de un 2% corresponde a otros 44 elementos que están presentes también.

- *Composición molecular.* Se pueden identificar más de 100000 componentes químicos en el cuerpo humano, siendo el agua, los lípidos y las proteínas los principales. El agua constituye el 60% o más en el hombre y el 50% en la mujer, siendo el 26% extracelular y el 34% intracelular. La grasa corporal oscila entre un 10% en los atletas bien entrenados a casi más del 50% en los pacientes obesos, de un 2 a 3% de los lípidos en la grasa son lípidos estructurales esenciales y el resto son reservas grasas. Las proteínas constituirían el 15% de la composición corporal y los minerales un 5%. De esta manera, el agua, los lípidos, proteínas y minerales representarían el 99,4% de los constituyentes moleculares del cuerpo.

- *Composición celular.* El componente celular del cuerpo de un adulto se puede dividir en 4 categorías: células del tejido conectivo, células epiteliales, células neuronales y células musculares. Las células grasas, osteoclastos, osteoblastos y los componentes celulares de la sangre forman parte del tejido conectivo. Las células musculares incluyen el músculo liso, el músculo estriado y el cardíaco. Las células epiteliales incluyen a aquellas que revisten los órganos internos. El potasio al ser el catión intracelular principal es el indicador más ampliamente usado de la masa celular corporal. El líquido extracelular es en un 94% agua. Se distribuye entre dos compartimentos, el plasma en el espacio intravascular (constituye el 5% del peso corporal en el ser humano) y el fluido intersticial (constituye el 20% del peso corporal en el ser humano) en el espacio por fuera del compartimento vascular.

- *Componente de tejidos y órganos.* El peso corporal representa la suma del tejido muscular, del tejido conectivo, del tejido epitelial y del nervioso. El hueso, el tejido adiposo y el tejido muscular constituyen el 75% del peso corporal. La mayoría de la grasa corporal (80% en hombres, 90% en mujeres) es subcutánea. Sin embargo, la grasa también se acumula alrededor de los órganos abdominales, lo que se conoce como grasa visceral y ya sabemos que se asocia con un alto riesgo de desórdenes metabólicos y cardiovasculares como son la resistencia insulínica, la diabetes mellitus tipo 2, hipertensión y enfermedad coronaria.

- *Cuerpo total.* Esta última perspectiva de la composición corporal sostiene que hay por lo menos 10 componentes diferentes que se deberían medir: estatura, circunferencias, pliegues cutáneos, superficie corporal, volumen corporal, peso, índice de masa corporal, densidad corporal...

2.2 Métodos de medición de composición corporal

Existen varios métodos para determinar la composición corporal y, cada uno de ellos, proporciona una visión diferente de los componentes del cuerpo. Los métodos que existen se pueden categorizar según el número de compartimentos utilizados. Así por ejemplo, existirían modelos de dos compartimentos (grasa y no grasa, agua y no agua), de tres compartimentos (grasa, magra y ósea) y de cuatro compartimentos (densidad corporal, peso, contenido en agua y densidad mineral

ósea). Éstos difieren según el coste, precisión, uso de radiación, o utilidad para evaluar grasa corporal localizada.

Las técnicas más habitualmente usadas son:

- *Medidas antropométricas*. Dentro de ellas se incluyen el peso y la talla. El primero se relaciona con el segundo, fundamentalmente, por medio del índice de masa corporal (peso en kilogramos dividido por la altura en metros al cuadrado). La circunferencia de la cintura es otra medida fundamental que se determina mediante una cinta flexible que se coloca en un plano horizontal a nivel del ombligo. El aumento de esta adiposidad central, medida por la circunferencia de la cintura, se sabe que se asocia con un mayor riesgo de morbilidad y mortalidad. Otras medidas como la del espesor del pliegue cutáneo son menos precisos que el peso y la talla, sobre todo en pacientes obesos, y su utilidad fundamental es para estudios epidemiológicos más que para la clínica diaria.

- *Dual-Energy X-Ray Absorptiometry* (absorciometría dual de rayos X) . Se trata de uno de los métodos más comúnmente usados para la determinación de la composición corporal. Consiste en la atenuación de señales provenientes de dos fuentes de energía para proporcionar un modelo tricompartmental de composición corporal. Es un buen método para hacer mediciones transversales pero menos fiable para realizarlas de manera individual.

- *Medición isotópica del agua corporal*. La dilución isotópica con un trazador que mide el agua corporal también ofrece una evaluación precisa de la grasa corporal.

- *Densidad corporal y pletismografía corporal total*. Dividir los componentes graso y no graso del cuerpo se puede hacer con hidrodensitometría (peso bajo el agua), o con pletismografía corporal total (Bod Pod). La primera técnica pesa al individuo en tierra seca y después de una inmersión completa, preferiblemente con una medición simultánea de volumen pulmonar. En contraste, la pletismografía de cuerpo entero utiliza lo que se desplaza el aire en lugar de desplazamiento de agua para medir la grasa corporal. Es similar en principio a la hidrodensitometría o peso bajo el agua, pero no requiere la inmersión.

- *Impedanciometría*. Se mide mediante la aplicación de electrodos a un brazo y una pierna o colocándose de pie sobre unas placas especiales. La impedancia es

proporcional a la longitud del conductor y está inversamente relacionada con el área de la sección transversal del conductor. La precisión en la colocación de los electrodos es esencial porque incluso pequeñas variaciones pueden causar grandes errores en la medición de la impedancia y consecuentemente errores en la estimación del agua del cuerpo. Se han desarrollado una serie de fórmulas para convertir la impedancia, la cual mide el agua corporal, en una estimación de la grasa, y muchas de estas fórmulas para estimar la grasa desde la impedancia bioeléctrica subestiman la grasa corporal. Por eso es importante utilizar formas validadas para estimar la grasa corporal (44).

- *Técnicas de imagen.* Las dos más comúnmente utilizadas son la tomografía axial computerizada (TAC) y Resonancia Magnética Nuclear (RMN). Con ambas, se mide la distribución de la grasa corporal, siendo la técnica más común el obtener una imagen en un corte transversal en el espacio entre la cuarta y quinta vértebra lumbar (45, 46). Con esta imagen se mide cuantitativamente la grasa subcutánea y la visceral. Mediante TAC se emplea rayos X y un análisis informático para determinar la estructura de los órganos internos. Se puede obtener una precisión con menos de un 1% de margen de error haciendo varias exploraciones para minimizar la radiación el hacer un corte único. Con la RMN no hay riesgos para el paciente aunque tarda mucho más que el TAC y el posible movimiento del paciente puede difuminar las imágenes. Las estimaciones de la grasa subcutánea y visceral obtenidas por estos dos métodos pueden diferir en términos absolutos, pero la clasificación de los sujetos va a ser similar.

2.3 Índices de medición

El IMC es, por excelencia, el método que se ha estado usando hasta ahora como medida indirecta de la composición corporal. En estos últimos años su validez ha sido cuestionada. De manera que se ha visto que sujetos con un mismo IMC tienen composiciones corporales completamente diferentes (47). El inconveniente del IMC es que no tiene en cuenta la composición corporal real. Esto es, podemos etiquetar a un individuo como “exceso de peso” según el IMC, pero esto no implica que sea sólo por acúmulo de tejido adiposo, sino que podría haber una hipertrofia muscular que nos elevara este índice. Lo mismo ocurre con un IMC bajo, podría

deberse a un déficit de masa libre de grasa o a una movilización del tejido adiposo (48).

Con todo esto, como el valor del IMC es limitado, se han desarrollado otros índices, como son el índice de masa libre de grasa (*fat free mass index* - FFMI) y el índice de masa grasa (*fat mass index* - FMI). La ventaja frente al IMC es que sólo relacionan un componente del peso corporal, ya sea la masa grasa o la masa libre de grasa, con la altura al cuadrado. El concepto de FFMI fue descrito hace más de 20 años por *Van Itallie et al.* (49).

El FFMI y el FMI son conceptos equivalentes al IMC: $FFMI = \text{fat-free mass}/\text{height}^2$ (kg/m^2) y $FMI: \text{fat mass}/\text{height}^2$ (kg/m^2), de manera que matemáticamente, el IMC (kg/m^2)= $FFMI + FMI$.

Para un IMC dado, si aumenta FFMI, el FMI debe disminuir, ya que, en un IMC constante, va a existir relación matemática inversa entre los dos. De ahí su ventaja, uno puede juzgar si el déficit o el exceso de peso corporal es selectivamente debido a un cambio en FFM vs FM o a ambos combinados (48). En este estudio, al que se refiere la referencia previa, determinan que un FMI de aproximadamente $1 \text{ kg}/\text{m}^2$ se pueden considerar como un valor "extremadamente bajo" tanto en hombres como mujeres, ya que está por debajo de percentil 5. Y que un FMI superior a $8,2 \text{ kg}/\text{m}^2$ en hombres y $11,8 \text{ kg}/\text{m}^2$ en mujeres definirían el estado "exceso de grasa" en términos de masa grasa.

Las siguientes tablas presentan los valores previstos de FFMI para sujetos masculinos y femeninos, respectivamente, según raza/etnia con edades comprendidas entre los 20 y 90 años (50).

Table 4 Predicted fat-free mass index (\pm s.e.) ($\text{kg}\lambda\text{m}^{-2}$) for male individuals between the ages of 20–90 years

	Caucasian (n = 202)	African American (n = 73)	Hispanic (n = 147)	Asian (n = 58)
20 years	20.81 \pm 0.18	21.66 \pm 0.21	21.09 \pm 0.21	19.31 \pm 0.24
25 years	20.82 \pm 0.14	21.67 \pm 0.17	21.09 \pm 0.16	19.31 \pm 0.21
30 years	20.80 \pm 0.12	21.65 \pm 0.16	21.07 \pm 0.14	19.29 \pm 0.19
35 years	20.74 \pm 0.12	21.59 \pm 0.16	21.02 \pm 0.13	19.24 \pm 0.19
40 years	20.66 \pm 0.13	21.51 \pm 0.16	20.94 \pm 0.14	19.16 \pm 0.20
45 years	20.55 \pm 0.15	21.40 \pm 0.17	20.82 \pm 0.14	19.05 \pm 0.21
50 years	20.41 \pm 0.15	21.26 \pm 0.17	20.69 \pm 0.15	18.91 \pm 0.21
55 years	20.24 \pm 0.16	21.09 \pm 0.17	20.52 \pm 0.15	18.74 \pm 0.21
60 years	20.05 \pm 0.16	20.90 \pm 0.17	20.32 \pm 0.15	18.54 \pm 0.21
65 years	19.82 \pm 0.16	20.67 \pm 0.17	20.09 \pm 0.15	18.32 \pm 0.21
70 years	19.57 \pm 0.16	20.42 \pm 0.17	19.84 \pm 0.17	18.06 \pm 0.22
75 years	19.28 \pm 0.19	20.13 \pm 0.20	19.55 \pm 0.19	17.78 \pm 0.23
80 years	18.97 \pm 0.23	19.82 \pm 0.23	19.24 \pm 0.24	17.46 \pm 0.27
85 years	18.63 \pm 0.29	19.48 \pm 0.29	18.90 \pm 0.30	17.12 \pm 0.32
90 years	18.25 \pm 0.37	19.10 \pm 0.37	18.53 \pm 0.38	16.75 \pm 0.40
Percent decline since turning point (%)	-12.3	-11.8	-12.1	-13.3

The prediction equations for the four ethnic groups were significantly different from each other ($P < 0.001$; Hispanic versus Caucasian $P < 0.04$). FFMI Caucasian ($\text{kg}\lambda\text{m}^{-2}$) = $20.502 + (0.0271915 \times \text{age}) - (0.0005795 \times \text{age}^2)$ FFMI African American ($\text{kg}\lambda\text{m}^{-2}$) = $21.3512 + (0.0271915 \times \text{age}) - (0.0005795 \times \text{age}^2)$ FFMI Hispanic ($\text{kg}\lambda\text{m}^{-2}$) = $20.775 + (0.0271915 \times \text{age}) - (0.0005795 \times \text{age}^2)$ FFMI Asian ($\text{kg}\lambda\text{m}^{-2}$) = $18.997 + (0.0271915 \times \text{age}) - (0.0005795 \times \text{age}^2)$ Percent decline = $(\text{FFMI at 90 years} - \text{FFMI at 24 years}) / (\text{FFMI at 24 years}) \times 100$

Table 5 Predicted fat-free mass index (\pm s.e.) ($\text{kg}\lambda\text{m}^{-2}$) for female individuals between the ages of 20–90 years

	Caucasian (n = 404)	African American (n = 209)	Hispanic (n = 188)	Asian (n = 58)
20 years	16.22 \pm 0.16	17.07 \pm 0.19	16.50 \pm 0.19	14.72 \pm 0.23
25 years	16.47 \pm 0.12	17.32 \pm 0.15	16.74 \pm 0.16	14.97 \pm 0.20
30 years	16.67 \pm 0.10	17.52 \pm 0.14	16.94 \pm 0.14	15.17 \pm 0.19
35 years	16.82 \pm 0.10	17.67 \pm 0.13	17.09 \pm 0.13	15.32 \pm 0.19
40 years	16.92 \pm 0.10	17.77 \pm 0.13	17.20 \pm 0.13	15.42 \pm 0.19
45 years	16.98 \pm 0.11	17.83 \pm 0.14	17.25 \pm 0.13	15.47 \pm 0.20
50 years	16.98 \pm 0.12	17.83 \pm 0.14	17.25 \pm 0.13	15.48 \pm 0.20
55 years	16.94 \pm 0.12	17.79 \pm 0.14	17.21 \pm 0.13	15.43 \pm 0.20
60 years	16.85 \pm 0.12	17.70 \pm 0.13	17.12 \pm 0.13	15.34 \pm 0.20
65 years	16.71 \pm 0.12	17.56 \pm 0.13	16.98 \pm 0.13	15.20 \pm 0.20
70 years	16.52 \pm 0.12	17.37 \pm 0.13	16.79 \pm 0.13	15.01 \pm 0.20
75 years	16.28 \pm 0.13	17.13 \pm 0.14	16.56 \pm 0.15	14.78 \pm 0.20
80 years	16.00 \pm 0.16	16.85 \pm 0.17	16.27 \pm 0.18	14.49 \pm 0.22
85 years	15.66 \pm 0.21	16.51 \pm 0.21	15.94 \pm 0.22	14.16 \pm 0.25
90 years	15.28 \pm 0.26	16.13 \pm 0.27	15.56 \pm 0.28	13.78 \pm 0.30
Percent decline since turning point (%)	-10.0	-9.5	-9.9	-11.0

The prediction equations for the four ethnic groups were significantly different from each other ($P < 0.001$; Hispanic versus Caucasian $P < 0.04$). FFMI Caucasian ($\text{kg}\lambda\text{m}^{-2}$) = $14.752 + (0.0929701 \times \text{age}) - (0.0009674 \times \text{age}^2)$ FFMI African American ($\text{kg}\lambda\text{m}^{-2}$) = $15.602 + (0.0929701 \times \text{age}) - (0.0009674 \times \text{age}^2)$ FFMI Hispanic ($\text{kg}\lambda\text{m}^{-2}$) = $15.025 + (0.0929701 \times \text{age}) - (0.0009674 \times \text{age}^2)$ FFMI Asian ($\text{kg}\lambda\text{m}^{-2}$) = $13.247 + (0.0929701 \times \text{age}) - (0.0009674 \times \text{age}^2)$ Percent decline = $(\text{FFMI at 90 years} - \text{FFMI at 48 years}) / (\text{FFMI at 48 years}) \times 100$.

En resumen, los intervalos de referencia de FMI vs FFMI pueden ser utilizados como valores indicativos para evaluación del estado nutricional de sujetos sanos. Además, pueden proporcionar información complementaria a la expresión clásica de valores de composición corporal de referencia. Pero, curiosamente, estos índices no han encontrado una amplia aplicación, probablemente porque no se han definido patrones de referencia apropiados.

2.4 Fenotipos de composición corporal

En la composición corporal podemos hablar de varios fenotipos.

- *Sarcopenia*. Su definición se basa en los criterios propuestos por Janssen et al. (51), que definen la sarcopenia como un índice de masa magra $\leq 5.75 \text{ kg/m}^2$ en las mujeres y $\leq 8.50 \text{ kg/m}^2$ en los hombres. Estos valores han sido validados y se sabe que son altamente predictivos de discapacidad física (52).

- *Obesidad (overfat)*. Comúnmente se define como un IMC $\geq 30 \text{ kg/m}^2$. Otras formas de medición son los propuestos por Cesari et al (53) que utiliza puntos de corte según porcentaje de grasa corporal estratificados por edad, sexo, y raza, o los utilizados por Schutz (48) que proporcionan valores de percentiles según edad y sexo.

- *Obesidad sarcopénica*. Se define como el cumplimiento de los criterios tanto para sarcopenia como para obesidad.

2.5 Adiposidad abdominal

El tejido adiposo es más que un depósito de almacenamiento pasivo, se trata de un órgano dinámico y activo metabólicamente con capacidad de producir mediadores con efectos sobre el metabolismo, el sistema inmune y la homeostasis vascular. En particular, el tejido adiposo situado alrededor del mesenterio y omento (lo que conocemos como grasa visceral) está muy asociado con la resistencia a la acción de la insulina y la enfermedad cardiovascular. La grasa visceral se correlaciona más fuertemente con los factores de riesgo para infarto agudo de miocardio que el IMC, total de tejido adiposo, grasa subcutánea, relación cintura-cadera y circunferencia de la cintura. Su determinación nos puede proporcionar una comprensión más

completa del riesgo metabólico asociado con la variación en la distribución de grasa (54). Por el contrario, el tejido adiposo subcutáneo (que se concentra alrededor de las caderas y las nalgas) tiene una asociación más débil con enfermedad cardiovascular (55) (56).

Se sabe que los pacientes con AR expresan patrones de composición corporal anómalos. La relación de esta composición grasa y magra anómalas con el riesgo cardiovascular o con el daño endotelial en estos pacientes está aún por dilucidar.

2.6 Masa ósea

El esqueleto es un órgano dinámico que sufre constantemente cambios y regeneración y está constituido por células especializadas de hueso, matriz de tejido conectivo mineralizado y no mineralizado, médula ósea, canales vasculares, canalículos, y lagunas que contienen osteocitos. También contiene agua, que representa al menos el 25 % de su peso y le confiere parte de su resistencia y fuerza. El esqueleto se divide entre el componente axial (cráneo, columna, esternón y costillas) y el componente apendicular que se refiere a los huesos largos. Existen dos tipos de hueso en el esqueleto adulto: el hueso cortical y el hueso trabecular. El primero es denso y compacto y constituye la parte externa de todas las estructuras esqueléticas, contando como el 80% del peso del esqueleto, siendo sus funciones principales las de proporcionar resistencia mecánica y protección, aunque puede participar en la respuesta metabólica cuando hay déficit severo o prolongado de la mineralización ósea. El segundo, se encuentra dentro de los huesos largos, de los cuerpos vertebrales, pelvis y otros grandes huesos planos, siendo más metabólicamente activo que el hueso cortical y proporcionando los suministros iniciales de mineral en estados agudos de deficiencia del mismo.

Después de que el esqueleto ha alcanzado la madurez, la regeneración continúa en forma de un reemplazo periódico de hueso viejo con hueso nuevo en el mismo lugar, un proceso llamado remodelación. En el caso de la osteoporosis existe un exceso de actividad de los osteoclastos o una insuficiente actividad reparativa de los osteoblastos (57).

Varias hormonas, citoquinas, factores de crecimiento... influyen en el nacimiento, la muerte, y la función de las células óseas. Los principales reguladores sistémicos son la hormona paratiroidea (PTH) (58), el calcitriol, hormona del crecimiento/factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I), glucocorticoides (59), hormonas tiroideas y hormonas sexuales (60). Igualmente, entre los metabolitos óseos nos encontramos con dos que van a tener relevancia en este tema, una es la osteoprotegerina (OPG) y otro la vitamina D.

La osteoprotegerina (OPG) es un miembro de la familia del TNF que se une a RANKL, evitando su interacción con el RANK e inhibiendo la diferenciación osteoclástica. Están emergiendo evidencias sobre que la osteoprotegerina participa en la patogénesis de la aterosclerosis y de las enfermedades cardiovasculares de manera que amplifica los efectos adversos asociados a la inflamación y los factores de riesgo clásicos como la dislipemia, disfunción endotelial, la diabetes mellitus y la hipertensión arterial (61, 62). Algunos estudios epidemiológicos han demostrado una asociación positiva entre los niveles de OPG y la morbimortalidad cardiovascular (63, 64).

Con respecto a la vitamina D, los estudios observacionales han mostrado una asociación entre niveles bajos de vitamina D y riesgo cardiovascular (65). En un meta-análisis de 19 estudios prospectivos que abarcaba a la población general (65,994 pacientes), se encontró una relación inversa entre niveles de 25 hidroxivitamina D y riesgo de enfermedad cardiovascular (riesgo relativo de 1,03, IC 95% 1,00-1,60, por disminución de 10 ng/mL en suero de 25[OH] vitamina D) (64).

3 Disfunción endotelial y riesgo cardiovascular

El endotelio mantiene el tono del vaso sanguíneo (controlando la vasoconstricción y vasodilatación), regula la hemostasia, actúa como barrera para materiales potencialmente tóxicos, regula la inflamación, controla la angiogénesis y mantiene una óptima permeabilidad vascular. Las células endoteliales liberan óxido nítrico que es un mediador paracrino cuyos efectos biológicos son la vasodilatación, la angiogénesis y la proliferación de las células endoteliales. La disfunción endotelial

se refiere a la incapacidad del endotelio para realizar alguna de las funciones previamente descritas y la causa principal de esta disfunción es un desequilibrio entre la producción (disminuida) y el consumo (aumentado) de óxido nítrico, siendo la principal consecuencia la incapacidad del vaso para dilatarse adecuadamente. Además, la disfunción endotelial crea una serie de condiciones favorables para la activación y adhesión de plaquetas y leucocitos, así como la activación de citoquinas que aumentan la permeabilidad de la pared del vaso al paso de lipoproteínas oxidadas y mediadores de la inflamación. Esto resulta finalmente en daño estructural de la pared arterial con la proliferación de las células del músculo liso y la formación de la placa aterosclerótica. De tal manera que la aterosclerosis es la entidad clínica más frecuentemente asociada con la disfunción endotelial, que surge por la presencia de factores como diabetes, hipertensión o dislipemia.

La función endotelial puede medirse de manera directa o indirecta, dentro de ésta última disponemos de un método no invasivo como es la ecografía de la arteria braquial (66-68). Se ha visto que la disfunción endotelial medida por esta técnica se asocia con una mayor tasa de eventos adversos cardiovasculares durante un período de seguimiento de cinco años (67). La dilatación mediada por flujo (*flow mediated dilatation -FMD-*) se ha relacionado con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular en los pacientes con ya factores de riesgo de enfermedad cardiovascular conocidos (69). Por otra parte, los datos de un meta análisis proporcionan evidencia de que la dilatación mediada por flujo podría utilizarse como un indicador pronóstico independiente de futuros eventos cardiovasculares (70).

Mientras que algunos han argumentado que hay escasos datos que hagan de la dilatación mediada por flujo un factor que incrementa el riesgo cardiovascular (71), otros abogan por el uso de los datos que obtenemos con la dilatación para proporcionar una estratificación adicional de factores de riesgo de enfermedad cardiovascular o para evaluar respuesta a tratamientos (72, 73).

Así pues, dada la relación de la disfunción endotelial con ateromatosis subclínica sería de interés su medición en pacientes con AR dada la elevada morbi-mortalidad cardiovascular que presentan.

4 Composición corporal y adiposidad abdominal en AR

La obesidad se ha demostrado por medio de estudios prospectivos, a largo plazo y usando análisis multivariante, que es un factor de riesgo independiente para todas las causas de mortalidad tanto en hombres como en mujeres (42). Además podría promover cambios ateroscleróticos preclínicos por un efecto directo en la fisiología vascular (74). La *American Heart Association* también ha identificado la obesidad como un factor de riesgo independiente para enfermedad coronaria, y lo ha hecho basándose en muchos estudios que han demostrado una relación lineal y longitudinal entre obesidad y enfermedad coronaria (75).

Otros estudios han demostrado que la adiposidad central y la masa magra corporal total están asociadas con un riesgo incrementado de morbilidad y mortalidad (76, 77). Por ejemplo, a cualquier nivel de IMC, el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular, tanto en hombres como en mujeres, se incrementa a medida que aumentan los niveles de grasa abdominal (78). Por otro lado, la pérdida de masa muscular esquelética y de fuerza, un proceso conocido como *sarcopenia*, se ha asociado con disminución de la funcionalidad, resistencia insulínica, fatiga, fracturas y mortalidad (79). Aunque la sarcopenia ha sido menos estudiada que la obesidad, también se ha relacionado con aterosclerosis (80).

La composición corporal en los pacientes con AR normalmente está alterada, con cambios que conllevan aumento de masa grasa corporal y disminución de masa magra, incluso con un IMC normal (47).

Esto último se podría explicar por un acumulo preferencial de la grasa corporal en un compartimento determinado, como lo es el visceral, y/o un aumento compensatorio de la masa grasa para contrarrestar la reducción de la masa magra. La imagen del paciente con AR como un paciente caquético está ya desfasada, con menos de un 1% de AR con IMC < 18.5 kg/m², porcentaje similar al que encontramos en los pacientes sin AR. Parece que los efectos sobre la composición corporal se desarrollan pronto en el curso de la enfermedad. Esta anomalía en su composición corporal es lo que va a llevar a una función física disminuida y a tener mayor riesgo cardiometabólico.

Las diferencias entre pacientes y controles en relación a la masa grasa corporal son mayores en el caso de las mujeres, incluso ajustando por variables confundidoras potenciales, y se ha visto que un incremento en la grasa abdominal visceral y en la grasa epicárdica son predictivas de aumento del riesgo cardiometabólico y de síndrome metabólico (56, 81). De manera que, el incremento en la grasa visceral que se observa en la población con AR, se relaciona con un aumento medio del 50% en las tasas de eventos cardiovasculares y en la mortalidad cardiovascular, en comparación con población sin AR. Dos factores se han identificado en la AR con ese aumento de la grasa visceral y son la presencia de factor reumatoide y la exposición acumulada a esteroides. El porqué de la asociación con el FR no está claro, dado que no hay vínculo biológico entre FR y el acumulo de tejido adiposo. Aunque sí podría ser plausible con los esteroides que parecen afectar al consumo de glucosa y a los receptores de insulina en el adipocito visceral, no subcutáneo, incrementando en consecuencia el depósito de ácidos grasos dentro del adipocito visceral que va a incrementar su tamaño.

De manera similar, la densidad muscular en muslos está disminuida en pacientes comparado con controles (82, 83), y es un indicador potente de funcionalidad, de tal manera que cada incremento de mg/cm^3 en la densidad muscular de los muslos se asocia con un HAQ bajo y un aumento en scores como el SF-36. En general, existen una serie de predictores de una composición corporal alterada como son, edad avanzada, larga duración de la enfermedad, actividad elevada, factor reumatoide positivo, sedentarismo, y ausencia de tratamiento con FAMES (82) (47).

En los pacientes con AR se ha sugerido el término de *caquexia reumatoide*, consistente en una disminución de la masa libre de grasa, como expresión de una alteración de su composición corporal. Y esto, no siendo directamente fatal, contribuye de manera relevante a la comorbilidad y el decremento de la calidad de vida de los pacientes. Teniendo en cuenta que el músculo es el depósito principal de proteínas del cuerpo, una depleción de las mismas debilita la adaptación al estrés metabólico y la habilidad de los pacientes para hacer frente a infecciones y enfermedades concurrentes. Este término de *caquexia reumatoide* fue descrito por Sir James Paget en 1873, y como tal, se utilizó y utiliza para describir la pérdida

de masa esquelética que ocurre en dos tercios de la población con AR de larga duración, y que generalmente se da sin pérdida de masa grasa o pérdida de peso general.

La etiología de la caquexia reumatoide es multifactorial e incluye producción aumentada de TNF e IL-1 β , reducción de la acción periférica de la insulina, y baja actividad física, siendo ésta última característica la que predispone a ganar peso y a desarrollar obesidad sarcopénica (84). Aunque estudios recientes han demostrado que una parte considerable de los pacientes son obesos o tienen sobrepeso (47, 85). En relación a esto último el grupo de *Stavropoulos* realizó un estudio comparando los IMC y la grasa corporal de la AR respecto a pacientes con artrosis y a población sana, y sus resultados indicaron que para una determinada grasa corporal, los pacientes con AR tenían un IMC significativamente inferior, al menos 2 kg/m², en comparación con población general. Por dicho motivo propusieron el disminuir el punto de corte de sobrepeso y obesidad a 23 y 28 kg/m², respectivamente, para los pacientes con AR, por lo que se encontró una prevalencia mayor de estos fenotipos entre los pacientes (45% sobrepeso y 37% obesidad) (86). Aunque estos puntos de corte deben ser validados en estudios longitudinales a largo plazo.

Esta alteración en la composición corporal en conjunto con un estado crónico proinflamatorio y combinado con factores adicionales que a menudo concurren en estos pacientes (por ejemplo baja actividad física, rigidez articular, cambios metabólicos, tratamiento con corticoides y con AINEs, dolor y desuso a nivel muscular), va a contribuir al proceso de aterosclerosis acelerado que se observa en la AR (38, 87, 88).

5 Masa ósea en AR

Los pacientes con AR experimentan una pérdida generalizada de hueso como resultado de una resorción ósea que excede al proceso de formación del hueso. La pérdida ósea en esta enfermedad podría ser sistémica, periarticular o focal, y está causada, en general por la inmovilidad, por la inflamación mediada por citoquinas (TNF y la IL-1) o por los efectos del tratamiento con glucocorticoides (89). La

disminución de la masa ósea secundaria a la enfermedad por si misma está separada de la osteopenia inducida por los esteroides; sin embargo, en algunos pacientes, la enfermedad y el tratamiento son aditivos, produciendo una sustanciosa morbilidad. Los estudios han demostrado que los pacientes con AR tienen un riesgo aumentado del 30% de sufrir una fractura osteoporótica y un riesgo aumentado del 40% de fractura de cadera (90). Estos pacientes son los que son propensos a pérdida de altura, a fracturas vertebrales compresivas sintomáticas, y a fracturas de estrés de metatarsos o huesos largos en las piernas. Los pacientes que desarrollan fracturas están a menudo inmovilizados durante largos períodos; esta deficiencia de soporte de peso normal, amplifica la pérdida ósea al disminuir la formación de hueso nuevo, mientras que la resorción ósea continúa a un ritmo acelerado.

Una característica típica de la AR son las erosiones óseas debidas a la activación de los osteoclastos y por la invasión del pannus sinovial. Su presencia se correlaciona con osteoporosis en los primeros años de la enfermedad, aunque esta relación se empaña por otros factores confundidores (91). Aparte del proceso de la enfermedad en sí y del uso de esteroides hay otros factores que están asociados con un incremento del riesgo de osteoporosis en estos pacientes: postmenopausia, diagnóstico previo de osteoporosis, grado de invalidez, edad avanzada, sexo femenino, actividad física inadecuada, historia familiar de osteoporosis, duración de la enfermedad, tabaco...

La aterosclerosis y la osteoporosis parecen estar correlacionados de manera independiente en cuanto a la edad y la epidemiología en la población general (92). Los pacientes con osteoporosis tienen mayores niveles de calcificación a nivel vascular que aquellos que tienen una densidad mineral ósea normal (93, 94) y las evidencias clínicas nos han demostrado que la osteoporosis se asocia de manera independiente con eventos cardiovasculares (95, 96) y con el incremento de la mortalidad cardiovascular (97). Por otro lado, la calcificación a nivel vascular se ha relacionado con incremento del riesgo de fractura (98). Los principales avances en el conocimiento de la fisiopatología subyacente a la osteoporosis y su nexa con el daño vascular nos indican que estos dos procesos podrían compartir una etiopatogenia común. En ella parecen estar implicadas proteínas del metabolismo

óseo como son la vitamina D y el receptor activador del eje RANKL-RANK-OPG (receptor activador del factor nuclear κ B ligando-receptor activador del factor nuclear κ B – osteoprotegerina).

Nuestro grupo, en estudios recientes que hemos realizado, ha encontrado una asociación entre aterosclerosis subclínica severa y niveles de OPG en pacientes en los que no existía evidencia clínica de enfermedad cardiovascular y estaban en tratamiento con terapia antiTNF debido a enfermedad activa (99). Curiosamente, la asociación entre OPG con engrosamiento de la pared intima-media carotídea y con la presencia de placas en la carótida, fue independiente de la presencia de factores de riesgo clásicos, de los niveles de proteína C reactiva (PCR) o de la actividad de la enfermedad (99). En los pacientes con una AR severa las concentraciones de OPG se asociaron con *ICAM-1*, una molécula de adhesión intracelular, que es un biomarcador de activación de la célula endotelial (99). Recientemente, en una cohorte diferente de pacientes con AR no seleccionados, observamos que los niveles de OPG eran mayores en los pacientes con enfermedad cardiovascular en comparación con aquellos que no la padecían, independientemente de características demográficas, factores de riesgo clásicos, adiposidad y/o características de la enfermedad (100). La OPG y la vitamina D se encontraron, respectivamente, reguladas al alza y a la baja, en pacientes con respecto a controles (101, 102).

La osteoporosis, la calcificación vascular y los eventos cardiovasculares parecen estar estrechamente vinculados, independientemente de la edad. No obstante, en pacientes con AR, la relación entre la función endotelial y la OPG, la vitamina D y la densidad mineral ósea no se ha dilucidado completamente, así como tampoco se ha estudiado por completo la aparente relación entre una composición corporal alterada y enfermedad cardiovascular en los pacientes con AR.

HIPÓTESIS

La AR es una enfermedad con alteraciones de la composición corporal tanto en sus compartimentos graso, magro y óseo así como en sus localizaciones abdominales o apendiculares. Estas alteraciones, así como diversos metabolitos relacionados, pueden tener un papel sobre el daño endotelial que la enfermedad provoca *per se*.

OBJETIVOS

- 1. Estudiar si los pacientes con AR muestran diferencias en comparación a controles en los compartimentos corporales graso, magro y óseo.**
- 2. Estudiar si los compartimentos grasos abdominal y visceral son diferentes en pacientes con AR en comparación a controles.**
- 3. Estudiar si la frecuencia de fenotipos corporales tipo sarcopenia u obesidad es diferente entre controles y pacientes con AR.**
- 4. Estudiar si la presencia de disfunción endotelial mediante FMD es diferente entre pacientes y controles.**
- 5. Determinar si la disfunción endotelial se relaciona con determinados patrones de composición corporal utilizando a la enfermedad como factor de interacción.**
- 6. Determinar si los niveles de vitamina D y osteoprotegerina, conocidos factores asociados con daño endotelial, son diferentes en pacientes y controles y si se relacionan con el daño endotelial de estos.**

MATERIAL Y MÉTODOS

1 Pacientes

Se seleccionaron 111 pacientes con AR y 105 controles procedentes de las consultas externas del Servicio de Reumatología del Hospital Universitario de Canarias en Tenerife. Este estudio se realizó entre junio de 2010 y julio de 2012. Todos los pacientes fueron seleccionados de este servicio mediante reclutamiento consecutivo en consultas externas hospitalarias o de centros de atención especializada. Se les ofreció participar a los pacientes de forma sucesiva cuando eran atendidos en la consulta dentro de la práctica habitual. Se incluyeron tanto pacientes varones como mujeres. Todos los pacientes eran mayores de 18 años y cumplían los criterios diagnósticos para la enfermedad ACR/EULAR publicados en 2010(19). Todos ellos habían sido diagnosticados en nuestras consultas externas y eran seguidos periódicamente en ellas y tenían más de un año de duración de la enfermedad. De igual modo, dado que es habitual que los pacientes tomen esteroides, la toma de esteroides no fue un criterio de exclusión para ser incluido en este estudio. No obstante, sólo se incluyeron aquellos pacientes que tomaran una dosis inferior a 12.5 mg/día. La dosis de corticoides se midió como dosis media de los últimos 3 meses previos a la inclusión en el estudio.

Los sujetos controles fueron pacientes que también hubieran sido valorados en consultas externas pero con patología articular benigna tipo osteoartritis, omalgia, dolor lumbar inespecífico, etc. Dado que asumimos que esta patología se padece a mayor edad, el reclutamiento de estos pacientes, fue estratificado por edad, para que, por tanto, no hubiera diferencias en la edad de los pacientes y controles. Los controles se reclutaron durante el mismo periodo en que los pacientes con AR fueron seleccionados. Todos los controles pertenecían a la misma área geográfica que los pacientes con AR, y fueron también seleccionados con la misma proporción de sexo en comparación a estos.

Los pacientes y controles fueron excluidos si tenían historia de cualquier evento cardiovascular tipo cardiopatía isquémica, ictus, aneurisma de aorta o angina. También se excluyeron todos aquellos con un filtrado glomerular inferior a 60 ml/min m², historia de cáncer o infección. Toda esta información se recogió durante la entrevista de la visita del estudio y también de los registros de la

historia clínica. Ninguno de los controles recibía esteroides. Ningún paciente ni control estaba haciendo dieta para adelgazar o tomando fármacos específicos con este fin.

Este estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario de Canarias y todos los sujetos firmaron un consentimiento informado para participar en el mismo.

2 Recolección de datos

La entrevista a los pacientes y la consulta de sus historias clínicas fue idéntica en pacientes y controles salvo por cuestiones específicas que se preguntaron a los pacientes con AR en relación a su enfermedad. Los pacientes y controles completaron un cuestionario de riesgo cardiovascular y también un cuestionario sobre la medicación que tomaban. Se les realizó una exploración física estándar junto con una medición de datos antropométricos y de la presión arterial. Esta última se tomó por triplicado tras reposo durante 10 minutos realizando una media de las determinaciones. El peso se tomó para una calibración de 100 gr con el sujeto permaneciendo de pie en una pesa digital (SECA, Hamburgo, Alemania). La altura se tomó permaneciendo el paciente en bipedestación en un estadiómetro (SECA) para una calibración de 1 cm. La circunferencia del brazo se determinó en la parte media del mismo con una cinta métrica y se cuantificó como centímetros.

El índice de masa corporal (IMC) se calculó como el peso (Kg) dividido por la altura (m^2). La obesidad mediante IMC se definió como un $IMC \geq 30$ kg/m^2 . En lo referente a la circunferencia abdominal se consideró obesidad si la cintura era superior a 88 cm en mujeres y a 102 en varones (103). La circunferencia abdominal se midió como la mínima distancia entre las últimas costillas y la cresta iliaca con el sujeto en bipedestación. La circunferencia de la cadera se midió como la circunferencia mayor entre los muslos y la cintura. El ratio entre ambos se calculó como la división entre ambas distancias, circunferencia abdominal entre circunferencia de cadera, y esta se expresó con dos decimales.

El riesgo cardiovascular se calculó según el *Systematic Coronary Risk Evaluation* (SCORE)(104) para un riesgo de muerte a los 10 años tanto en pacientes como

controles. Para los pacientes con AR se corrigió, según se ha descrito previamente (105), multiplicando por un factor de 1,5 si al menos una de las siguientes características estaban presentes: duración de la enfermedad de más de 10 años, positividad para factor reumatoide o para anticuerpo antipéptido citrulinado, o presencia de manifestaciones extrarticulares. Los pacientes se categorizaron como de riesgo muy alto, alto, moderado o bajo según(106): (1) *Riesgo muy alto* si los sujetos cumplían: (a) enfermedad cardiovascular documentada mediante un método invasivo o no invasivo (angiografía coronaria, imagen de medicina nuclear, ecocardiografía de estrés, placa carotídea mediante ecografía), infarto de miocardio previo, síndrome coronario agudo, revascularización coronaria u otro procedimiento de revascularización arterial, ictus isquémico o enfermedad vascular arterial periférica; (b) diabetes mellitus tipo 1 o tipo 2 con uno o más factores de riesgo cardiovascular y/o daño orgánico tal como microalbuminuria 30-300 mg/24h; (c) enfermedad renal crónica severa (tasa de filtrado glomerular=30 ml/min/1.73 m²); (d) SCORE calculado $\geq 10\%$. (2) *Riesgo alto* en sujetos con cualquiera de los siguientes: (a) presencia única de cualquiera de los factores de riesgo tales como dislipemia familiar o hipertensión severa; (b) diabetes mellitus tipo 1 o tipo 2 pero sin factores de riesgo cardiovascular en órgano diana; (c) enfermedad renal crónica moderada (tasa de filtrado glomerular = 30–59 ml/min/1.73 m²); (d) SCORE calculado $\geq 5\%$ y $< 10\%$ para un riesgo de mortalidad de enfermedad cardiovascular a 10 años; (3) *Riesgo moderado*: si SCORE $\geq 1\%$ y $< 5\%$ a los 10 años; (4) *Bajo riesgo* se aplica a individuos con SCORE $< 1\%$ y libres de calificadores que los situaran como riesgo moderado.

3 Determinaciones analíticas

La *vitamina D* se determinó mediante radioinmunoensayo (DIAsource ImmunoAssays). Se estimaron una precisión interensayo de 7.2 to 7.3% e intraensayo de 7.2 to 8.7%. Los niveles de vitamina D se categorizaron según la revisión sistemática de *Institute of Medicine (IOM)*(107) en déficit (<15 ng/mL), deficiencia (15-30 ng/mL), y normal (>30 ng/mL).

La *osteoprotegerina* se determinó mediante ELISA. De forma resumida, 96 pocillos fueron marcados con anticuerpos anti osteoprotegerina (Peprotech). Se utilizó

osteoprotegerina humana recombinante (Peprtech) para determinar la curva estándar. Las diluciones tuvieron un rango de 0.313 a 20 ng/ml. Primero, 50 µl de cada muestra se añadieron a los pocillos y se incubaron durante 3 horas a temperatura ambiente. Posteriormente se desechó la solución y la placa se lavó 4 veces; 50 µl de anti osteoprotegerina humana se añadieron a cada pocillo y se incubó durante 1 hora. Después de lavar el anticuerpo biotinilado no unido, 50 l de peroxidasa (HRP) conjugado con avidina (eBioscience) se pipeteó en los pocillos y se incubó durante 30 minutos. Finalmente, las placas se desarrollaron con ABTS líquido de sustrato (Peprtech) y se leyó a 405 y 600 nm (longitud de onda como referencia). Se utilizaron técnicas estándar para medir la PCR en plasma, la velocidad de sedimentación globular (VSG) y lípidos séricos.

4 Adiposidad abdominal mediante resonancia magnética

La distribución de grasa abdominal se realizó mediante resonancia magnética estimando la grasa visceral y parietal o subcutánea en mm². Se realizaron imágenes T1 contiguas desde el diafragma hasta la sínfisis del pubis mediante un dispositivo *General Electric 1.5 Tesla Magneto Signa Horizon*. El campo de imagen se hizo lo suficientemente grande como para ilustrar todo la sección del abdomen. Se seleccionó la imagen más cercana al ombligo para su posterior análisis. Esta imagen se transfirió a otra estación de trabajo donde un radiólogo experimentado de nuestro centro que era ciego para la asignación de los pacientes y controles realizó el análisis. La grasa intraabdominal o visceral y subcutánea se calcularon mediante la exclusión manual de musculo, hueso, vasos y estructuras gastrointestinales(108).

5 Composición corporal mediante DEXA. Definición de fenotipos de obesidad y sarcopenia.

La composición corporal total y por regiones se determinó mediante DEXA (*Dual Energy X-ray absorptiometry*) por medio de un dispositivo *Lunar Prodigy DXA System*. DEXA ha sido validado como método para la determinación de

composición corporal tanto en sujetos jóvenes como de mayor edad. Tiene una reproducibilidad óptima y es sensible a pequeños cambios (109).

La masa grasa (MG) y masa libre grasa (MLG) se definieron a partir de los valores obtenidos por DEXA según las siguientes fórmulas:

$$MLG = \frac{\text{masa libre de grasa}}{\text{altura}^2} \left(\text{kg}/\text{m}^2 \right)$$

$$MG = \frac{\text{masa grasa}}{\text{altura}^2} \left(\text{kg}/\text{m}^2 \right)$$

$$MM = \frac{\text{masa magra}}{\text{altura}^2} \left(\text{kg}/\text{m}^2 \right)$$

Téngase en cuenta que, matemáticamente, $\text{IMC} \left(\text{kg}/\text{m}^2 \right) = \text{masa grasa} \left(\text{kg}/\text{m}^2 \right) + \text{masa libre de grasa} \left(\text{kg}/\text{m}^2 \right)$.

De forma suplementaria se determinaron también los siguientes índices/ratios:

- ratio de porcentaje de masa grasa del tronco / porcentaje de masa grasa de extremidades.
- masa grasa apendicular / m^2 .
- masa magra apendicular / m^2 .
- masa magra apendicular / masa magra total.
- masa grasa apendicular / masa grasa total.
- masa magra apendicular / masa magra del tronco.
- masa magra apendicular / masa grasa del tronco.

5.1 Definición de Gallagher

Para la estimación de normalidad en los valores de masa grasa se utilizaron los valores de *Gallagher et al*(110) . El estudio citado se basa en una investigación realizada en 3 grupos étnicos (raza blanca, asiática y afroamericana) realizado en 1626 sujetos. Mediante un modelo multivariante predictivo basado en edad, sexo, raza e IMC se diseñaron fórmulas que definen los valores normales de masa grasa según edad y para los tres valores de IMC de bajo peso (≤ 18.5), sobrepeso (≥ 25) y obesidad (≥ 30). Se definió como valor superior a la normalidad en masa grasa si

los valores, según edad, sexo, raza e IMC, eran superiores a los definidos en la tabla siguiente.

Predicted percentage body fat by sex and ethnicity based on 4-compartment estimates of percentage body fat¹

Age and BMI	Women			Men		
	African American	Asian	White	African American	Asian	White
	%					
20–39 y						
BMI < 18.5	20	25	21	8	13	8
BMI ≥ 25	32	35	33	20	23	21
BMI ≥ 30	38	40	39	26	28	26
40–59 y						
BMI < 18.5	21	25	23	9	13	11
BMI ≥ 25	34	36	35	22	24	23
BMI ≥ 30	39	41	41	27	29	29
60–79 y						
BMI < 18.5	23	26	25	11	14	13
BMI ≥ 25	35	36	38	23	24	25
BMI ≥ 30	41	41	43	29	29	31

Gallagher et al. Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. The American journal of clinical nutrition. 2000;72(3):694-701.

5.2 Definición de Schutz

Como existe controversia sobre los niveles normales de masa grasa en sujetos normales también se utilizaron los criterios definidos por Schutz(48). Estos criterios tienen la ventaja de que proporcionan valores de percentiles según edad y sexo y permiten, por tanto, una mejor categorización de los valores obtenidos en un estudio como el nuestro. Esta definición fue obtenida tras el estudio de 5.635 sujetos de raza blanca entre 24 y 98 años (todos los sujetos de nuestro estudio son caucásicos).

Table 2 Percentiles values for FFM and FM index in men and women by different age categories

Age (y)	P5		P10		P25		P50		P75		P90		P95	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Fat-free mass index (kg/m²)														
18–34	16.8	13.8	17.2	14.1	18.0	14.7	18.9	15.4	19.8	16.2	20.5	17.1	21.1	17.6
35–54	17.2	14.4	17.6	14.7	18.3	15.3	19.2	15.9	20.1	16.7	21.1	17.5	21.7	18.0
55–74	17.0	14.1	17.6	14.6	18.4	15.4	19.4	16.2	20.3	17.4	21.1	18.4	22.1	19.0
> 75	16.6	12.9	16.9	13.7	17.6	14.7	18.5	15.9	19.4	17.0	20.9	18.1	21.2	18.7
Fat mass index (kg/m²)														
18–34	2.2	3.5	2.5	3.9	3.2	4.6	4.0	5.5	5.0	6.6	6.1	7.8	7.0	8.7
35–54	2.5	3.4	2.9	3.9	3.7	4.8	4.8	5.9	6.0	7.3	7.2	8.8	7.9	9.9
55–74	2.8	4.5	3.4	5.4	4.3	6.5	5.7	8.3	7.2	10.3	8.4	12.0	9.3	13.5
> 75	3.7	4.9	4.3	5.6	5.2	7.5	6.4	9.3	7.6	11.4	9.0	13.5	10.1	14.3

5.3 Definición de Janssen

Los puntos de corte para la definición de sarcopenia que se utilizaron fueron los que se basan en los criterios de Janssen et al(51) que la definen como:

- sarcopenia moderada si el índice de masa magra está comprendido entre 5.76-6.75 kg/m²
- sarcopenia grave si el índice de masa magra es inferior a ≤ 5.75 kg/m²

6 Medición de densidad mineral ósea.

Las mediciones de densidad mineral ósea (DMO) se llevaron a cabo mediante absorciometría dual de rayos X en columna lumbar L1-L4 y cuello femoral (g/cm²) utilizando un densitómetro *Lunar DPX Prodigy* (Lunar, Madison, WI, EE.UU.). También se midieron otras regiones de interés como el triángulo de Ward, diáfisis femoral, cadera total y trocánter. La precisión de las mediciones DEXA fue del 0,8% para la columna lumbar y 1,5% para el cuello femoral. Los resultados para la DMO según las áreas se expresaron como un valor absoluto (g /cm² de contenido mineral óseo con relación al área proyectada) y se transformó a una puntuación T-score utilizando valores estándar derivados de una población española. También se evaluó la DMO de brazos, piernas, tronco, así como corporal total, siendo estos datos expresados como porcentaje de masa corporal (masa ósea dividida por la masa corporal total) en cada una de estas áreas. Los valores de corte para categorizar a los individuos se basaron en los criterios de la Organización Mundial de la Salud(111) para el diagnóstico de la osteoporosis de acuerdo con las siguientes rangos: normal, una DMO no más de 1 desviación estándar (DE) por debajo de joven normal (puntaje T ≥ -1); osteopenia: una DMO entre - 1 y - 2,5 DE debajo del normal (T score < -1 y $> -2,5$); osteoporosis: una DE 2.5 o más por debajo de joven normal (T score ≤ -2.5). Para el propósito de este estudio, cuando fue conveniente, la osteopenia y osteoporosis (puntuación T de -1 a continuación DE) se incluyeron en la misma categoría. Para los pacientes menores de 50 años de edad se utilizaron los términos "dentro del rango esperado para la edad" (Z-score > -2) y "por debajo del rango esperado para la edad" (Z-score < -2 DE).

7 Medición de la dilatación endotelial dependiente de flujo en arteria braquial.

La vasodilatación dependiente de flujo en arteria braquial se determinó mediante ecografía y utilizando un software específico para este fin (*Brachial Tools, version 3.2.6, Medical Imaging Applications*) tal y como se ha descrito previamente (68). Los estudios se realizaron por un único examinador que adquirió las imágenes de la arteria braquial. Los pacientes acudieron en ayunas y el examen se realizó en una habitación con temperatura controlada y tras 10 minutos de reposo. Los pacientes habían estado en ayunas durante al menos 8 horas antes del estudio y todos los medicamentos vasoactivos fueron suspendidos durante al menos 4 vidas medias. Igualmente, los sujetos no habían realizado ejercicio previamente ni habían consumido sustancias que pudieran alterar la dilatación mediada por flujo (FMD, flow mediated dilation). Las imágenes de la arteria braquial fueron adquiridas en la fosa antecubital durante un minuto de forma basal. Posteriormente, se aplicó una presión de 250 mm durante 5 minutos mediante un esfigomanómetro de forma distal en la muñeca. Después de la deflación del mismo se midió, en la misma zona antecubital, la dilatación que se producía durante el minuto posterior. Posteriormente las imágenes fueron analizadas *offline* usando un software específico a este fin (*Medical Imaging Applications*). La dilatación se cuantificó como el cambio, expresado en porcentaje, desde el diámetro basal hasta el pico de dilatación durante los 45-75 segundos después de haber desinflado el esfigomanómetro. Posteriormente, tras 10 minutos de reposo, se midió la dilatación dependiente de endotelio mediante la administración sublingual de 25 µg de nitroglicerina según el mismo protocolo.

8 Análisis estadístico

Las características basales y demográficas de las variables continuas de los pacientes y controles se compararon mediante T de Student para muestras independientes si se cumplían los requisitos para distribución normal. Estas variables se expresaron como media \pm desviación estándar. Para aquellas variables que no cumplieran dicho requisito, los valores se expresaron como

mediana y rango intercuartil o mediante transformación logarítmica, y su comparación se realizó mediante test de U de Mann-Whitney. Las variables binarias se compararon mediante test de Chi cuadrado o mediante test de Fisher según requisitos específicos de estas variables.

La asociación de la composición corporal con la función endotelial se realizó a través de regresión lineal multivariante ajustando por aquellos factores clásicos de riesgo cardiovascular (modelo 1) o ajustando por estos y también por aquellos relacionados con la AR (modelo 2). La relación de la sarcopenia según estratificación con la función endotelial se hizo mediante técnicas de tendencia lineal según contraste de polinomios ortogonales.

De forma similar, la relación entre la masa ósea y la función endotelial se realizó también por análisis multivariante pero ajustando esta vez por factores relacionados con riesgo cardiovascular pero también por dos proteínas asociadas con el metabolismo óseo (osteoprotegerina y vitamina D). En este análisis también se definieron varios modelos. El primer modelo estudió la relación de la DMO con la función endotelial ajustando por edad, sexo e IMC. El segundo modelo fue igual que el modelo 1 pero añadiendo la hipertensión, diabetes, lípidos y tabaquismo. Y el modelo 3 ajustando por las mismas variables que el modelo 1 y 2 pero añadiendo al modelo los niveles plasmáticos de osteoprotegerina y vitamina D. En este análisis también se diseñó una figura que relacionó los niveles de vitamina D y osteoprotegerina (estratificados en forma de cuartiles) con la función endotelial. En esta ocasión la relación estadística se estudió también mediante test de tendencia lineal mediante polinomios ortogonales.

Todos los análisis usaron un 5% de nivel de significación de forma bilateral. Un valor p inferior a 0.05 se consideró estadísticamente significativo. Los análisis estadísticos de esta tesis se realizaron usando *SPSS software, version 21* (IBM, Chicago, IL, USA).

RESULTADOS

1 Caracteres demográficas, analíticas y de actividad.

En este estudio se incluyeron 216 pacientes, 105 controles y 111 pacientes, con una edad media de $55,8 \pm 9,5$ y $54,8 \pm 10,3$ años ($p= 0,44$), respectivamente. El porcentaje de mujeres de la muestra fue aproximadamente del 90% tanto en pacientes como controles.

Sexo y edad			
	<i>Controles</i>	<i>Pacientes</i>	<i>p</i>
Mujer	97 (92)	100 (90)	0,55
Edad años	$55,8 \pm 9,5$	$54,8 \pm 10,3$	0,44

En la tablas siguientes se describen las características demográficas, datos antropométricos, analíticos y relacionados con la enfermedad de los participantes en este estudio considerando hombres y mujeres conjuntamente.

Las medias de IMC y peso fueron similares en ambos grupos. No obstante, en el grupo de los pacientes existió una tendencia a tener una circunferencia abdominal mayor. Así pues, los centímetros de circunferencia abdominal fueron superiores en pacientes en comparación a controles si bien la significación estadística no se alcanzó en el sentido estricto (95 ± 12 vs 98 ± 15 , $p=0,09$).

Antropología			
	<i>Controles</i>	<i>Pacientes</i>	<i>p</i>
Altura, cm	160 ± 8	160 ± 7	0,72
Peso, kg	73 ± 15	75 ± 15	0,31
IMC, kg/m²	$28,3 \pm 4,8$	$29,2 \pm 5,7$	0,25
Cir. abdominal	95 ± 12	98 ± 15	0,09
Ratio cint/cadera	88 (83-92)	90 (84-96)	0,08
Cir. cadera, cm	105 ± 12	108 ± 12	0,58
Cir. bicipital	30 ± 5	30 ± 3	0,88

Cir: circunferencia; IMC: índice de masa corporal; cm: centímetros; Kg: kilogramos

En lo que se refiere a los datos analíticos, tal y como era de esperar, los pacientes con AR mostraron niveles estadísticamente superiores de VSG. Por lo demás, los valores concernientes al perfil lipídico no mostraron diferencias entre pacientes y controles.

Datos analíticos			
	<i>Controles</i>	<i>Pacientes</i>	<i>p</i>
VSG, mm/h	23 ± 14	29 ± 20	0,02
PCR, mg/dL	3,75 ± 3,06	8,27 ± 16,30	0,01
Colesterol, mg/dl	205 ± 36	210 ± 41	0,49
Triglicéridos,mg/dl	112 ± 57	132 ± 76	0,18
HDL, mg/dl	55 ± 11	56 ± 15	0,74
LDL, mg/dl	128 ± 32	129 ± 35	0,91
Apo A1, mg/dl	150 ± 19	151 (141-165)	0,44
ApoB, mg/dl	87 ± 25	90 ± 17	0,65

VSG: velocidad de sedimentación globular; PCR: proteína C reactiva; HDL: high density lipoprotein colesterol; LDL: low density lipoprotein colesterol; Apo: apolipoproteína

En lo que se refiere a la presencia de comorbilidad, la hipertensión arterial fue un rasgo común en ambos grupos con una presencia del 40% en ambos grupos. No obstante, no hubo diferencias entre pacientes y controles en relación a la presencia de esta ($p= 0,44$). Por otro lado, aunque la diabetes mellitus fue más frecuente en pacientes que controles, no se alcanzó diferencia estadísticamente significativa en este sentido ($p= 0.11$).

Datos analíticos			
	<i>Controles</i>	<i>Pacientes</i>	<i>p</i>
Hipertensión(%)	37 (35)	44 (40)	0,44
P. sistólica, mmHg	120 (111-140)	128 (115-140)	0,63
P.diastólica,mmHg	80 (70-82)	80 (70-80)	0,55
Tabaquismo	5 (5)	5 (5)	0,99
Diabetes, n(%)	8 (8)	16 (14)	0,11
Aspirina, n(%)	13 (12)	7 (6)	0,13
Otra enf. n(%)	29 (28)	18 (16)	0,05

P: presión; enf: enfermedad

Los datos relacionados con la enfermedad se describen en la siguiente tabla. Los pacientes en nuestro estudio presentaron una duración media de la AR de 8 años (RIQ, 4-13), siendo ésta predominantemente seropositiva (54%), con un nivel de actividad medido por DAS28 de $3,54 \pm 1,04$ y un HAQ promedio de 0,75 (0,250-1,500). El 80% de los pacientes estaba en tratamiento con metotrexato y, el 44% tomaba además esteroides en una dosis media diaria de 2 mg [RIQ 0-4].

Datos relacionados con la enfermedad	
DAS28	3,54 ± 1,04
HAQ	0,750 (0,250-1,500)
Toma de esteroides, n(%)	49 (44)
Prednisona, mg/día	2 (0-5)
Duración de la enfermedad, años	8 (4-13)
Factor reumatoide, n(%)	60 (54)
Metotrexate, n(%)	89 (80)

DAS28: Disease activity score; HAQ: Health Assessment Questionnaire

Si dentro de la muestra realizamos un análisis de sólo las mujeres, vemos que las características generales no difieren con respecto a lo descrito previamente para el total de la muestra. En general, los datos relativos a antropometría, comorbilidad, presencia de factores de riesgo cardiovascular, uso de aspirina y niveles de PCR, VSG y lípidos plasmáticos fueron similares a los de la muestra conjunta de varones y mujeres.

No obstante, en el caso de las mujeres enfermas, lo que sí se observa es una duración media de la enfermedad de 9,3 (3,0-13,0) años, un grado mayor de actividad de la enfermedad medida por DAS ($3,6 \pm 1$) y un HAQ que también, alcanza un valor medio más elevado, de 0,934 (3,000-1,500) (comparado con el previo de 0,75 (0,250-1,500)).

Sólo mujeres			
	<i>Controles (n=97)</i>	<i>Pacientes (n=100)</i>	<i>p</i>
Edad	55,6 ± 9,3	54,8 ± 10,2	0,57
Datos antropométricos			
Altura, cm	159 ± 7	159 ± 6	0,97
Peso, kg	72 ± 14	74 ± 15	0,31
IMC, kg/m²	28,3 ± 4,9	29,2 ± 5,9	0,21
C. abdominal, cm	94 ± 12	97 ± 16	0,08
Cint/cadera ratio	0,88 (0,83-0,91)	0,90 (0,84-0,95)	0,11
C. cadera, cm	107 ± 12	108 ± 13	0,54
C. bicipital, cm	30 ± 5	30 ± 3	0,88
Comorbilidad			
Hipertensión, n (%)	31 (32)	40 (40)	0,22
P. sistólica, mmHg	120 (110-140)	121 (114-140)	0,68
P. diastólica, mmHg	77 (70-80)	79 (70-81)	0,48
Tabaco, n (%)	2 (2)	3 (3)	0,99
Diabetes, n (%)	7 (7)	15 (15)	0,09
Aspirina, n (%)	10 (10)	6 (6)	0,27
Otra enf., n (%)	28 (30)	16 (6)	0,03
Datos analíticos			
VSG, mm/h	25 ± 14	23 (16-39)	0,10
PCR, mg/L	4,13 ± 3,10	2,50 (1,20-7,20)	0,08
Colesterol, mg/dL	205 ± 37	214 ± 42	0,29
Triglicéridos, mg/dL	106 ± 46	133 ± 77	0,07
HDL-C, mg/dL	54 ± 10	55 ± 14	0,87
LDL-C, mg/dL	130 ± 33	133 ± 35	0,69
Apo-A1, mg/dL	152 ± 16	156 ± 25	0,65
Apo-B, mg/dL	87 ± 28	91 ± 18	0,60
Datos relacionados con la enfermedad			
DAS28	3,6 ± 1,0		
HAQ	0,934 (0,300-1,500)		
En tratamiento con prednisona, n (%)	46 (46)		
Dosis prednisona actual, mg/día	2 (0-5)		
Duración de la enf, años	9,3 (3,0-13,0)		
Factor reumatoide, n (%)	53 (53)		
Metotrexate, n (%)	80 (80)		

2 Composición corporal por DEXA.

	Controles	Pacientes	p
Índices y ratios			
Ind. masa grasa	12336 ± 3563	12907 ± 4215	0,32
Ind. libre de grasa	15867 ± 1965	16300 ± 2126	0,15
Ind. masa magra	14904 ± 1899	15386 ± 2074	0,10
% Grasa tronco / %	1,00 ± 0,12	1,00 ± 0,16	0,91
Masa grasa ap./ m2	5308 ± 1569	5465 ± 1919	0,54
Masa magra ap. / m2	6182 ± 795	6185 ± 940	0,98
Masa grasa ap./total	0,42 ± 0,02	0,40 ± 0,03	0,00
Masa grasa ap./total	0,43 ± 0,08	0,43 ± 0,06	0,56
Masa magra ap./tronco	0,82 ± 0,08	0,78 ± 0,08	0,00
Masa grasa ap./tronco	0,82 ± 0,17	0,81 ± 0,21	0,82

En la tabla superior se describen los valores de masa magra y grasa en pacientes y controles. Los valores de masa ósea ajustados para edad y sexo se describirán en el apartado siguiente.

Los pacientes con AR, más que los controles, tendían a ajustarse a la definición de obesidad basado en el IMC (44% vs 33%, $p = 0,08$). No hubo diferencias, en cambio, entre los controles y los pacientes según la definición de obesidad basado en circunferencia de la cintura (68 vs 69%, $p = 0,86$, respectivamente).

	Controles	Pacientes	p
IMC, kg/m2			
Bajo peso, %(n)	4 (4)	2 (2)	
Normopeso,	23 (22)	27 (26)	0,53
Sobrepeso,	28 (27)	41 (40)	0,06
Obesidad, %(n)	32 (31)	44 (43)	0,08
Cintura, cm	67 (71)	68 (70)	0,86

El índice de masa grasa tendió a ser superior en los pacientes en comparación a controles (12.907 ± 4.215 vs 12.336 ± 3.563 mg, $p = 0,32$), aunque esta diferencia no alcanzó significación estadística. Los ratios masa grasa apendicular/total ($0,4 \pm$

Resultados

0,02 frente a $0,40 \pm 0,03$, $p = 0,00$) y masa magra apendicular/tronco ($0,82 \pm 0,08$ vs $0,78 \pm 0,08$, $p = 0,00$) fueron significativamente inferiores en los pacientes con AR que en los controles.

Las áreas de tejido graso abdominal visceral y parietal (y la relación entre ellos), según la evaluación por medio de resonancia magnética no difirieron entre los pacientes y los controles.

	Controles	Pacientes	p
Resonancia magnética			
Tej. graso visceral	31947 ± 11831	33158 ± 12478	0,55
Tej. graso parietal	10059 ± 4955	10416 ± 5785	0,69
Ratio V/P	$0,32 \pm 0,14$	$0,33 \pm 0,20$	0,74

Cuando se evaluaron los fenotipos de obesidad y sarcopenia, se encontró que el fenotipo obesidad según *Gallagher* era muy frecuente tanto en los pacientes con AR como en los controles (más del 90% en cada grupo). En lo que se refiere a la presencia de sarcopenia, de acuerdo con la definición propuesta por *Janssen et al.*, se observó que tendió a ser mayor en los pacientes con AR en comparación con los controles (13% frente a 6%, $p = 0,06$). Sin embargo, este no fue el caso para las categorías de sarcopenia moderada o ausencia de sarcopenia donde no se encontraron diferencias entre los pacientes y los controles.

	Controles	Pacientes	p
Fenotipos			
Obesidad (Gallagher), n(%)	87 (96)	91 (96)	0,95
Sarcopenia (Janssen), n(%)			
Alta, n(%)	6 (7)	12 (13)	0,06
Moderada, n(%)	34 (37)	35 (37)	0,94
No sarcopenia, n(%)	51 (56)	48 (51)	0,45

3 Masa ósea

En las siguientes tablas se muestran los niveles de masa ósea. El porcentaje de valores de densidad mineral ósea que estaban dentro de la normalidad según la clasificación de la OMS, era mayor en los controles en comparación con los pacientes con AR (46,4% en controles versus 34,4% en pacientes, $p= 0,08$). Por otro lado, aunque la osteoporosis no fue más frecuente en pacientes (12,5% vs. 8,2%, $p=0,70$), sí que la presencia de osteopenia fue significativamente mayor en pacientes (57,4% vs 41,1%, $p=0,048$). En los pacientes con edades inferiores a los 50 años, cuando usamos la categorización “dentro o por debajo de lo esperado para su rango de edad”, no se encontraron diferencias. Cuando este análisis se hizo con los datos de T-score (categorizado para T-score mayores o inferiores a -1 desviación estándar, ajustado esto por edad y sexo) y con los datos de gr/cm² en determinadas áreas, los pacientes expresaron valores inferiores de masa ósea aunque no se alcanzó la significancia estadística en todas las áreas.

	<i>Controles</i>	<i>Pacientes</i>	<i>p</i>
Clasificación de la OMS, n(%)			
Pacientes > 50 años			
Normal (T-score > -1 DE)	49 (46,4)	38 (34,4)	0,0805
Osteopenia (T-score -1--2.5)	43 (41,1)	64 (57,4)	0,05
Osteoporosis (T-score < -2.5)	13 (12,5)	9 (8,2)	0,70
Pacientes < 50 años			
Dentro rango esperado	105 (100)	106 (95,5)	
Por debajo rango esperado	0 (0)	5 (4,5)	0,43

Si consideramos la masa ósea en función de mayor o menor que 1 DE T-score los datos mostraron la misma tendencia siendo inferiores en pacientes en relación a controles. Concretamente esta diferencia fue significativa a nivel de trocánter femoral.

	<i>Controles</i>	<i>Pacientes</i>	<i>p</i>
T-scores, n (%)			
L1L4 T-score			
> -1 DE	70 (66,7)	71 (63,9)	
< -1 DE	35 (33,3)	40 (36,0)	0,67
Cuello femoral T-score			
> -1 DE	77 (73,3)	69 (62,1)	
< -1 DE	28 (26,7)	42 (37,8)	0,14
Triángulo Ward T-score			
> -1 DE	49 (46,7)	54 (48,6)	
< -1 DE	56 (53,3)	57 (51,4)	0,81
Trocánter T-score			
> -1 DE	90 (85,7)	82 (72,1)	
< -1 DE	15 (14,3)	29 (26,1)	0,05
Cadera total T-score			
> -1 DE	85 (80,9)	80 (72,1)	
< -1 DE	20 (19,0)	31 (27,9)	0,20

	<i>Controles</i>	<i>Pacientes</i>	<i>p</i>
Grams/cm² (\pmDE)			
L1-L4	1,111 \pm 0,208	1,089 \pm 0,166	0,02
Cuello femoral	0,901 \pm 0,150	0,884 \pm 0,132	0,11
Triángulo de Ward	0,730 \pm 0,169	0,710 \pm 0,141	0,13
Trocánter femoral	0,806 \pm 0,143	0,782 \pm 0,143	0,03
Diáfisis femoral	1,199 \pm 0,220	1,164 \pm 0,180	0,04
Cadera total	0,994 \pm 0,164	0,965 \pm 0,147	0,02

Si usamos el dato porcentaje de masa ósea en vez de gr/cm², se vio que el primero era significativamente más bajo en pacientes, tras ajustar por edad, sexo e IMC. De esta forma, todas las áreas corporales incluyendo brazos, piernas, tronco y porcentaje total de masa ósea (32,2 \pm 5,8 vs. 34,7 \pm 5,7%, p=0.00) fueron inferiores en las AR cuando se compararon con controles.

	<i>Controles</i>	<i>Pacientes</i>	<i>p</i>
Masa ósea (\pmDE)			
Masa ósea brazos (%)	4,1 \pm 0.8	3,8 \pm 1.0	0,04
Masa ósea piernas (%)	12,8 \pm 2.0	12,1 \pm 2.0	0,02
Masa ósea tronco (%)	11,1 \pm 2.5	9,9 \pm 2.4	0,00
Porcentaje total masa ósea (%)	34,7 \pm 5.7	32,2 \pm 5.8	0,00

4 Niveles de osteoprotegerina y vitamina D.

Los niveles de osteoprotegerina fueron mayores en los pacientes en comparación con los controles sanos (1,52 [IQR 0,96-3,40] vs. 0,84 [0,50-1,46] ng/mL, $p=0,00$). Los pacientes mostraron una tendencia a tener valores inferiores de niveles de vitamina D (33,64 [IQR 27,27-48,28] vs. 42,50 [31,27-48,13] ng/mL, $p=0,10$), pero no se alcanzó la significancia estadística. Cuando se estratificó la vitamina D en déficit, insuficiencia y normal, se observó que la presencia de valores en déficit y valores normales, fueron respectivamente más altos (34,8 vs 18,1 %, $p=0,02$) y más bajos (62,6% vs 78,1%, $p=0,03$) en los pacientes.

	<i>Controles</i>	<i>Pacientes</i>	<i>p</i>
Datos analíticos			
Osteoprotegerina, ng/mL	0,84 (0,50-1,46)	1,52 (0,96-3,40)	0,00
Vitamina D, ng/mL	42,50 (31,27-48,13)	33,64 (27,27-48,28)	0,10
Normal (>30 ng/mL), n(%)	82 (78,1)	72 (62,6)	0,03
Deficiencia (15-30 ng/mL), n(%)	19 (18,1)	40 (34,8)	0,02
Déficit (<15 ng/mL), n(%)	4 (3,8)	3 (2,6)	0,99

5 Relación de la composición corporal con la disfunción endotelial en pacientes con artritis reumatoide.

La relación de la composición corporal con la disfunción endotelial en pacientes con AR se describe en la siguiente tabla y figura extraídas de la publicación final (anexo 1). Ambas tablas y figuras muestran las correlaciones de los índices de

masa grasa y magra y sus respectivos fenotipos con la dilatación mediada por flujo en pacientes con AR y controles.

En este sentido, el IMC y la circunferencia abdominal no se asociaron con la disfunción endotelial en sujetos con AR y controles. Cuando esta relación se estudió con el índice de masa grasa, este índice mostró una relación negativa (por desviación estándar) con la dilatación mediada por flujo en controles tras ajustar por edad, y por la presencia de hipertensión, diabetes y tabaquismo (coef. beta -0,45 [-1,05-0,05], $p=0,03$). Sin embargo, esta asociación no se halló en pacientes con AR incluso ajustando por esta misma comorbilidad (diabetes, hipertensión y tabaquismo) o por covariables relacionadas con la AR.

De forma similar, la presencia del fenotipo 'overfat' basado en la definición de Gallagher mostró una tendencia a expresar valores inferiores de dilatación mediada por flujo en controles (coef. beta -0,81 [-1,73-0,00], $p=0,05$) pero no en pacientes con AR (coef. beta -0,09 [-0,81-0,64], $p=0,81$).

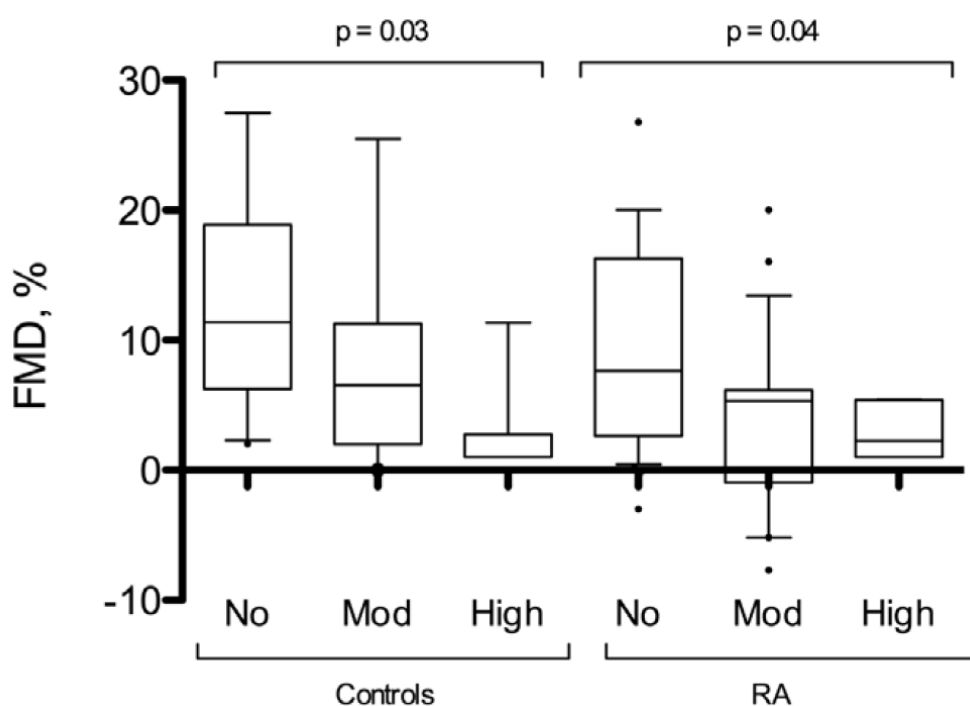
El índice de masa magra (también por desviación estándar) no se asoció con la dilatación mediada por flujo ni en pacientes ni en controles. La grasa visceral abdominal (por desviación estándar) se asoció con valores inferiores de dilatación mediada por flujo (beta coef. -0,60 [-1,18-0,02], $p=0,04$) en controles tras ajustar por hipertensión, diabetes y tabaquismo. Esto no fue así en pacientes con AR incluso ajustando por variables relacionadas con la enfermedad como duración de la misma o variables de actividad clínica o de laboratorio. De forma similar, la grasa abdominal subcutánea y el ratio grasa abdominal visceral/subcutánea no tuvo aparente impacto sobre la disfunción endotelial ni en pacientes ni controles.

Table III. Multivariable-adjusted linear regression models assessing association of adiposity phenotypes to endothelial dysfunction in RA patients and controls.

	log Flow mediated dilation beta coef (95% CI)									
	RA patients				Controls					
	Unadjusted	p	Model 1	p	Model 2	p	Unadjusted	p	Model 1	p
BMI (kg/m ²), per SD	-0.01 (-0.31-0.29)	0.97	-0.07 (-0.53-0.40)	0.77	-0.07 (-0.41-0.28)	0.70	-0.12 (-0.61-0.37)	0.62	0.09 (-0.26-0.43)	0.62
Waist circumference >88 cm	-0.23 (-0.88-0.42)	0.48	-0.07 (-0.80-0.66)	0.85	-0.14 (-0.88-0.61)	0.71	-0.34 (-1.22-0.54)	0.44	-0.38 (-1.23-0.48)	0.37
Overfat Gallagher definition	-0.04 (-0.67-0.59)	0.90	0.17 (-0.54-0.88)	0.62	-0.09 (-0.81-0.64)	0.81	-0.47 (-1.42-0.47)	0.32	-0.81 (-1.73-0.00)	0.05
Fat mass index (fat mass/kg ²), per SD	0.15 (-0.57-0.27)	0.47	-0.07 (-0.55-0.41)	0.77	-0.23 (-0.77-0.33)	0.41	-0.40 (-1.02-0.21)	0.19	-0.45 (-1.05-0.05)	0.03
Lean mass index (lean mass/kg ²), per SD	-0.10 (-0.42-0.22)	0.55	-1.30 (-0.46-0.20)	0.43	-0.10 (-0.45-0.26)	0.58	0.24 (-0.54-1.03)	0.54	-0.11 (-0.95-0.73)	0.78
Visceral abdominal fat*, per SD	0.04 (-0.33-0.41)	0.83	0.21 (-0.22-0.64)	0.34	-0.01 (-0.56-0.54)	0.97	-0.63 (-1.25--0.01)	0.04	-0.60 (-1.18--0.02)	0.04
Subcutaneous abdominal fat*, per SD	-0.20 (-0.57-0.18)	0.30	-0.16 (-0.57-0.25)	0.43	-0.30 (-0.76-0.17)	0.20	-0.13 (-0.78-0.51)	0.67	-0.11 (-0.72-0.51)	0.73
VAF/SAF ratio*	0.06 (-0.33-0.44)	0.77	0.12 (-0.29-0.53)	0.54	0.02 (-0.47-0.50)	0.95	-0.41 (-1.06-0.24)	0.20	-0.30 (-0.96-0.35)	0.34

Model 1 is adjusted for age, hypertension, diabetes, smoking and comorbidity. Model 2 is adjusted for all covariates from Model 1 plus disease duration, rheumatoid factor, corticoids intake, C-reactive protein and DAS28. *By magnetic resonance imaging.

Por otro lado, la relación de la sarcopenia con la dilatación mediada por flujo mostró cierta similitud tanto en pacientes como controles. En este sentido la presencia de sarcopenia alta y moderada se asoció con una menor dilatación braquial mediada por flujo incluso tras ajuste por factores de riesgo cardiovascular y covariables relacionadas con la enfermedad. El análisis estadístico de tendencia confirmó esta asociación (figura).



6 Asociación de la masa ósea, vitamina D y osteoprotegerina con disfunción endotelial

Las siguientes tabla y figura que se muestran de forma original a como aparecieron en el artículo finalmente publicado (anexo 2) muestran la relación entre los valores de masa ósea, osteoprotegerina y vitamina D con la disfunción endotelial.

Table III. Relationship of BMD with FMD in RA patients and controls.

		% FMD, beta coefficient (95% CI)			
		Model 1			
		Controls	<i>p</i> -value	RA patients	<i>p</i> -value
L1L4 T-score < -1 SD		-3.86 (-12.63-4.91)	0.37	1.46 (-6.58-9.50)	0.72
Femoral neck T-score < -1 SD		-8.87 (-17.96-0.23)	0.06	1.33 (-6.80-9.45)	0.75
Ward's triangle T-score < -1 SD		-5.02 (-13.12-3.09)	0.21	-2.41 (-10.14-5.33)	0.54
Throchanther T-score < -1SD		-9.96 (-19.35-0.57)	0.04	-2.59 (-11.65-6.47)	0.57
Total hip T-score < -1 SD		-8.87 (-17.96-0.23)	0.06	-2.58 (-12.48-7.32)	0.60
Model 2					
		Controls	<i>p</i> -value	RA patients	<i>p</i> -value
L1L4 T-score < -1 SD		-4.79 (-14.93-5.36)	0.34	1.58 (-7.14-10.31)	0.72
Femoral neck T-score < -1 SD		-10.20 (-20.41-0.01)	0.05	1.47 (-7.05-9.99)	0.73
Ward's triangle T-score < -1 SD		-5.59 (-14.91-3.72)	0.22	-2.89 (-11.07-5.29)	0.48
Throchanther T-score < -1SD		-10.96 (-21.37-0.55)	0.04	-3.26 (-13.05-6.54)	0.51
Total hip T-score < -1 SD		-10.20 (-20.41-0.01)	0.05	-3.20 (-13.55-7.15)	0.54
Model 3					
		Controls	<i>p</i> -value	RA patients	<i>p</i> -value
L1L4 T-score < -1 SD		2.47 (-11.76-6.82)	0.58	1.16 (-9.37-11.69)	0.82
Femoral neck T-score < -1 SD		-8.73 (-16.88-0.34)	0.05	1.25 (-9.98-12.47)	0.82
Ward's triangle T-score < -1 SD		-3.61 (-12.24-5.02)	0.38	-3.50 (-15.25-8.24)	0.55
Throchanther T-score < -1SD		-9.67 (-19.37-0.03)	0.04	-6.28 (-19.75-7.20)	0.35
Total hip T-score < -1 SD		-8.27 (-16.88-0.34)	0.05	-4.61 (-17.71-8.48)	0.48

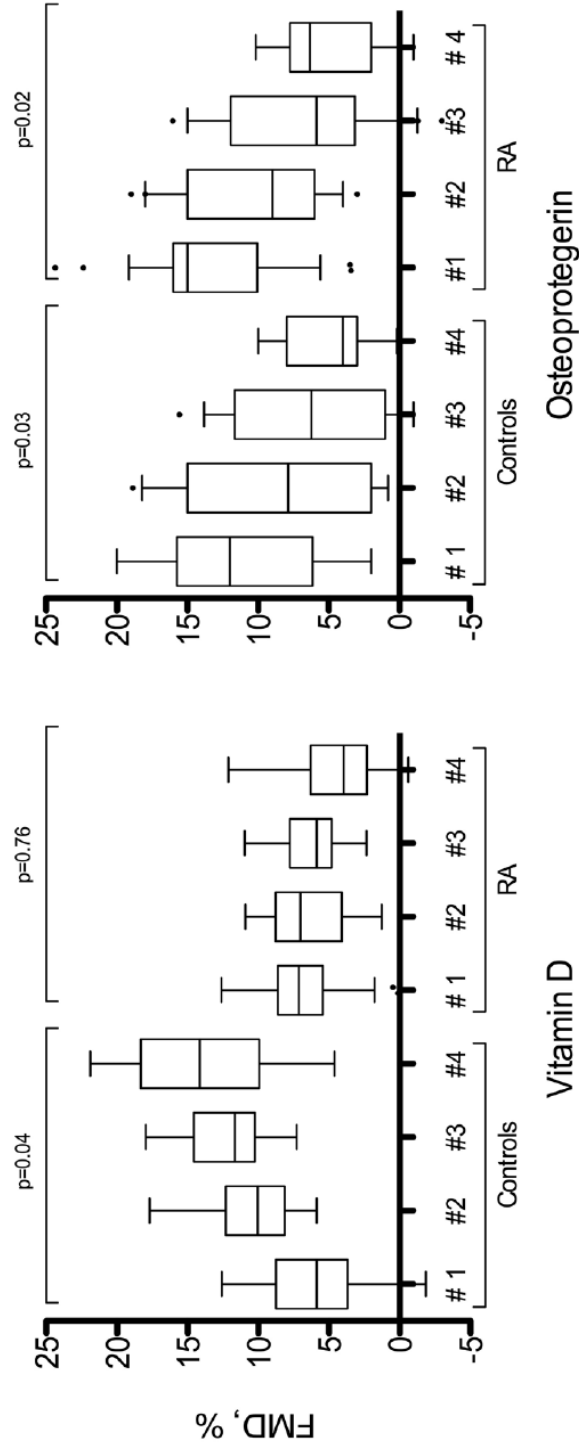
T-score in each bone area has been categorised in < -1 SD and > -1 SD. Beta coefficient represents the change in FMD% from > -1 SD to < -1 SD. Model 1; data adjusted for age, sex and body mass index. Model 2; data adjusted for model 1 + hypertension, diabetes and smoking. Model 3; data adjusted for model 1 + model 2 + vitamin D and osteoprotegerin (*p*<0.10) are depicted in bold.

Los valores de masa ósea inferiores a -1 DE T-score se asociaron con valores inferiores de disfunción endotelial en controles pero no en pacientes con AR. Más aún, en controles, los valores de masa ósea en cuello femoral, trocánter y cadera total se asociaron con niveles significativamente inferiores de dilatación mediada por flujo. Esto no ocurrió con otras áreas como columna lumbar o triángulo de Ward. Cuando este análisis se realizó en pacientes con AR, ninguna de las áreas comentadas como cadera, columna lumbar o triángulo de Ward se relacionaron con la dilatación braquial.

Los análisis antes comentados se replicaron ajustando por factores de riesgo cardiovascular (diabetes, hipertensión, lípidos séricos y tabaquismo) y por proteínas relacionadas con el metabolismo óseo (osteoprotegerina y vitamina D). Tras estas correcciones la asociación entre masa ósea y dilatación mediada por flujo continuó siendo estadísticamente significativa en controles pero no así en pacientes incluso ajustando por variables como ingesta de esteroides o actividad de la enfermedad.

La figura adjunta muestra los análisis de tendencia (ajustados por factores clásicos de riesgo cardiovascular, índice de masa corporal y porcentaje de masa ósea) que examinan la relación de la osteoprotegerina y vitamina D expresados en cuartiles con la dilatación braquial mediada por flujo. En ambos pacientes y controles, una menor dilatación mediada por flujo se asoció con mayores niveles de osteoprotegerina. Por el contrario, unos mayores niveles de vitamina D se asociaron con mayor dilatación mediada por flujo en controles pero no en pacientes con AR.

Fig. 1. Relationship of OPG and vitamin D with FMD after adjusting for age, sex, body mass index, hypertension, diabetes, smoking and BMD.



DISCUSIÓN

1 Composición corporal, adiposidad abdominal y disfunción endotelial.

En nuestro estudio hemos encontrado que la disfunción endotelial en pacientes con AR no se asocia con adiposidad abdominal total y/o con grasa abdominal visceral. Por el contrario, este no fue el caso de los controles donde valores bajos de FMD se relacionaron de manera inversa con adiposidad corporal y con grasa abdominal visceral. A pesar de esto, el fenotipo sarcopenia sí que mostró relación con disfunción endotelial en ambos grupos de pacientes y controles. En base a estos hallazgos, nuestra hipótesis es que la disfunción endotelial en pacientes con AR ocurre de manera independiente a la adiposidad, un factor cardiovascular bien establecido prevalente en la población general.

Nuestros resultados sugieren, por tanto, que el papel que juegan la masa grasa y la adiposidad podría ser menos relevante en el incremento de los niveles de riesgo para enfermedad cardiovascular en los pacientes con AR versus la población general. Este hallazgo podría apoyar el papel de la inflamación como un factor primordial en el desarrollo de la aterosclerosis acelerada en la AR.

En lo que se refiere a la composición corporal, nuestros hallazgos están en consonancia con artículos previos en los que se demostró una proporción mayor de fenotipos alterados de composición corporal en los pacientes con AR (82, 85, 112-115). En general estos estudios han puesto de manifiesto que los sujetos con AR comparados con controles expresan una mayor masa grasa total y troncular, así como una baja masa magra en extremidades. No obstante, a pesar de que en nuestra serie los pacientes tendían a tener una proporción mayor de masa grasa, así como un porcentaje elevado de sarcopenia respecto a controles, no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas. Esto puede haberse debido a que quizás la obesidad ha sido sobreestimada en nuestra cohorte dado que su prevalencia (y la de sobrepeso) es alta en las Islas canarias, lugar donde se ha realizado el estudio (116). Por otro lado, nuestro estudio no fue diseñado concretamente para identificar diferencias potenciales en composición corporal entre pacientes y controles sino para determinar si existía

una relación entre la función endotelial y las medidas corporales en los pacientes con AR.

De forma similar, tampoco hemos encontrado diferencia entre pacientes y controles en lo que se refiere a la evaluación de la adiposidad visceral mediante resonancia magnética. Estos resultados difieren con los de *Giles et al.* (56) en los que la masa grasa subcutánea fue significativamente diferente en mujeres con AR en comparación con controles sanos. Como ya se ha expuesto antes, una explicación a estas diferencias, podría derivar de la relativa alta frecuencia de obesidad entre los controles y la falta de potencia estadística en este sentido.

En lo que se refiere a los datos de disfunción endotelial, es de notar que se conoce que los valores de FMD se correlacionan con datos de biomarcadores implicados en la activación de la célula endotelial y con otros marcadores de aterosclerosis subclínica en pacientes con AR (117-120). En este sentido, la presencia de disfunción endotelial, medida por ecografía de arteria braquial, es conocida por ser un marcador de enfermedad aterosclerótica subclínica cardiovascular en pacientes de riesgo (121), y también se ha vinculado con adiposidad y ganancia de peso en individuos sin artropatía inflamatoria (122). Hasta lo que conocemos, hay poca información relativa a la relación de la composición corporal con un marcador de enfermedad subclínica cardiovascular en pacientes con AR. A este respecto, nuestros hallazgos coinciden con artículos previos sobre este tema. Por ejemplo, *Dessein et al.* (123) estudiaron las asociaciones del IMC y de la circunferencia de cadera con aterosclerosis de arteria carótida medida por ecografía de alta resolución en 203 mujeres africanas con AR establecida (108 negras y 95 caucásicas) y concluyeron que la obesidad en las mujeres con AR no se tradujo en presencia de placa de ateroma. De manera similar, en otra publicación (124) del mismo grupo, la circunferencia abdominal no se relacionó ni con el grosor intima-media carotídea ni con placas en la carótida. Por el contrario, *Inaba et al.* (125) evaluaron la presencia de adiposidad abdominal y determinaron la velocidad de la onda de pulso braquial-tobillo por medio de absorciometría dual de rayos x y analizador de formas de onda, respectivamente, en 30 pacientes con AR y 30 controles. En este estudio, que incluía un análisis de regresión múltiple que abarcaba edad, presión arterial

sistólica y ratio de grasa troncular/periférica como variables independientes, la adiposidad abdominal sí que surgió como un factor independiente asociado de manera significativa con velocidad de onda de pulso braquial-tobillo en los pacientes con AR.

En nuestro estudio, que determinaba composición corporal por DEXA y adiposidad abdominal mediante RMN, hemos evaluado por primera vez la potencial asociación de grasa abdominal con disfunción endotelial en AR. A diferencia de los controles sanos, nuestro hallazgo de falta de relación entre adiposidad visceral y FMD en pacientes con AR resulta de relevancia porque apoya la afirmación de que factores diferentes a los tradicionalmente asociados a enfermedad aterosclerótica pueden estar implicados en el daño endotelial de estos pacientes.

De forma interesante, un estudio reciente (126) ha encontrado que la obesidad está asociada con peores resultados de la enfermedad y con una alta prevalencia de comorbilidades. En esta comunicación, el IMC y la obesidad ocasionaban, de forma independiente, un mayor riesgo de ser diagnosticado de hipertensión, diabetes mellitus y/o enfermedad pulmonar obstructiva crónica en pacientes con AR. Además, el IMC y la circunferencia abdominal se asociaron de manera independiente con angina de pecho, infarto agudo de miocardio y/o revascularización coronaria (126). Debe tenerse en cuenta, sin embargo, que en este estudio la obesidad se definió por el IMC o la circunferencia abdominal, y no se realizaron medidas directas de daño vascular. Nuestros hallazgos no van en este sentido pero creemos que son más válidos porque la ausencia de correlación significativa entre adiposidad y función endotelial en los pacientes con AR se estableció después de ajustar por factores de riesgo clásicos y, además, usando métodos de medida mucho más precisos como la DEXA y la RMN y no simplemente el IMC o circunferencia abdominal que son los utilizados en dicha cita.

Por otro lado, nuestro hallazgo de un nexo entre sarcopenia y disfunción endotelial en AR es similar al encontrado en otras enfermedades donde la relación de sarcopenia con enfermedad cardiovascular se ha establecido claramente. A este respecto, *Alexandersen et al.* (127) han publicado una

asociación inversa independiente y notable entre calcificación aórtica y masa magra periférica, incluso después de ajustar por edad y por IMC. De forma similar, *Kim et al.* (128) han demostrado, que el ratio masa muscular esquelética apendicular y grasa abdominal visceral (un índice de obesidad sarcopénica) está independiente y negativamente asociado con el síndrome metabólico y con rigidez arterial. En relación con estas observaciones, *Kohara et al* (129) ha publicado que la velocidad de onda de pulso braquial-tobillo es más alta (después de eliminar variables confundidoras) en sujetos con sarcopenia. Una excepción a esto fue encontrada en una serie de 30 pacientes con AR (130) en los que, tras dividir en padecer o no caquexia reumatoide, no se encontró diferencia en la prevalencia de enfermedad cardiovascular establecida.

Por todo lo comentado, nuestra hipótesis sería que los pacientes obesos con AR probablemente tendrán obesidad central, resistencia insulínica, síndrome metabólico y otros factores tradicionales que contribuirían a un aumento del riesgo cardiovascular, pero, paradójicamente, la ausencia de asociación entre adiposidad y disfunción endotelial ocasionaría una menor morbilidad cardiovascular (131). Por consiguiente, el nivel total de riesgo cardiovascular en un paciente con AR reflejaría el equilibrio entre estos factores opuestos y, basándose en estudios epidemiológicos, parece que el factor dominante entre ellos es el efecto de la actividad de la enfermedad sobre la inflamación (130).

2 Masa ósea, vitamina D, osteoprotegerina y disfunción endotelial

En la AR es habitual encontrar niveles bajos de vitamina D de tal manera que muchos estudios han demostrado una alta prevalencia de niveles subóptimos de vitamina D en estos individuos (101, 132). Es más, los niveles séricos de 25 hidroxivitamina D no solo se han relacionado inversamente con la actividad de la enfermedad (133), sino que también se han asociado con enfermedad cardiovascular en población general (134, 135).

Como ha señalado *Dessein* (136), la vitamina D podría estar involucrada tanto en la inflamación sistémica como en factores de riesgo cardiovascular, tales como la resistencia insulínica, la activación endotelial y los lípidos. No obstante, en

nuestro estudio la función endotelial no se asoció con niveles de vitamina D o densidad mineral ósea en AR. Este hallazgo fue igualmente inesperado dado que en el análisis multivariante la función endotelial sí que se relacionó con densidad mineral ósea y niveles de vitamina D en controles. Las razones de esta asociación dispar entre pacientes y controles son desconocidas. *Haque et al.* (137) sugirieron que el déficit de vitamina D, en la AR, podría tener una relación independiente con moléculas implicadas de forma intermedia en el riesgo cardiovascular como el colesterol HDL, el índice HOMA, fibrinógeno, selectina E y moléculas solubles de adhesión intercelular. Otro estudio (138) también ha revelado una asociación entre niveles séricos de vitamina D y factores de riesgo cardiovascular clásicos como por ejemplo el colesterol LDL, triglicéridos, y el síndrome metabólico observado en pacientes con AR. Por esto, y aunque estos dos estudios tienen el inconveniente de que no tenían un grupo control y la función endotelial no se evaluó en ellos de forma directa, la relación entre vitamina D y daño endotelial en la AR parece dispar y no del todo establecida. Por otro lado, otra cita reciente coincide con nuestra hipótesis. Se trata de un estudio (139) que incluyó 87 pacientes con AR. Se observó que aquellos sujetos con déficit de vitamina D (niveles de vitamina D inferiores a 20 ng/ml) mostraron una correlación con la función microvascular cuando se evaluó usando el índice de hiperemia reactiva. Sin embargo, esta asociación no se encontró en los pacientes con insuficiencia (<30 ng/ml) o con niveles normales de la vitamina.

Una explicación para nuestros hallazgos podría ser que el papel que juega la vitamina D en el riesgo cardiovascular podría ser menos relevante en los pacientes con AR que en la población general. Por tanto, es posible que la presencia de una condición crónica proinflamatoria podría prevalecer sobre otros factores potenciales que promueven el desarrollo de daño vascular en la AR como es la vitamina D.

En lo que se refiere a osteoprotegerina (OPG) estudios clínicos recientes en población general han demostrado que concentraciones elevadas de OPG se asocian con presencia y severidad de enfermedad coronaria (61, 140, 141). También se ha visto que la OPG está sobreexpresada en pacientes con AR y

parece estar asociada con la inflamación de la enfermedad (102, 142). En este sentido, pacientes con AR no seleccionados muestran niveles más altos de OPG que los controles (100) y el bloqueo del TNF alfa puede reducir las concentraciones de la OPG en la AR (99, 143).

Nuestros resultados están en consonancia con artículos previos que han mostrado que la OPG está independientemente asociada con la presencia de placas en las carótidas y con grosor intima media carotidea (18)(144) y con calcificación de las arterias coronarias en pacientes con AR (102). Sin embargo, debido a la naturaleza transversal de nuestro estudio, no hemos podido excluir de manera completa la posibilidad de que los niveles elevados de OPG en los pacientes con AR pudieran derivarse de un efecto compensatorio destinado a contrarrestar los mecanismos de la aterogénesis acelerada que se producen en esta enfermedad crónica proinflamatoria. En cualquier caso, esta hipótesis parece poco probable, porque esta relación entre OPG y función endotelial fue observada de manera similar en controles que mostraron una carga inflamatoria menor que sus homólogos con AR. Lo que es novedoso en nuestro estudio es que la relación entre OPG y la dilatación mediada por flujo en los pacientes con AR fue independiente de la densidad mineral ósea, y por lo tanto, no está mediada por la baja densidad mineral ósea que habitualmente encontramos en estos pacientes. A este respecto, nuestros resultados en relación a la densidad mineral ósea en AR, están en consonancia con informes previos que han demostrado niveles bajos de DMO de manera significativa en pacientes con AR (145, 146).

Otro hallazgo relevante de nuestro estudio, y en concordancia con tesis previas (92, 94, 147, 148), es que hemos encontrado que la función endotelial está asociada de manera independiente con la DMO en individuos sin AR. Notablemente, hemos observamos que esta asociación entre DMO y dilatación mediada por flujo en controles ocurría de manera independiente de los niveles de OPG y de vitamina D. Como esa relación no la encontramos en pacientes con AR podemos establecer que la falta de cualquier asociación entre DMO y dilatación braquial mediada por flujo en la AR no fue debido a factores confundidores como los niveles de vitamina D o de OPG.

Nuestros resultados coinciden con hallazgos similares previos de otras series. Así por ejemplo, en un estudio que incluía 47 pacientes con AR, *Tanaka et al.* (149) demostraron que la densidad mineral ósea trabecular en radio distal era un factor significativo independientemente asociado con mayor velocidad de onda de pulso a nivel femoral-tobillo y braquial-tobillo cuando se ajustaba por edad, tensión arterial y tabaquismo. Curiosamente, también de forma similar a nuestros hallazgos, estos autores no encontraron tal relación cuando fue analizada la masa ósea total (cortical y trabecular). Sin embargo, a diferencia del estudio de *Tanaka* y colaboradores, nosotros evaluamos la dilatación mediada por flujo en una serie mayor de pacientes con AR, sin estar limitado para mujeres postmenopáusicas. Además, en nuestro estudio, hemos medimos masa ósea corporal total en vez de radio distal y hemos ajustado por dos metabolitos óseos importantes, como son la OPG y la vitamina D.

3 Limitaciones

Reconocemos que existen limitaciones en nuestro estudio. Debido a las características de nuestra población la frecuencia de obesidad en nuestro estudio fue alta tanto en pacientes como en controles. Este hecho podría explicar la baja probabilidad de establecer diferencias significativas entre los dos grupos. Igualmente, las definiciones de sobrepeso y sarcopenia fueron tomadas de estudios que incluían individuos sin enfermedad reumática. Debido a esto, estas definiciones pueden no ser aplicables a pacientes con AR. También algunos confundidores como la actividad física o gasto energético pueden haber influenciado la asociación entre composición corporal con la FMD. Igualmente, en el estudio de masa ósea la edad no fue un criterio de exclusión, por lo que incluimos mujeres pre y postmenopáusicas. Además, algunos factores confundidores como la actividad física, el aporte de calcio en la dieta y la exposición solar, no se evaluaron en nuestro estudio.

4 Conclusiones

Nuestros hallazgos indican que el nivel sérico de OPG es un factor independiente asociado con función endotelial en pacientes con AR y controles, mientras que los niveles de vitamina D y la densidad mineral ósea sólo mostraron esta relación en los controles sanos.

De manera singular la asociación de OPG con FMD ocurre independientemente del estado de la densidad mineral ósea.

En nuestra población, y contrariamente a lo que ocurren en controles, la adiposidad no explica el desarrollo de disfunción endotelial en pacientes con AR.

La presencia de sarcopenia se relaciona con disfunción endotelial tanto en controles sanos como en pacientes con AR.

Aunque los efectos actuales de la adiposidad y la sarcopenia en el desarrollo de disfunción endotelial en pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas como la AR justifican realizar más investigaciones, nuestros datos pueden ayudar a establecer la influencia de la composición corporal o adiposidad en los mecanismos asociados con enfermedad cardiovascular en los pacientes con AR.

BIBLIOGRAFÍA

1. Carmona L, Villaverde V, Hernandez-Garcia C, Ballina J, Gabriel R, Laffon A, et al. The prevalence of rheumatoid arthritis in the general population of Spain. *Rheumatology*. 2002 Jan;41(1):88-95. PubMed PMID: 11792885.
2. Crowson CS, Matteson EL, Myasoedova E, Michet CJ, Ernste FC, Warrington KJ, et al. The lifetime risk of adult-onset rheumatoid arthritis and other inflammatory autoimmune rheumatic diseases. *Arthritis and rheumatism*. 2011 Mar;63(3):633-9. PubMed PMID: 21360492. Pubmed Central PMCID: 3078757.
3. Gerritsen ME, Kelley KA, Ligon G, Perry CA, Shen CP, Szczepanski A, et al. Regulation of the expression of intercellular adhesion molecule 1 in cultured human endothelial cells derived from rheumatoid synovium. *Arthritis and rheumatism*. 1993 May;36(5):593-602. PubMed PMID: 8098213.
4. Lally F, Smith E, Filer A, Stone MA, Shaw JS, Nash GB, et al. A novel mechanism of neutrophil recruitment in a coculture model of the rheumatoid synovium. *Arthritis and rheumatism*. 2005 Nov;52(11):3460-9. PubMed PMID: 16255036. Pubmed Central PMCID: 3119436.
5. Lee DM, Kiener HP, Agarwal SK, Noss EH, Watts GF, Chisaka O, et al. Cadherin-11 in synovial lining formation and pathology in arthritis. *Science*. 2007 Feb 16;315(5814):1006-10. PubMed PMID: 17255475.
6. Kiener HP, Niederreiter B, Lee DM, Jimenez-Boj E, Smolen JS, Brenner MB. Cadherin 11 promotes invasive behavior of fibroblast-like synoviocytes. *Arthritis and rheumatism*. 2009 May;60(5):1305-10. PubMed PMID: 19404963. Pubmed Central PMCID: 3764540.
7. Jain A, Nanchahal J, Troeberg L, Green P, Brennan F. Production of cytokines, vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinases, and tissue inhibitor of metalloproteinases 1 by tenosynovium demonstrates its potential for tendon destruction in rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 2001 Aug;44(8):1754-60. PubMed PMID: 11508425.
8. Walsh NC, Crotti TN, Goldring SR, Gravallesse EM. Rheumatic diseases: the effects of inflammation on bone. *Immunological reviews*. 2005 Dec;208:228-51. PubMed PMID: 16313352.

Bibliografia

9. Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 1987 Nov;30(11):1205-13. PubMed PMID: 2446635.
10. de Vries N, Tijssen H, van Riel PL, van de Putte LB. Reshaping the shared epitope hypothesis: HLA-associated risk for rheumatoid arthritis is encoded by amino acid substitutions at positions 67-74 of the HLA-DRB1 molecule. *Arthritis and rheumatism*. 2002 Apr;46(4):921-8. PubMed PMID: 11953968.
11. Cui J, Saevarsdottir S, Thomson B, Padyukov L, van der Helm-van Mil AH, Nititham J, et al. Rheumatoid arthritis risk allele PTPRC is also associated with response to anti-tumor necrosis factor alpha therapy. *Arthritis and rheumatism*. 2010 Jul;62(7):1849-61. PubMed PMID: 20309874. Pubmed Central PMCID: 3652476.
12. Begovich AB, Carlton VE, Honigberg LA, Schrodi SJ, Chokkalingam AP, Alexander HC, et al. A missense single-nucleotide polymorphism in a gene encoding a protein tyrosine phosphatase (PTPN22) is associated with rheumatoid arthritis. *American journal of human genetics*. 2004 Aug;75(2):330-7. PubMed PMID: 15208781. Pubmed Central PMCID: 1216068.
13. Remmers EF, Plenge RM, Lee AT, Graham RR, Hom G, Behrens TW, et al. STAT4 and the risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *The New England journal of medicine*. 2007 Sep 6;357(10):977-86. PubMed PMID: 17804842. Pubmed Central PMCID: 2630215.
14. Karlson EW, Hankinson SE, Liang MH, Sanchez-Guerrero J, Colditz GA, Rosenau BJ, et al. Association of silicone breast implants with immunologic abnormalities: a prospective study. *The American journal of medicine*. 1999 Jan;106(1):11-9. PubMed PMID: 10320112.
15. Saag KG, Cerhan JR, Kolluri S, Ohashi K, Hunninghake GW, Schwartz DA. Cigarette smoking and rheumatoid arthritis severity. *Annals of the rheumatic diseases*. 1997 Aug;56(8):463-9. PubMed PMID: 9306868. Pubmed Central PMCID: 1752420.
16. Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, de Koning MH, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis and rheumatism*. 2004 Feb;50(2):380-6. PubMed PMID: 14872479.

17. Lu B, Hiraki LT, Sparks JA, Malspeis S, Chen CY, Awosogba JA, et al. Being overweight or obese and risk of developing rheumatoid arthritis among women: a prospective cohort study. *Annals of the rheumatic diseases*. 2014 Nov;73(11):1914-22. PubMed PMID: 25057178. Pubmed Central PMCID: PMC4207219.
18. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 1988 Mar;31(3):315-24. PubMed PMID: 3358796.
19. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, 3rd, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Annals of the rheumatic diseases*. 2010 Sep;69(9):1580-8. PubMed PMID: 20699241. Epub 2010/08/12. eng.
20. Smolen JS, Aletaha D, Bijlsma JW, Breedveld FC, Boumpas D, Burmester G, et al. Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of an international task force. *Annals of the rheumatic diseases*. 2010 Apr;69(4):631-7. PubMed PMID: 20215140. Pubmed Central PMCID: 3015099.
21. Felson DT, Anderson JJ, Boers M, Bombardier C, Furst D, Goldsmith C, et al. American College of Rheumatology. Preliminary definition of improvement in rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 1995 Jun;38(6):727-35. PubMed PMID: 7779114.
22. van Gestel AM, Haagsma CJ, van Riel PL. Validation of rheumatoid arthritis improvement criteria that include simplified joint counts. *Arthritis and rheumatism*. 1998 Oct;41(10):1845-50. PubMed PMID: 9778226.
23. Felson DT, Smolen JS, Wells G, Zhang B, van Tuyl LH, Funovits J, et al. American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism provisional definition of remission in rheumatoid arthritis for clinical trials. *Arthritis and rheumatism*. 2011 Mar;63(3):573-86. PubMed PMID: 21294106. Pubmed Central PMCID: 3115717.
24. Felson DT, Smolen JS, Wells G, Zhang B, van Tuyl LH, Funovits J, et al. American College of Rheumatology/European League against Rheumatism provisional definition of remission in rheumatoid arthritis for clinical trials. *Annals of the rheumatic diseases*. 2011 Mar;70(3):404-13. PubMed PMID: 21292833.

Bibliografia

25. van der Heijde DM, van Leeuwen MA, van Riel PL, Koster AM, van 't Hof MA, van Rijswijk MH, et al. Biannual radiographic assessments of hands and feet in a three-year prospective followup of patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 1992 Jan;35(1):26-34. PubMed PMID: 1731813.
26. Fuchs HA, Kaye JJ, Callahan LF, Nance EP, Pincus T. Evidence of significant radiographic damage in rheumatoid arthritis within the first 2 years of disease. *The Journal of rheumatology*. 1989 May;16(5):585-91. PubMed PMID: 2754663.
27. Vidal C, Barnetche T, Morel J, Combe B, Daien C. Association of Body Mass Index Categories with Disease Activity and Radiographic Joint Damage in Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review and Metaanalysis. *The Journal of rheumatology*. 2015 Nov 1. PubMed PMID: 26523023.
28. Saag KG, Teng GG, Patkar NM, Anuntiyo J, Finney C, Curtis JR, et al. American College of Rheumatology 2008 recommendations for the use of nonbiologic and biologic disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 2008 Jun 15;59(6):762-84. PubMed PMID: 18512708.
29. Singh JA, Furst DE, Bharat A, Curtis JR, Kavanaugh AF, Kremer JM, et al. 2012 update of the 2008 American College of Rheumatology recommendations for the use of disease-modifying antirheumatic drugs and biologic agents in the treatment of rheumatoid arthritis. *Arthritis care & research*. 2012 May;64(5):625-39. PubMed PMID: 22473917. Pubmed Central PMCID: 4081542.
30. Smolen JS, Landewe R, Breedveld FC, Dougados M, Emery P, Gaujoux-Viala C, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs. *Annals of the rheumatic diseases*. 2010 Jun;69(6):964-75. PubMed PMID: 20444750. Pubmed Central PMCID: 2935329.
31. Smolen JS, Landewe R, Breedveld FC, Buch M, Burmester G, Dougados M, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2013 update. *Annals of the rheumatic diseases*. 2014 Mar;73(3):492-509. PubMed PMID: 24161836. Pubmed Central PMCID: 3933074.
32. Anderson J, Caplan L, Yazdany J, Robbins ML, Neogi T, Michaud K, et al. Rheumatoid arthritis disease activity measures: American College of Rheumatology recommendations for use

in clinical practice. *Arthritis care & research*. 2012 May;64(5):640-7. PubMed PMID: 22473918. Pubmed Central PMCID: 4028066.

33. Knevel R, Schoels M, Huizinga TW, Aletaha D, Burmester GR, Combe B, et al. Current evidence for a strategic approach to the management of rheumatoid arthritis with disease-modifying antirheumatic drugs: a systematic literature review informing the EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2010 Jun;69(6):987-94. PubMed PMID: 20448280.

34. Wolfe F, Mitchell DM, Sibley JT, Fries JF, Bloch DA, Williams CA, et al. The mortality of rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 1994 Apr;37(4):481-94. PubMed PMID: 8147925.

35. Pincus T, Callahan LF. What is the natural history of rheumatoid arthritis? *Rheumatic diseases clinics of North America*. 1993 Feb;19(1):123-51. PubMed PMID: 8356248.

36. Avina-Zubieta JA, Choi HK, Sadatsafavi M, Etminan M, Esdaile JM, Lacaille D. Risk of cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Arthritis and rheumatism*. 2008 Dec 15;59(12):1690-7. PubMed PMID: 19035419.

37. Meune C, Touze E, Trinquart L, Allanore Y. Trends in cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis over 50 years: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Rheumatology*. 2009 Oct;48(10):1309-13. PubMed PMID: 19696061.

38. Gonzalez-Gay MA, Gonzalez-Juanatey C, Martin J. Rheumatoid arthritis: a disease associated with accelerated atherogenesis. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2005 Aug;35(1):8-17. PubMed PMID: 16084219. Epub 2005/08/09. eng.

39. Martin-Martinez MA, Gonzalez-Juanatey C, Castaneda S, Llorca J, Ferraz-Amaro I, Fernandez-Gutierrez B, et al. Recommendations for the management of cardiovascular risk in patients with rheumatoid arthritis: scientific evidence and expert opinion. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 2014 Aug;44(1):1-8. PubMed PMID: 24560170.

40. Sandoo A, Chanchlani N, Hodson J, Smith JP, Douglas KM, Kitas GD. The relationship between cardiovascular disease risk prediction scores and vascular function and morphology in rheumatoid arthritis. *Clinical and experimental rheumatology*. 2014 Nov-Dec;32(6):914-21. PubMed PMID: 25152090.

Bibliografia

41. Symmons DP. Environmental factors and the outcome of rheumatoid arthritis. Best practice & research Clinical rheumatology. 2003 Oct;17(5):717-27. PubMed PMID: 12915154.
42. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. Circulation. 2006 Feb 14;113(6):898-918. PubMed PMID: 16380542.
43. Santos MJ, Vinagre F, Canas da Silva J, Gil V, Fonseca JE. Body composition phenotypes in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis: a comparative study of Caucasian female patients. Clinical and experimental rheumatology. 2011 May-Jun;29(3):470-6. PubMed PMID: 21640047.
44. Volgyi E, Tylavsky FA, Lyytikainen A, Suominen H, Alen M, Cheng S. Assessing body composition with DXA and bioimpedance: effects of obesity, physical activity, and age. Obesity. 2008 Mar;16(3):700-5. PubMed PMID: 18239555.
45. Shen W, Punyanitya M, Wang Z, Gallagher D, St-Onge MP, Albu J, et al. Visceral adipose tissue: relations between single-slice areas and total volume. The American journal of clinical nutrition. 2004 Aug;80(2):271-8. PubMed PMID: 15277145. Pubmed Central PMCID: 2040041.
46. Machann J, Thamer C, Stefan N, Schwenzer NF, Kantartzis K, Haring HU, et al. Follow-up whole-body assessment of adipose tissue compartments during a lifestyle intervention in a large cohort at increased risk for type 2 diabetes. Radiology. 2010 Nov;257(2):353-63. PubMed PMID: 20713612.
47. Giles JT, Ling SM, Ferrucci L, Bartlett SJ, Andersen RE, Towns M, et al. Abnormal body composition phenotypes in older rheumatoid arthritis patients: association with disease characteristics and pharmacotherapies. Arthritis and rheumatism. 2008 Jun 15;59(6):807-15. PubMed PMID: 18512711. Pubmed Central PMCID: 2670994.
48. Schutz Y, Kyle UU, Pichard C. Fat-free mass index and fat mass index percentiles in Caucasians aged 18-98 y. International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity. 2002 Jul;26(7):953-60. PubMed PMID: 12080449.

49. VanItallie TB, Yang MU, Heymsfield SB, Funk RC, Boileau RA. Height-normalized indices of the body's fat-free mass and fat mass: potentially useful indicators of nutritional status. *The American journal of clinical nutrition*. 1990 Dec;52(6):953-9. PubMed PMID: 2239792.
50. Hull HR, Thornton J, Wang J, Pierson RN, Jr., Kaleem Z, Pi-Sunyer X, et al. Fat-free mass index: changes and race/ethnic differences in adulthood. *International journal of obesity*. 2011 Jan;35(1):121-7. PubMed PMID: 20531353. Pubmed Central PMCID: 3306818.
51. Janssen I, Baumgartner RN, Ross R, Rosenberg IH, Roubenoff R. Skeletal muscle cutpoints associated with elevated physical disability risk in older men and women. *American journal of epidemiology*. 2004 Feb 15;159(4):413-21. PubMed PMID: 14769646.
52. Baumgartner RN, Wayne SJ, Waters DL, Janssen I, Gallagher D, Morley JE. Sarcopenic obesity predicts instrumental activities of daily living disability in the elderly. *Obesity research*. 2004 Dec;12(12):1995-2004. PubMed PMID: 15687401.
53. Cesari M, Kritchevsky SB, Baumgartner RN, Atkinson HH, Penninx BW, Lenchik L, et al. Sarcopenia, obesity, and inflammation--results from the Trial of Angiotensin Converting Enzyme Inhibition and Novel Cardiovascular Risk Factors study. *The American journal of clinical nutrition*. 2005 Aug;82(2):428-34. PubMed PMID: 16087989.
54. Fox CS, Massaro JM, Hoffmann U, Pou KM, Maurovich-Horvat P, Liu CY, et al. Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2007 Jul 3;116(1):39-48. PubMed PMID: 17576866.
55. Tanko LB, Bagger YZ, Alexandersen P, Larsen PJ, Christiansen C. Peripheral adiposity exhibits an independent dominant antiatherogenic effect in elderly women. *Circulation*. 2003 Apr 1;107(12):1626-31. PubMed PMID: 12668497.
56. Giles JT, Allison M, Blumenthal RS, Post W, Gelber AC, Petri M, et al. Abdominal adiposity in rheumatoid arthritis: association with cardiometabolic risk factors and disease characteristics. *Arthritis and rheumatism*. 2010 Nov;62(11):3173-82. PubMed PMID: 20589684. Pubmed Central PMCID: 2962724.
57. Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocrine reviews*. 2000 Apr;21(2):115-37. PubMed PMID: 10782361.

58. Dobnig H, Turner RT. The effects of programmed administration of human parathyroid hormone fragment (1-34) on bone histomorphometry and serum chemistry in rats. *Endocrinology*. 1997 Nov;138(11):4607-12. PubMed PMID: 9348185.
59. Weinstein RS, Jilka RL, Parfitt AM, Manolagas SC. Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids. Potential mechanisms of their deleterious effects on bone. *The Journal of clinical investigation*. 1998 Jul 15;102(2):274-82. PubMed PMID: 9664068. Pubmed Central PMCID: 508885.
60. Martin-Millan M, Almeida M, Ambrogini E, Han L, Zhao H, Weinstein RS, et al. The estrogen receptor-alpha in osteoclasts mediates the protective effects of estrogens on cancellous but not cortical bone. *Molecular endocrinology*. 2010 Feb;24(2):323-34. PubMed PMID: 20053716. Pubmed Central PMCID: 2817608.
61. Montagnana M, Lippi G, Danese E, Guidi GC. The role of osteoprotegerin in cardiovascular disease. *Annals of medicine*. 2013 May;45(3):254-64. PubMed PMID: 23110639.
62. Kiechl S, Schett G, Wenning G, Redlich K, Oberhollenzer M, Mayr A, et al. Osteoprotegerin is a risk factor for progressive atherosclerosis and cardiovascular disease. *Circulation*. 2004 May 11;109(18):2175-80. PubMed PMID: 15117849.
63. Lieb W, Gona P, Larson MG, Massaro JM, Lipinska I, Keaney JF, Jr., et al. Biomarkers of the osteoprotegerin pathway: clinical correlates, subclinical disease, incident cardiovascular disease, and mortality. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2010 Sep;30(9):1849-54. PubMed PMID: 20448212. Pubmed Central PMCID: 3039214.
64. Wang L, Song Y, Manson JE, Pilz S, Marz W, Michaelsson K, et al. Circulating 25-hydroxy-vitamin D and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective studies. *Circulation Cardiovascular quality and outcomes*. 2012 Nov;5(6):819-29. PubMed PMID: 23149428. Pubmed Central PMCID: 3510675.
65. Theodoratou E, Tzoulaki I, Zgaga L, Ioannidis JP. Vitamin D and multiple health outcomes: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies and randomised trials. *Bmj*. 2014;348:g2035. PubMed PMID: 24690624. Pubmed Central PMCID: 3972415.
66. Greenland P, Alpert JS, Beller GA, Benjamin EJ, Budoff MJ, Fayad ZA, et al. 2010 ACCF/AHA guideline for assessment of cardiovascular risk in asymptomatic adults: a report of

the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Journal of the American College of Cardiology*. 2010 Dec 14;56(25):e50-103. PubMed PMID: 21144964.

67. Yeboah J, Folsom AR, Burke GL, Johnson C, Polak JF, Post W, et al. Predictive value of brachial flow-mediated dilation for incident cardiovascular events in a population-based study: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Circulation*. 2009 Aug 11;120(6):502-9. PubMed PMID: 19635967. Pubmed Central PMCID: 2740975.

68. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992 Nov 7;340(8828):1111-5. PubMed PMID: 1359209.

69. Perticone F, Ceravolo R, Pujia A, Ventura G, Iacopino S, Scozzafava A, et al. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Circulation*. 2001 Jul 10;104(2):191-6. PubMed PMID: 11447085.

70. Inaba Y, Chen JA, Bergmann SR. Prediction of future cardiovascular outcomes by flow-mediated vasodilatation of brachial artery: a meta-analysis. *The international journal of cardiovascular imaging*. 2010 Aug;26(6):631-40. PubMed PMID: 20339920.

71. Peters SA, den Ruijter HM, Bots ML, Moons KG. Improvements in risk stratification for the occurrence of cardiovascular disease by imaging subclinical atherosclerosis: a systematic review. *Heart*. 2012 Feb;98(3):177-84. PubMed PMID: 22095617.

72. Thijssen DH, Black MA, Pyke KE, Padilla J, Atkinson G, Harris RA, et al. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2011 Jan;300(1):H2-12. PubMed PMID: 20952670. Pubmed Central PMCID: 3023245.

73. Lekakis J, Abraham P, Balbarini A, Blann A, Boulanger CM, Cockcroft J, et al. Methods for evaluating endothelial function: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Peripheral Circulation. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation : official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology*. 2011 Dec;18(6):775-89. PubMed PMID: 21450600.

Bibliografia

74. Behn A, Ur E. The obesity epidemic and its cardiovascular consequences. *Current opinion in cardiology*. 2006 Jul;21(4):353-60. PubMed PMID: 16755205.
75. Emerging Risk Factors C, Wormser D, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Wood AM, Pennells L, et al. Separate and combined associations of body-mass index and abdominal adiposity with cardiovascular disease: collaborative analysis of 58 prospective studies. *Lancet*. 2011 Mar 26;377(9771):1085-95. PubMed PMID: 21397319. Pubmed Central PMCID: 3145074.
76. Janssen I, Katzmarzyk PT, Ross R. Waist circumference and not body mass index explains obesity-related health risk. *The American journal of clinical nutrition*. 2004 Mar;79(3):379-84. PubMed PMID: 14985210.
77. Simpson JA, MacInnis RJ, Peeters A, Hopper JL, Giles GG, English DR. A comparison of adiposity measures as predictors of all-cause mortality: the Melbourne Collaborative Cohort Study. *Obesity*. 2007 Apr;15(4):994-1003. PubMed PMID: 17426335.
78. Lim S, Kim JH, Yoon JW, Kang SM, Choi SH, Park YJ, et al. Sarcopenic obesity: prevalence and association with metabolic syndrome in the Korean Longitudinal Study on Health and Aging (KLoSHA). *Diabetes care*. 2010 Jul;33(7):1652-4. PubMed PMID: 20460442. Pubmed Central PMCID: 2890376.
79. Walston JD. Sarcopenia in older adults. *Current opinion in rheumatology*. 2012 Nov;24(6):623-7. PubMed PMID: 22955023. Pubmed Central PMCID: 4066461.
80. Snijder MB, van Dam RM, Visser M, Seidell JC. What aspects of body fat are particularly hazardous and how do we measure them? *International journal of epidemiology*. 2006 Feb;35(1):83-92. PubMed PMID: 16339600.
81. Ormseth MJ, Lipson A, Alexopoulos N, Hartlage GR, Oeser AM, Bian A, et al. Association of epicardial adipose tissue with cardiometabolic risk and metabolic syndrome in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis care & research*. 2013 Sep;65(9):1410-5. PubMed PMID: 23592527. Pubmed Central PMCID: 3775927.
82. Giles JT, Bartlett SJ, Andersen RE, Fontaine KR, Bathon JM. Association of body composition with disability in rheumatoid arthritis: impact of appendicular fat and lean tissue mass. *Arthritis and rheumatism*. 2008 Oct 15;59(10):1407-15. PubMed PMID: 18821641. Pubmed Central PMCID: 2670990.

83. Kramer HR, Fontaine KR, Bathon JM, Giles JT. Muscle density in rheumatoid arthritis: associations with disease features and functional outcomes. *Arthritis and rheumatism*. 2012 Aug;64(8):2438-50. PubMed PMID: 22391952. Pubmed Central PMCID: 3521589.
84. Walsmith J, Roubenoff R. Cachexia in rheumatoid arthritis. *International journal of cardiology*. 2002 Sep;85(1):89-99. PubMed PMID: 12163213.
85. Stavropoulos-Kalinoglou A, Metsios GS, Koutedakis Y, Kitas GD. Obesity in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2011 Mar;50(3):450-62. PubMed PMID: 20959355.
86. Stavropoulos-Kalinoglou A, Metsios GS, Koutedakis Y, Nevill AM, Douglas KM, Jamurtas A, et al. Redefining overweight and obesity in rheumatoid arthritis patients. *Annals of the rheumatic diseases*. 2007 Oct;66(10):1316-21. PubMed PMID: 17289757. Pubmed Central PMCID: 1994320.
87. Engvall IL, Elkan AC, Tengstrand B, Cederholm T, Brismar K, Hafstrom I. Cachexia in rheumatoid arthritis is associated with inflammatory activity, physical disability, and low bioavailable insulin-like growth factor. *Scandinavian journal of rheumatology*. 2008 Sep-Oct;37(5):321-8. PubMed PMID: 18666027.
88. Rall LC, Roubenoff R. Rheumatoid cachexia: metabolic abnormalities, mechanisms and interventions. *Rheumatology*. 2004 Oct;43(10):1219-23. PubMed PMID: 15292530.
89. Deal C. Bone loss in rheumatoid arthritis: systemic, periarticular, and focal. *Current rheumatology reports*. 2012 Jun;14(3):231-7. PubMed PMID: 22527950.
90. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, McCloskey E. FRAX and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2008 Apr;19(4):385-97. PubMed PMID: 18292978. Pubmed Central PMCID: 2267485.
91. Solomon DH, Finkelstein JS, Shadick N, LeBoff MS, Winalski CS, Stedman M, et al. The relationship between focal erosions and generalized osteoporosis in postmenopausal women with rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 2009 Jun;60(6):1624-31. PubMed PMID: 19479876. Pubmed Central PMCID: 2748798.

Bibliografia

92. Lampropoulos CE, Papaioannou I, D'Cruz DP. Osteoporosis--a risk factor for cardiovascular disease? *Nature reviews Rheumatology*. 2012 Oct;8(10):587-98. PubMed PMID: 22890244.
93. Hyder JA, Allison MA, Wong N, Papa A, Lang TF, Sirlin C, et al. Association of coronary artery and aortic calcium with lumbar bone density: the MESA Abdominal Aortic Calcium Study. *American journal of epidemiology*. 2009 Jan 15;169(2):186-94. PubMed PMID: 19064643. Pubmed Central PMCID: 2727254.
94. Sumino H, Ichikawa S, Kasama S, Takahashi T, Sakamoto H, Kumakura H, et al. Relationship between carotid atherosclerosis and lumbar spine bone mineral density in postmenopausal women. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension*. 2008 Jun;31(6):1191-7. PubMed PMID: 18716368.
95. 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. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2007 Jul;18(7):999-1008. PubMed PMID: 17285350.
96. Marcovitz PA, Tran HH, Franklin BA, O'Neill WW, Yerkey M, Boura J, et al. Usefulness of bone mineral density to predict significant coronary artery disease. *The American journal of cardiology*. 2005 Oct 15;96(8):1059-63. PubMed PMID: 16214438.
97. Trivedi DP, Khaw KT. Bone mineral density at the hip predicts mortality in elderly men. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2001;12(4):259-65. PubMed PMID: 11420774.
98. Naves M, Rodriguez-Garcia M, Diaz-Lopez JB, Gomez-Alonso C, Cannata-Andia JB. Progression of vascular calcifications is associated with greater bone loss and increased bone fractures. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2008 Aug;19(8):1161-6. PubMed PMID: 18180973.
99. Dessein PH, Lopez-Mejias R, Gonzalez-Juanatey C, Genre F, Miranda-Filloo JA, Llorca J, et al. Independent relationship of osteoprotegerin concentrations with endothelial activation and

carotid atherosclerosis in patients with severe rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology*. 2014 Mar;41(3):429-36. PubMed PMID: 24488413.

100. Lopez-Mejias R, Ubilla B, Genre F, Corrales A, Hernandez JL, Ferraz-Amaro I, et al. Osteoprotegerin concentrations relate independently to established cardiovascular disease in rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology*. 2015 Jan;42(1):39-45. PubMed PMID: 25362655.

101. Kerr GS, Sabahi I, Richards JS, Caplan L, Cannon GW, Reimold A, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency/deficiency in rheumatoid arthritis and associations with disease severity and activity. *The Journal of rheumatology*. 2011 Jan;38(1):53-9. PubMed PMID: 20952475.

102. Asanuma Y, Chung CP, Oeser A, Solus JF, Avalos I, Gebretsadik T, et al. Serum osteoprotegerin is increased and independently associated with coronary-artery atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis*. 2007 Dec;195(2):e135-41. PubMed PMID: 17570371. Pubmed Central PMCID: 2174431.

103. Janssen I, Katzmarzyk PT, Ross R. Body mass index, waist circumference, and health risk: evidence in support of current National Institutes of Health guidelines. *Archives of internal medicine*. 2002 Oct 14;162(18):2074-9. PubMed PMID: 12374515. Epub 2002/10/11. eng.

104. Conroy RM, Pyorala K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *European heart journal*. 2003 Jun;24(11):987-1003. PubMed PMID: 12788299. Epub 2003/06/06. eng.

105. Peters MJ, Symmons DP, McCarey D, Dijkmans BA, Nicola P, Kvien TK, et al. EULAR evidence-based recommendations for cardiovascular risk management in patients with rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2010 Feb;69(2):325-31. PubMed PMID: 19773290. Epub 2009/09/24. eng.

106. Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren M, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *European heart journal*. 2012 Jul;33(13):1635-701. PubMed PMID: 22555213. Epub 2012/05/05. eng.

Bibliografia

107. Aletaha D, Nell VP, Stamm T, Uffmann M, Pflugbeil S, Machold K, et al. Acute phase reactants add little to composite disease activity indices for rheumatoid arthritis: validation of a clinical activity score. *Arthritis research & therapy*. 2005;7(4):R796-806. PubMed PMID: 15987481. Pubmed Central PMCID: 1175030.
108. Thomas EL, Saeed N, Hajnal JV, Brynes A, Goldstone AP, Frost G, et al. Magnetic resonance imaging of total body fat. *J Appl Physiol (1985)*. 1998 Nov;85(5):1778-85. PubMed PMID: 9804581. Epub 1998/11/06. eng.
109. LaForgia J, Dollman J, Dale MJ, Withers RT, Hill AM. Validation of DXA body composition estimates in obese men and women. *Obesity (Silver Spring)*. 2009 Apr;17(4):821-6. PubMed PMID: 19131939. Epub 2009/01/10. eng.
110. Gallagher D, Heymsfield SB, Heo M, Jebb SA, Murgatroyd PR, Sakamoto Y. Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. *The American journal of clinical nutrition*. 2000 Sep;72(3):694-701. PubMed PMID: 10966886.
111. Scott DL, Pugner K, Kaarela K, Doyle DV, Woolf A, Holmes J, et al. The links between joint damage and disability in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2000 Feb;39(2):122-32. PubMed PMID: 10725061.
112. Dao HH, Do QT, Sakamoto J. Abnormal body composition phenotypes in Vietnamese women with early rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2011 Jul;50(7):1250-8. PubMed PMID: 21292736.
113. Book C, Karlsson MK, Nilsson JA, Akesson K, Jacobsson LT. Changes in body composition after 2 years with rheumatoid arthritis. *Scandinavian journal of rheumatology*. 2011 Mar;40(2):95-100. PubMed PMID: 20868308.
114. Elkan AC, Engvall IL, Cederholm T, Hafstrom I. Rheumatoid cachexia, central obesity and malnutrition in patients with low-active rheumatoid arthritis: feasibility of anthropometry, Mini Nutritional Assessment and body composition techniques. *European journal of nutrition*. 2009 Aug;48(5):315-22. PubMed PMID: 19333642.
115. Summers GD, Deighton CM, Rennie MJ, Booth AH. Rheumatoid cachexia: a clinical perspective. *Rheumatology*. 2008 Aug;47(8):1124-31. PubMed PMID: 18448480.
116. Bautista-Castano I, Aleman-Perez N, Garcia-Salvador JJ, Gonzalez-Quesada A, Garcia-Hernandez JA, Serra-Majem L. [Prevalence of obesity in pregnant women of Canary Islands,

Spain]. *Medicina clinica*. 2011 Apr 23;136(11):478-80. PubMed PMID: 21087776. Prevalencia de obesidad en la poblacion gestante de Gran Canaria.

117. Sodergren A, Karp K, Boman K, Eriksson C, Lundstrom E, Smedby T, et al. Atherosclerosis in early rheumatoid arthritis: very early endothelial activation and rapid progression of intima media thickness. *Arthritis research & therapy*. 2010;12(4):R158. PubMed PMID: 20712865. Pubmed Central PMCID: 2945061.

118. Gonzalez-Juanatey C, Llorca J, Gonzalez-Gay MA. Correlation between endothelial function and carotid atherosclerosis in rheumatoid arthritis patients with long-standing disease. *Arthritis research & therapy*. 2011;13(3):R101. PubMed PMID: 21696620. Pubmed Central PMCID: 3218916.

119. Dessein PH, Tobias M, Veller MG. Metabolic syndrome and subclinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology*. 2006 Dec;33(12):2425-32. PubMed PMID: 17080519.

120. Chung CP, Oeser A, Solus JF, Avalos I, Gebretsadik T, Shintani A, et al. Prevalence of the metabolic syndrome is increased in rheumatoid arthritis and is associated with coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2008 Feb;196(2):756-63. PubMed PMID: 17266963.

121. Halcox JP, Donald AE, Ellins E, Witte DR, Shipley MJ, Brunner EJ, et al. Endothelial function predicts progression of carotid intima-media thickness. *Circulation*. 2009 Feb 24;119(7):1005-12. PubMed PMID: 19204308.

122. Romero-Corral A, Sert-Kuniyoshi FH, Sierra-Johnson J, Orban M, Gami A, Davison D, et al. Modest visceral fat gain causes endothelial dysfunction in healthy humans. *Journal of the American College of Cardiology*. 2010 Aug 17;56(8):662-6. PubMed PMID: 20705223. Pubmed Central PMCID: 3951914.

123. Solomon A, Norton GR, Woodiwiss AJ, Dessein PH. Obesity and carotid atherosclerosis in African black and Caucasian women with established rheumatoid arthritis: a cross-sectional study. *Arthritis research & therapy*. 2012;14(2):R67. PubMed PMID: 22430029. Pubmed Central PMCID: 3446436.

124. Dessein PH, Norton GR, Joffe BI, Abdool-Carrim AT, Woodiwiss AJ, Solomon A. Metabolic cardiovascular risk burden and atherosclerosis in African black and Caucasian women with

rheumatoid arthritis: a cross-sectional study. *Clinical and experimental rheumatology*. 2013 Jan-Feb;31(1):53-61. PubMed PMID: 22935383.

125. Inaba M, Tanaka K, Goto H, Sakai S, Yamada S, Naka H, et al. Independent association of increased trunk fat with increased arterial stiffening in postmenopausal patients with rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology*. 2007 Feb;34(2):290-5. PubMed PMID: 17304655.

126. Ajeganova S, Andersson ML, Hafstrom I, Group BS. Association of obesity with worse disease severity in rheumatoid arthritis as well as with comorbidities: a long-term followup from disease onset. *Arthritis care & research*. 2013 Jan;65(1):78-87. PubMed PMID: 22514159.

127. Alexandersen P, Tanko LB, Bagger YZ, Jespersen J, Skouby SO, Christiansen C. Associations between aortic calcification and components of body composition in elderly men. *Obesity*. 2006 Sep;14(9):1571-8. PubMed PMID: 17030968.

128. Kim TN, Park MS, Lim KI, Yang SJ, Yoo HJ, Kang HJ, et al. Skeletal muscle mass to visceral fat area ratio is associated with metabolic syndrome and arterial stiffness: The Korean Sarcopenic Obesity Study (KSOS). *Diabetes research and clinical practice*. 2011 Aug;93(2):285-91. PubMed PMID: 21752483.

129. Kohara K, Ochi M, Tabara Y, Nagai T, Igase M, Miki T. Arterial stiffness in sarcopenic visceral obesity in the elderly: J-SHIP study. *International journal of cardiology*. 2012 Jun 28;158(1):146-8. PubMed PMID: 22560935.

130. Metsios GS, Stavropoulos-Kalinoglou A, Panoulas VF, Sandoo A, Toms TE, Nevill AM, et al. Rheumatoid cachexia and cardiovascular disease. *Clinical and experimental rheumatology*. 2009 Nov-Dec;27(6):985-8. PubMed PMID: 20149317.

131. Summers GD, Metsios GS, Stavropoulos-Kalinoglou A, Kitas GD. Rheumatoid cachexia and cardiovascular disease. *Nature reviews Rheumatology*. 2010 Aug;6(8):445-51. PubMed PMID: 20647995.

132. Rossini M, Maddali Bongi S, La Montagna G, Minisola G, Malavolta N, Bernini L, et al. Vitamin D deficiency in rheumatoid arthritis: prevalence, determinants and associations with disease activity and disability. *Arthritis research & therapy*. 2010;12(6):R216. PubMed PMID: 21114806. Pubmed Central PMCID: 3046526.

133. Cutolo M, Otsa K, Uprus M, Paolino S, Seriola B. Vitamin D in rheumatoid arthritis. *Autoimmunity reviews*. 2007 Nov;7(1):59-64. PubMed PMID: 17967727.
134. Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, Jacques PF, Ingelsson E, Lanier K, et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation*. 2008 Jan 29;117(4):503-11. PubMed PMID: 18180395. Pubmed Central PMCID: 2726624.
135. Kendrick J, Targher G, Smits G, Chonchol M. 25-Hydroxyvitamin D deficiency is independently associated with cardiovascular disease in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Atherosclerosis*. 2009 Jul;205(1):255-60. PubMed PMID: 19091317.
136. Dessein PH. Vitamin D replacement therapy: a promising adjunct in cardiovascular risk management among patients with rheumatoid arthritis? *The Journal of rheumatology*. 2013 Sep;40(9):1463-5. PubMed PMID: 23996990.
137. Haque UJ, Bathon JM, Giles JT. Association of vitamin D with cardiometabolic risk factors in rheumatoid arthritis. *Arthritis care & research*. 2012 Oct;64(10):1497-504. PubMed PMID: 22555877. Pubmed Central PMCID: 3462271.
138. Baker JF, Mehta NN, Baker DG, Toedter G, Shults J, Von Feldt JM, et al. Vitamin D, metabolic dyslipidemia, and metabolic syndrome in rheumatoid arthritis. *The American journal of medicine*. 2012 Oct;125(10):1036 e9- e15. PubMed PMID: 22800875.
139. Ranganathan P, Khalatbari S, Yalavarthi S, Marder W, Brook R, Kaplan MJ. Vitamin D deficiency, interleukin 17, and vascular function in rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology*. 2013 Sep;40(9):1529-34. PubMed PMID: 23818717. Pubmed Central PMCID: 4358878.
140. Jono S, Ikari Y, Shioi A, Mori K, Miki T, Hara K, et al. Serum osteoprotegerin levels are associated with the presence and severity of coronary artery disease. *Circulation*. 2002 Sep 3;106(10):1192-4. PubMed PMID: 12208791.
141. Schoppet M, Sattler AM, Schaefer JR, Herzum M, Maisch B, Hofbauer LC. Increased osteoprotegerin serum levels in men with coronary artery disease. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2003 Mar;88(3):1024-8. PubMed PMID: 12629080.
142. Corallini F, Bossi F, Gonelli A, Tripodo C, Castellino G, Mollnes TE, et al. The soluble terminal complement complex (SC5b-9) up-regulates osteoprotegerin expression and release by

endothelial cells: implications in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 2009 Mar;48(3):293-8. PubMed PMID: 19168833.

143. Ziolkowska M, Kurowska M, Radzikowska A, Luszczkiewicz G, Wiland P, Dziewczopolski W, et al. High levels of osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor kappa B ligand in serum of rheumatoid arthritis patients and their normalization after anti-tumor necrosis factor alpha treatment. *Arthritis and rheumatism*. 2002 Jul;46(7):1744-53. PubMed PMID: 12124857.

144. Asanuma YF, Shimada Y, Kouzu N, Yokota K, Nakajima K, Sato K, et al. Serum osteoprotegerin concentration is associated with carotid atherosclerotic plaque in patients with rheumatoid arthritis. *Modern rheumatology / the Japan Rheumatism Association*. 2013 Mar;23(2):269-75. PubMed PMID: 22584471.

145. Haugeberg G, Orstavik RE, Uhlig T, Falch JA, Halse JI, Kvien TK. Clinical decision rules in rheumatoid arthritis: do they identify patients at high risk for osteoporosis? Testing clinical criteria in a population based cohort of patients with rheumatoid arthritis recruited from the Oslo Rheumatoid Arthritis Register. *Annals of the rheumatic diseases*. 2002 Dec;61(12):1085-9. PubMed PMID: 12429540. Pubmed Central PMCID: 1753963.

146. Haugeberg G, Uhlig T, Falch JA, Halse JI, Kvien TK. Reduced bone mineral density in male rheumatoid arthritis patients: frequencies and associations with demographic and disease variables in ninety-four patients in the Oslo County Rheumatoid Arthritis Register. *Arthritis and rheumatism*. 2000 Dec;43(12):2776-84. PubMed PMID: 11145036.

147. Seo SK, Cho S, Kim HY, Choi YS, Park KH, Cho DJ, et al. Bone mineral density, arterial stiffness, and coronary atherosclerosis in healthy postmenopausal women. *Menopause*. 2009 Sep-Oct;16(5):937-43. PubMed PMID: 19387416.

148. Sumino H, Ichikawa S, Kasama S, Takahashi T, Sakamoto H, Kumakura H, et al. Relationship between brachial arterial endothelial function and lumbar spine bone mineral density in postmenopausal women. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*. 2007 Oct;71(10):1555-9. PubMed PMID: 17895551.

149. Tanaka K, Inaba M, Goto H, Nagata-Sakurai M, Sakai S, Yamada S, et al. Paraarticular trabecular bone loss at the ultradistal radius and increased arterial stiffening in postmenopausal

patients with rheumatoid arthritis. The Journal of rheumatology. 2006 Apr;33(4):652-8. PubMed
PMID: 16583470.

ABREVIATURAS

ACCP	Anticuerpos anti-péptido citrulinado
ACR	American Collegue of Reumathology
AINEs	Antiinflamatorios no esteroideos
AR	Artritis reumatoide
CDAI	Clinical Disease activity Score
DAS28	Disease Activity Score
DE	Desviación estándar
DEX	Dual energy X-ray absorptiometry
DMO	Densidad mineral ósea
EULAR	European League against Rheumatism
FAME	Fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad
FMD	Flow mediated dilatation
FMI	Fat mass index
FFMI	Fat free mass index
FR	Factor reumatoide
HAQ	Health Assesment Questionnaire
IFN	Interferón
IGF-1	Factor de crecimiento similar a la insulina
IMC	Índice de masa corporal
MG	Masa grasa
MLG	Masa libre de grasa
NF-kB	Factor nuclear kappa B
RANKL	Receptor activador del factor nuclear kappa B ligando
OPG	Osteoprotegerina
PCR	Proteína C reactiva
PTH	Hormona paratiroidea
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
SCORE	Systematic Coronary Risk Evaluation
SDAI	Simplified disease activity score
TAC	Tomografía axial computerizada
TNF	Factor de necrosis tumoral
VSG	Velocidad de sedimentación globular.

ANEXO 1

Relationship of abdominal adiposity and body composition with endothelial dysfunction in patients with rheumatoid arthritis

E. Delgado-Frías¹, M.A. González-Gay^{2,3}, J.R. Muñiz-Montes⁴,
M.A. Gómez Rodríguez-Bethencourt⁵, A. González-Díaz⁵, F. Díaz-González^{1,6},
I. Ferraz-Amaro¹

¹Division of Rheumatology, Hospital Universitario de Canarias, Tenerife, Spain;

²Division of Rheumatology, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, IDIVAL, Santander, Spain;

³University of the Witwatersrand, Johannesburg, South Africa;

⁴IMETISA, Hospital Universitario de Canarias, Tenerife, Spain;

⁵Division of Nuclear Medicine, Hospital Universitario de Canarias, Tenerife, Spain;

⁶Department of Medicine, School of Medicine, Universidad de La Laguna, Tenerife, Spain.

Abstract

Objective

We aimed to investigate whether the abnormalities in body composition and abdominal fat that occur in rheumatoid arthritis (RA) are associated with the presence of endothelial dysfunction.

Methods

Cross-sectional study that encompassed 197 women (100 RA patients and 97 age-matched controls). Patients and controls were evaluated to establish endothelial function by brachial artery flow-mediated dilatation (FMD). Dual-x-ray-absorptiometry-derived body composition and abdominal adiposity by magnetic resonance imaging were assessed. Multiple regression analysis was performed to study the relationship between body composition and endothelial function.

Results

FMD was higher in controls compared to RA patients (8.5 [4.5–15.6] % vs. 5.3 [0.0–9.2] %, $p=0.00$). Appendicular-to-total lean mass ratio (0.42 ± 0.02 vs. 0.40 ± 0.03 , $p=0.00$) and appendicular-to-trunk lean mass (0.82 ± 0.08 vs. 0.78 ± 0.08 , $p=0.00$) were lower in RA patients. Visceral and subcutaneous abdominal fat tissues did not differ between patients and controls. Body mass index over 30 kg/m^2 was common in patients and controls (44 and 32%). High sarcopenia tended to be more elevated in RA after multivariate adjustment (13% vs. 7%, $p=0.06$). Fat mass index showed a negative association (per standard deviation-SD-), after adjusting for comorbidity, with FMD in controls (beta coef. $-0.45[-1.05-0.05]$, $p=0.03$) but not in patients. Overfat definition (beta coef. $-0.81[-1.73-0.00]$, $p=0.05$) and visceral fat (per SD beta coef. $-0.60[-1.18-0.02]$, $p=0.04$) were associated with a lower FMD values in controls but not in RA patients. Trend analysis revealed that sarcopenia was related to increased endothelial dysfunction in both patients and controls.

Conclusion

Our findings suggest that fat accumulation is not associated with endothelial dysfunction in RA patients. However, RA patients with sarcopenia are more likely to suffer endothelial dysfunction possibly being at higher cardiovascular risk.

Key words

rheumatoid arthritis, body composition, adiposity, abdominal fat tissue, endothelial function, cardiovascular disease.

Esmeralda Delgado-Frías, MD
Miguel A. González-Gay, MD, PhD
José R. Muñoz-Montes, PhD
María A. Gómez

Rodríguez-Bethencourt, PhD
Antonieta González-Díaz, PhD
Federico Díaz-González, PhD
Iván Ferraz-Amaro, PhD

Please address correspondence to:
Iván Ferraz-Amaro,

Division of Rheumatology,
Hospital Universitario de Canarias,
38320 Santa Cruz de Tenerife, Spain.
E-mail: iferrazamaro@hotmail.com

Received on December 5, 2014; accepted
in revised form on March 13, 2015.

© Copyright CLINICAL AND
EXPERIMENTAL RHEUMATOLOGY 2015.

Funding: this work was supported by a grant from the Fundación Española de Reumatología to I. Ferraz-Amaro and by a grant from the Spanish Ministry of Health (Fondo de Investigaciones Sanitarias) to F. Díaz-González (FIS 09/02209).

The work performed by M.A. González-Gay has been supported by grants from Fondo de Investigaciones Sanitarias PI06/0024, PS09/00748 and PI12/00060, from the RETICS Program, RD08/0075 and RD12/0009/0013 (RIER) from the Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) (Spain).

Competing interests: none declared.

Introduction

There is growing evidence that the proportions and bodily distribution of fat and lean mass have important implications for health. Characteristically, obesity has been shown, in several large, prospective, long-term studies using multivariate analyses, to be an independent risk factor for all-cause mortality in both women and men (1). Obesity may also promote preclinical atherosclerotic changes by a direct effect on vascular physiology (2). In this context, the American Heart Association has also identified obesity as an independent risk factor for coronary heart disease (CHD) based upon many studies that have demonstrated a linear, longitudinal relationship between obesity and CHD (3, 4). Other studies have demonstrated that central adiposity and total body fat mass are also associated with an increased risk of morbidity and mortality (5, 6). For example, at any given level of body mass index (BMI), the risk of developing cardiovascular disease in both men and women increases with higher levels of abdominal fat (7). For this reason, and due to the fact that body fat can differ dramatically at the same BMI, it is becoming of increasing interest to measure the proportions and patterns of body fat distribution as a more accurate way to quantify its relation with cardiovascular risk. On the other hand, the loss of skeletal muscle mass and strength, a process known as sarcopenia, has been associated with a number of adverse health outcomes, including functional decline, insulin resistance, fatigue, fractures and mortality (8). Although less studied than obesity, sarcopenia has been linked to atherosclerosis as well (9).

Rheumatoid arthritis (RA) is a debilitating, chronic, systemic, autoimmune disease of unknown etiology that causes the destruction of joint cartilage. All-cause mortality is two to five times higher in RA patients than in the general population and the most frequent cause of death in RA is cardiovascular disease (10, 11). Patients with RA have been described as expressing an altered body composition, specifically a decreased fat free mass (FFM), known as 'rheumatoid cachexia' (12), although

recent studies have also shown that a substantial portion of individuals with RA may be obese or "overfat" (13-15). This altered body composition in conjunction with a chronic proinflammatory state and combined with additional factors that often occur in patients with RA (e.g. low physical activity, joint stiffness, metabolic changes, treatments with corticoids and non-steroidal anti-inflammatory drugs, pain and disuse of muscles) all contribute to the accelerated atherosclerosis observed in patients with RA (16-18). However, this apparent relationship between altered body composition and cardiovascular disease has not been completely elucidated in RA patients.

In this study, we assessed body composition by dual x-ray absorptiometry, abdominal adiposity by magnetic resonance imaging, and the presence of subclinical atherosclerosis by flow-mediated vasodilatation of brachial artery in RA patients and matched controls with no previous history of cardiovascular events. We sought to determine whether body composition and abdominal adiposity are associated with endothelial dysfunction in patients with RA.

Materials and methods

Study participants

One hundred and ninety-seven women, 100 RA patients and 97 age-matched controls, were recruited for this case and control study. Since RA is more prevalent in women and because body phenotypes are related to gender, only women were selected for our study. All RA patients were women 18 years old or older who fulfilled the 2010 ACR/EULAR diagnostic criteria (19). For the purpose of inclusion in the present study, RA disease duration was required to be ≥ 1 year. Because anti-TNF-alpha treatment has been associated with changes in body fat mass and with improvement in endothelial function (20-22), RA patients undergoing TNF-alpha antagonist therapy were not included in the present study. The control group consisted of people living in the same area during the same time period of the study, and who matched for age and the presence of diabetes, hypertension or smoking. Patients and

controls were excluded if they had a history of myocardial infarction, angina, stroke, a glomerular filtration rate <60 ml/min/1.73 m², a history of cancer, or evidence of active infection. None of the controls was receiving glucocorticoids, however, since such anti-inflammatories are often used in the management of RA, patients taking prednisone or an equivalent dose (<10 mg/day or less) were not excluded. The study protocol was approved by the Institutional Review Committee at Hospital Universitario de Canarias (Spain), and all subjects provided written informed consent.

Data collection

Surveys on RA patients and controls were performed in the same way, except for additional questions asked of the former. Subjects completed a cardiovascular risk factor and medication use questionnaire and underwent a physical examination to determine their anthropometrics and blood pressure. Medical records were reviewed to ascertain specific diagnoses and medications. Experienced research nurses obtained all anthropometric measures. In patients with RA, disease activity was measured using the Disease Activity Score (DAS28) in 28 joints (23), while disease disability was determined using the Health Assessment Questionnaire (HAQ) (24).

Abdominal adiposity

Abdominal fat distribution was determined via magnetic resonance imaging (MRI) by estimating subcutaneous and visceral fat in terms of mm² area at the baseline visit. Contiguous T1 weighted magnetic resonance images were obtained from the diaphragm to the pubic symphysis using a General Electric 1.5 Tesla Magneto Signa Horizon. The field of view was made large enough to display the entire outline of the abdomen. From this data set, the image closest to the level of the umbilicus was selected for further analysis. This image was transferred to a stand-alone workstation where images were analysed by an experienced radiologist who was blinded with regard to the clinical characteristics of the partici-

pants. Cross-sectional areas of intra-abdominal (IAAT) and subcutaneous abdominal adipose tissue (SAAT) were calculated by identifying and excluding muscle, bone, blood vessels, and gastrointestinal structures (25).

Body composition, obesity and sarcopenia assessments

Body composition and regional body fat distribution were assessed using a Lunar Prodigy DXA system. DXA has been validated as a method of assessing body composition in both younger and older persons. DEXA has been generally accepted as a reproducible method and is sensitive to small changes in body composition (26, 27). BMI was calculated as weight (kg) divided by height (m²) (28). Obesity by BMI was defined as a BMI ≥ 30 kg/m². With regard to waist circumference (WC), women with a WC ≥ 88 cm were classified as obese (28). Since there is no unanimous consensus on the standard definition of obesity based on the percentage of body fat, we used the approach put forward by Gallagher *et al.* (29). This formula is based on sex, ethnicity, and age cut-off points vis-à-vis body fat percentages from a large cohort of healthy adults. For the women included in our study (Caucasians), obesity definitions ranged from 21% fat mass in 20-39 year-olds and BMIs <18.5 , to 43% fat mass in 60-79 year-olds and BMIs ≥ 30 . Cut-off points for defining sarcopenia were based on the criteria proposed by Janssen *et al.* (30), which classified moderate sarcopenia as a relative skeletal muscle index between 5.76-6.75 kg/m², and high sarcopenia as ≤ 5.75 kg/m².

Assessment of flow-mediated endothelial-dependent vasodilation of the brachial artery

Flow-mediated endothelium-dependent vasodilatation (FMD) of the brachial artery was assessed by means of ultrasound imaging using a 7-MHz linear probe and automated vessel-diameter measurements (Medical Imaging Applications) as previously described (31). Patients fasted for 8 h before the study and all vasoactive medications were withheld for at least four half-lives. In addition, subjects did not exercise or in-

gest substances that might affect FMD. The brachial artery was imaged above the antecubital fossa continuously for 1 minute at baseline and again after inflation (pressure, 250 mm Hg for 5 minutes) and deflation of a sphygmomanometer cuff placed on the forearm. Images were subsequently analysed offline with the use of dedicated edge detection software (Brachial Tools, Version 3.2.6, Medical Imaging Applications, Coralville, Iowa). Dilatation was quantified as the change, expressed as a percentage, from baseline to the peak diameter, between 45 and 75 seconds after release of the blood-pressure cuff. After 10 minutes of rest, endothelium-independent dilatation was measured after sublingual administration of 25 μ g of nitroglycerin according to the same recording protocol.

Statistical analysis

As we had found in a preliminary study that age accounts for 8% ($r=0.08$) of the variability observed in endothelial dysfunction, we utilised a model of explanatory regression, adjusted for age, to analyse the relationship between body fat mass and endothelial dysfunction. Taking into account the addition of body fat percentage to the model with the goal of explaining 15% of the observed variability, we recruited 100 patients with RA. To maintain a 1:1 ratio with controls, we similarly included 97 control subjects. Demographic and clinical characteristics shown in Table I were compared between RA patients and controls by using chi² tests for categorical variables or Student *t*-tests for continuous variables (data described as mean \pm standard deviation). For non-continuous variables, either a Mann-Whitney U-test was performed or a logarithmic transformation was made, and data were expressed as a median (interquartile range). An examination of the relationship between body fat composition and endothelial function was carried out using multivariate analysis, adjusting for factors known to be associated with cardiovascular disease (model 1, shown in Table III) or with both these and those related to rheumatoid arthritis (model 1 + model 2, also shown in Table III). Linear trends as

revealed by FMD activity through sarcopenia stratification were tested using linear regression with orthogonal polynomial contrasts. All analyses used a 5% two-sided significance level and were performed using SPSS software, version 21 (IBM, Chicago, IL, USA). A p -value <0.05 was considered statistically significant.

Results

Demographic, analytical and disease-related data

A total of 197 female participants, 100 RA patients and 97 controls, with a mean (\pm standard deviation- SD) age of 55.6 ± 9.3 years and 54.8 ± 10.2 years ($p=0.57$), respectively, were included in this study. Demographic and disease-related characteristics of the participants are shown in Table I. No differences were found between patients and controls regarding BMI, waist and hip circumferences, waist-to-hip ratio and bicipital circumference. There were no differences in the frequency of hypertension and diabetes between patients and controls. RA patients had moderately active disease as shown by DAS28 (3.6 ± 1.0) and displayed a median HAQ of 0.934 (interquartile range, 0.300–1.500). Almost half of them (46.0%) were taking prednisone (mean current dose 2 [0–5] mg/day). Analyses of erythrocyte sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein (CRP) values revealed a non-statistically significant trend that was higher in patients than in controls. Lipid profiles did not display differences between patients and controls. FMD was higher in controls compared to RA patients (8.5 [4.5–15.6] % vs. 5.3 [0.0–9.2] %, $p=0.00$) but nitroglycerin mediated dilatation was not different between them.

Body composition and abdominal adiposity as assessed by DEXA and MRI in controls and patients

RA patients, more than controls, tended to conform to the definition of obesity based on BMI (44% vs. 33%, $p=0.08$). There were no differences between controls and patients using the definition of obesity based on waist circumference (68 vs. 69%, $p=0.86$, respectively). Fat-mass index

Table I. Demographic, laboratory and disease-related data.

	Control patients (n=97)	RA patients (n=100)	<i>p</i>
Age, years	54.8 \pm 10.2	55.6 \pm 9.3	0.57
<i>Anthropometric data</i>			
Height, cm	159 \pm 7	159 \pm 6	0.97
Weight, kg	72 \pm 14	74 \pm 15	0.31
Body mass index, kg/m ²	28.3 \pm 4.9	29.2 \pm 5.9	0.21
Waist circumference, cm	94 \pm 12	97 \pm 16	0.08
Waist/hip ratio	0.88 (0.83-0.91)	0.90 (0.84-0.95)	0.11
Hip circumference, cm	107 \pm 12	108 \pm 13	0.54
Bicipital circumference, cm	30 \pm 5	30 \pm 3	0.88
<i>Comorbidities</i>			
Hypertension, n (%)	31 (32)	40 (40)	0.22
Systolic pressure, mmHg	120 (110-140)	121 (114-140)	0.68
Diastolic pressure, mmHg	77 (70-80)	79 (70-81)	0.48
Current smoker, n (%)	2 (2)	3 (3)	0.99
Diabetes, n (%)	7 (7)	15 (15)	0.09
Currently on aspirin, n (%)	10 (10)	6 (6)	0.27
Other chronic illnesses, n (%)	28 (30)	16 (6)	0.03
<i>Laboratory data</i>			
ESR, mm/h	23 (16-39)	25 \pm 14	0.10
CRP, mg/L	2.50 (1.20-7.20)	4.13 \pm 3.10	0.08
Cholesterol, mg/dL	205 \pm 37	214 \pm 42	0.29
Triglycerides, mg/dL	106 \pm 46	133 \pm 77	0.07
HDL cholesterol, mg/dL	54 \pm 10	55 \pm 14	0.87
LDL cholesterol, mg/dL	130 \pm 33	133 \pm 35	0.69
Apolipoprotein A1, mg/dL	152 \pm 16	156 \pm 25	0.65
Apolipoprotein B, mg/dL	87 \pm 28	91 \pm 18	0.60
<i>Brachial ecography</i>			
FMD%	8.5 (4.5-15.6)	5.3 (0.0-9.2)	0.00
<i>Rheumatoid arthritis-related data</i>			
DAS28		3.6 \pm 1.0	
HAQ		0.934 (0.300-1.500)	
Current prednisone intake, n (%)		46 (46)	
Current prednisone, mg/day		2 (0-5)	
Disease duration, years		9.3 (3.0-13.0)	
Rheumatoid factor, n (%)		53 (53)	
Methotrexate, n (%)		80 (80)	

Values are mean \pm standard deviation or median (interquartile range).

ESR: erythrocyte sedimentation rate; CRP: C-reactive protein; HAQ: Health Assessment Questionnaire; DAS28: Disease Activity Score; HDL: high-density lipoprotein; LDL: low-density lipoprotein; FMD: Flow mediated dilatation.

tended to be higher in patients than controls (12907 ± 4215 vs. 12336 ± 3563 mg, $p=0.32$), although this difference did not reach statistical significance. Appendicular-to-total lean mass ratio (0.4 ± 0.02 vs. 0.40 ± 0.03 , $p=0.00$) and appendicular-to-trunk lean mass (0.82 ± 0.08 vs. 0.78 ± 0.08 , $p=0.00$) were significantly lower in RA patients than in controls. Visceral and parietal abdominal tissue areas (and the ratio between them), as assessed by MRI, did not differ between RA patients and controls (Table II). When obese and sarcopenia phenotypes were analysed, we found that obesity was very frequent in both RA and controls (more than 90% in each group). Elevated sar-

copenia, according to the definition put forward by Janssen *et al.*, tended to be higher in RA patients than in controls (13% vs. 6%, $p=0.06$). However, this was not the case for individuals included in the categories of moderate or absent sarcopenia, as no differences between patients and controls were found in either category.

The relationship of fat and lean mass to endothelial function in patients and controls

Table III and Figure 1 show the correlations of fat and lean mass indexes and phenotypes with sarcopenia with FMD in RA patients and controls. BMI and waist circumference were not associ-

Table II. Differences in body composition (DEXA) and abdominal adiposity (magnetic resonance image) between controls and patients.

	Controls	RA patients	<i>p</i> *
<i>Body mass index, kg/m²</i>			
Normal weight, n (%)	24 (25)	28 (28)	0.53
Overweight, n (%)	41 (42)	28 (28)	0.06
Obese, n (%)	32 (33)	44 (44)	0.08
<i>Wais circumference</i>			
Waist circumference >88 cm, n (%)	67 (69)	68 (68)	0.86
<i>DEXA</i>			
<i>Indexes and ratios</i>			
Fat mass index	12336 ± 3563	12907 ± 4215	0.32
Fat-free mass index	15867 ± 1965	16300 ± 2126	0.15
Lean mass index	14904 ± 1899	15386 ± 2074	0.10
% Trunk fat / % Leg fat	1.00 ± 0.12	1.00 ± 0.16	0.91
Apendicular fat mass / m ²	5308 ± 1569	5465 ± 1919	0.54
Apendicular lean mass / m ²	6182 ± 795	6185 ± 940	0.98
Apendicular / total lean mass	0.42 ± 0.02	0.40 ± 0.03	0.00
Apendicular / total fat mass	0.43 ± 0.05	0.43 ± 0.06	0.56
Apendicular / trunk lean mass	0.82 ± 0.08	0.78 ± 0.08	0.00
Apendicular / trunk fat mass	0.82 ± 0.17	0.81 ± 0.21	0.82
<i>Magnetic resonance imaging</i>			
Visceral abdominal tissue (cm ²)	31947 ± 11831	33158 ± 12478	0.55
Subcutaneous abdominal tissue (cm ²)	10059 ± 4955	10416 ± 5785	0.69
VAAT/SAAT ratio	0.32 ± 0.14	0.33 ± 0.20	0.74
<i>Phenotypes</i>			
Obese according to Gallagher <i>et al.</i> , n (%)	87 (90)	91 (91)	0.95
<i>Sarcopenia according to Janssen et al.</i>			
High sarcopenia, n (%)	6 (6)	13 (13)	0.06
Moderate sarcopenia, n (%)	36 (37)	37 (37)	0.94
No sarcopenia, n (%)	58 (60)	50 (50)	0.45

Data were expressed as n (%) or media ± standard deviation. Fat mass index: fat mass mg/m²; Fat-free mass index: fat-free mass mg/m²; Lean mass index: lean mass mg/m².

*Data were adjusted for age and comorbidity. VAAT/SAAT: visceral/subcutaneous abdominal adipose tissue ratio.

ated with endothelial function in RA patients or control subjects. When fat mass index was examined in this same regard, the index showed a negative association (per standard deviation -SD-) with FMD in controls after adjusting for age, hypertension, diabetes, and

smoking (beta coef. -0.45 [-1.05-0.05], *p*=0.03). However, this association was not found in RA patients even after adjusting for comorbidity (diabetes, hypertension and smoking) or RA-related covariables. Similarly, ‘overfat’- based on the Gallagher definition – showed

a trend towards lower FMD values in controls (beta coef. -0.81 [-1.73-0.00], *p*=0.05), but not in RA patients (beta coef. -0.09 [-0.81-0.64], *p*=0.81). Lean mass index (per SD) was not associated with FMD in either RA patients or controls. Visceral abdominal fat (per SD) was associated with lower FMD values (beta coef. -0.60 [-1.18-0.02], *p*=0.04) in controls after adjusting for hypertension, diabetes or smoking. This association was not observed in RA patients even after adjusting for covariates related to the disease such as disease duration and activity, CRP or the presence of rheumatoid factor. Subcutaneous abdominal fat and visceral/subcutaneous adipose tissue ratio similarly had no apparent impact on controls or RA patients.

On the other hand, the relationship of sarcopenia with FMD revealed some similarities between RA patients and controls. In this regard, the presence of high and moderate sarcopenia was associated with lower FMD levels, even adjusting for cardiovascular risk factors and RA-related covariables. Statistical trend analysis confirmed this association (Fig. 1).

Discussion

In our study, we have found that endothelial dysfunction in patients with RA is not associated with total body adiposity and/or visceral abdominal fat. This was not the case with controls where low values of FMD were inversely associated with body adiposity and visceral abdominal fat. Nevertheless, the sarcopenia pheno-

Table III. Multivariable-adjusted linear regression models assessing association of adiposity phenotypes to endothelial dysfunction in RA patients and controls.

	log Flow mediated dilation beta coef (95% CI)									
	RA patients					Controls				
	Unadjusted	<i>p</i>	Model 1	<i>p</i>	Model 2	<i>p</i>	Unadjusted	<i>p</i>	Model 1	<i>p</i>
BMI (kg/m ²), per SD	-0.01 (-0.31-0.29)	0.97	-0.07 (-0.53-0.40)	0.77	-0.07 (-0.41-0.28)	0.70	-0.12 (-0.61-0.37)	0.62	0.09 (-0.26-0.43)	0.62
Waist circumference >88 cm	-0.23 (-0.88-0.42)	0.48	-0.07 (-0.80-0.66)	0.85	-0.14 (-0.88-0.61)	0.71	-0.34 (-1.22-0.54)	0.44	-0.38 (-1.23-0.48)	0.37
Overfat Gallagher definition	-0.04 (-0.67-0.59)	0.90	0.17 (-0.54-0.88)	0.62	-0.09 (-0.81-0.64)	0.81	-0.47 (-1.42-0.47)	0.32	-0.81 (-1.73-0.00)	0.05
Fat mass index (fat mass/kg ²), per SD	0.15 (-0.57-0.27)	0.47	-0.07 (-0.55-0.41)	0.77	-0.23 (-0.77-0.33)	0.41	-0.40 (-1.02-0.21)	0.19	-0.45 (-1.05--0.05)	0.03
Lean mass index (lean mass/kg ²), per SD	-0.10 (-0.42-0.22)	0.55	-1.30 (-0.46-0.20)	0.43	-0.10 (-0.45-0.26)	0.58	0.24 (-0.54-1.03)	0.54	-0.11 (-0.95-0.73)	0.78
Visceral abdominal fat*, per SD	0.04 (-0.33-0.41)	0.83	0.21 (-0.22-0.64)	0.34	-0.01 (-0.56-0.54)	0.97	-0.63 (-1.25--0.01)	0.04	-0.60 (-1.18--0.02)	0.04
Subcutaneous abdominal fat*, per SD	-0.20 (-0.57-0.18)	0.30	-0.16 (-0.57-0.25)	0.43	-0.30 (-0.76-0.17)	0.20	-0.13 (-0.78-0.51)	0.67	-0.11 (-0.72-0.51)	0.73
VAF/SAF ratio*	0.06 (-0.33-0.44)	0.77	0.12 (-0.29-0.53)	0.54	0.02 (-0.47-0.50)	0.95	-0.41 (-1.06-0.24)	0.20	-0.30 (-0.96-0.35)	0.34

Model 1 is adjusted for age, hypertension, diabetes, smoking and comorbidity. Model 2 is adjusted for all covariates from Model 1 plus disease duration, rheumatoid factor, corticoids intake, C-reactive protein and DAS28. *By magnetic resonance imaging.

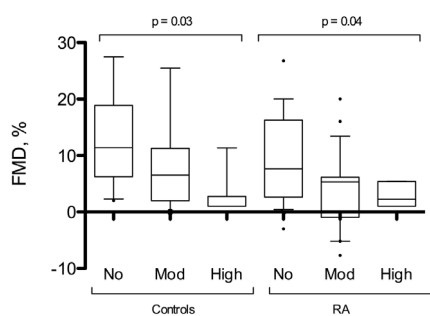


Fig. 1.

type (low lean mass) appeared to be related to endothelial dysfunction in both RA patients and controls. Based on these findings, we hypothesise that endothelial dysfunction in RA patients occurs independently of adiposity, a well-established cardiovascular risk factor prevalent in the general population. Our results suggest that the roles played by fat mass and adiposity may be less relevant in the increased risk levels for cardiovascular disease observed in RA patients *versus* the general population. This finding supports the role of inflammation as a major factor in the development of accelerated atherosclerosis in RA.

Our data regarding body composition are in keeping with prior reports that demonstrated significantly higher proportion of unhealthy body composition phenotypes in patients with RA (13, 32-36). In general, these studies reported a higher total and truncal fat mass, as well as a lower appendicular lean mass, in RA patients compared to controls. Although in our own series RA patients tended to have a higher proportion of fat mass, as well as an increased percentage of sarcopenia than controls, no statistically significant differences were found. Therefore, it is our contention that obesity may have been overestimated in our cohort since its prevalence (and that of overweight) in the Canary Islands is high (37). On the other hand, our study was not designed to identify potential differences in body composition but rather to determine whether there exists a relationship between endothelial function and body measurements in RA patients.

In keeping with the aforementioned findings, our results regarding magnetic resonance imaging of visceral adipos-

ity did not reveal any differences between patients and controls. Our results were contrasted with those previously reported in the study by Giles *et al.* (38), where subcutaneous fat was significantly different in women with RA compared to their control counterparts. As previously discussed, a potential explanation for these differences may stem from the relatively high frequency of obesity among our healthy controls.

FMD values in patients with RA have been found to correlate with biomarker data on endothelial cell activation and with other surrogate markers of subclinical atherosclerosis (39-42). In this regard, the presence of endothelial dysfunction, as assessed by brachial ultrasound, is known to be a marker of subclinical atherosclerotic cardiovascular disease in at-risk patients (43), and has been linked to adiposity and weight gain in non-rheumatic individuals (44). To the best of our knowledge, however, there is little information regarding the relationship of body composition with a surrogate marker of subclinical cardiovascular disease in patients with RA. In this respect, Dessein *et al.* (45) studied the associations of body mass index and waist circumference with high resolution B-mode ultrasound-determined carotid artery atherosclerosis in 203 African women with established RA (108 black and 95 Caucasian). In this study it was concluded that obesity in women with RA from developing groups of black african descent was not translated into atheroma. Similarly, in other report (46) of the same group, waist circumference was not related either with artery intima-media thickness or carotid artery plaque. On the other hand, Inaba *et al.* assessed the presence of body adiposity and determined brachial-ankle pulse wave velocity by dual-energy x-ray absorptiometry and waveform analyser, respectively in 30 patients with RA and 30 controls (47). In their study, which involved a multiple regression analysis encompassing age, systolic blood pressure, and trunk: peripheral fat ratio as independent variables, the latter emerged as an independent factor significantly associated with brachial-ankle pulse wave velocity in RA patients. In our study, which de-

termined body composition by DEXA and abdominal adiposity, we assessed for the first time the potential association of abdominal fat with endothelial dysfunction in RA. Unlike healthy controls, the lack of a link between visceral adiposity and FMD in RA patients is of potential relevance since it supports the contention that factors different from those traditionally associated with atherosclerotic disease in RA may actually play key roles in its pathogenesis. Contrary to our own findings, one recent study found that obesity was associated with worse RA disease outcomes and a higher prevalence of comorbidities. In this study, BMI and obesity conferred independently higher risks of being diagnosed with hypertension, diabetes mellitus, and/or chronic pulmonary disease (48). In addition, BMI and waist circumference were independently associated with angina pectoris, acute myocardial infarction and/or coronary revascularisation (48). It should be noted, however, that in this study obesity was defined by BMI or waist circumference, and no direct vascular measures were performed. In contrast, the absence of any significant correlation between adiposity and endothelial function in the RA patients from our series was established after adjusting for the classic risk factors and also, of note, by using also more accurate methods of measurement such as DEXA and MRI. Our finding of a link between sarcopenia and endothelial dysfunction in RA patients is similar to those observed in other disorders, as well as in the general population, where the relationship of sarcopenia with cardiovascular disease has been clearly established. In this regard, Alexandersen *et al.* (49) reported a strong and independent inverse association between aortic calcification and peripheral lean mass, even after adjusting for age and body mass index. Kim *et al.* (50), reported that appendicular skeletal muscle mass and visceral abdominal fat ratio (an index of sarcopenic obesity) were independently and negatively associated with metabolic syndrome and arterial stiffness, as determined by brachial-ankle pulse wave velocity. In keeping with these observations, Kohara *et al.* (51) reported that

brachial-ankle pulse wave velocity was higher (after excluding confounding parameters) in subjects with both thigh muscle sarcopenia and visceral obesity than in those with only one abnormality. An exception to that was found in a series of 30 patients with RA (52), a subgroup that did not exhibit significant differences in either the classic or the novel cardiovascular disease risk factors, in the 10-year cardiovascular risk, or in the prevalence of established cardiovascular disease in patients with rheumatoid cachexia compared to RA patients without this condition.

In accordance with other reports (53), we believe that for unknown reasons the increased fat mass ameliorates disease activity such that obese patients with RA may suffer less joint destruction. Thus, obese patients will probably exhibit central adiposity, insulin resistance, metabolic syndrome and other traditional drivers contributing to an increased cardiovascular risk but, paradoxically, a lower cardiovascular-related morbidity than those with RA and classic sarcopenia (54). Therefore, the overall level of cardiovascular risk in an RA patient will reflect the balance between these opposing factors and, based on epidemiological studies, it appears that the dominant factor among these is the effect of disease activity related to inflammation (52).

We acknowledge that some potential limitations may exist in our study. First, due to the characteristics of our population the frequency of obesity in our study was high in both patients and controls. This fact may account for the lower probability of establishing significant differences between the two groups of individuals. Second, overfat and sarcopenia definitions were taken from studies involving non-rheumatic individuals. Due to this, these definitions may not be applicable to patients with RA. Third, some potential confounders such as physical activity, energy intake and expenditure, which may have influenced the association of body composition with FMD, were not assessed in the present study.

In conclusion, in our population, adiposity does not explain the development of endothelial dysfunction in patients

with RA. Nevertheless, sarcopenia was linked to endothelial dysfunction in both healthy controls and patients. Although the actual effects of adiposity and sarcopenia in the development of endothelial dysfunction in patients with chronic inflammatory diseases like RA warrant further investigation, our data may help to establish the influence of body composition or adiposity on the mechanisms associated with cardiovascular disease in RA patients.

References

- POIRIER P, GILES TD, BRAY GA *et al.*: Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation* 2006; 113: 898-918.
- BEHN A, UR E: The obesity epidemic and its cardiovascular consequences. *Curr Opin Cardiol* 2006; 21: 353-60.
- WORMSER D, KAPTOGE S, DI ANGELANTONIO E *et al.*: Separate and combined associations of body-mass index and abdominal adiposity with cardiovascular disease: collaborative analysis of 58 prospective studies. *Lancet* 2011; 377: 1085-95.
- JOUSILAHTI P, TUOMILEHTO J, VARTAINEN E, PEKKANEN J, PUSKA P: Body weight, cardiovascular risk factors, and coronary mortality. 15-year follow-up of middle-aged men and women in eastern Finland. *Circulation* 1996; 93: 1372-9.
- JANSEN I, KATZMARZYK PT, ROSS R: Waist circumference and not body mass index explains obesity-related health risk. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 379-84.
- SIMPSON JA, MACINNIS RJ, PEETERS A, HOPPER JL, GILES GG, ENGLISH DR: A comparison of adiposity measures as predictors of all-cause mortality: the Melbourne Collaborative Cohort Study. *Obesity* (Silver Spring). 2007; 15: 994-1003.
- SNIJDER MB, VAN DAM RM, VISSER M, SEIDELL JC: What aspects of body fat are particularly hazardous and how do we measure them? *Int J Epidemiol* 2006; 35: 83-92.
- WALSTON JD: Sarcopenia in older adults. *Curr Opin Rheumatol* 2012; 24: 623-7.
- LIM S, KIM JH, YOON JW *et al.*: Sarcopenic obesity: prevalence and association with metabolic syndrome in the Korean Longitudinal Study on Health and Aging (KLoSHA). *Diabetes Care* 2010; 33: 1652-4.
- MEUNE C, TOUZE E, TRINQUART L, ALLANORE Y: Trends in cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis over 50 years: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Rheumatology* (Oxford) 2009; 48: 1309-13.
- AVINA-ZUBIETA JA, CHOI HK, SADATSAFAVI M, ETMINAN M, ESDAILE JM, LACAILLE D: Risk of cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Arthritis Rheum* 2008; 59: 1690-7.
- WALSMITH J, ROUBENOFF R: Cachexia in rheumatoid arthritis. *Int J Cardiol* 2002; 85: 89-99.
- STAVROPOULOS-KALINOGLOU A, METSIOS GS, KOUTEDAKIS Y, KITAS GD: Obesity in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* (Oxford) 2011; 50: 450-62.
- GILES JT, LING SM, FERRUCCI L *et al.*: Abnormal body composition phenotypes in older rheumatoid arthritis patients: association with disease characteristics and pharmacotherapies. *Arthritis Rheum* 2008; 59: 807-15.
- STAVROPOULOS-KALINOGLOU A, METSIOS GS, KOUTEDAKIS Y *et al.*: Redefining overweight and obesity in rheumatoid arthritis patients. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 1316-21.
- ENGVALL IL, ELKAN AC, TENGSTRAND B, CEDERHOLM T, BRISMAR K, HAFSTROM I: Cachexia in rheumatoid arthritis is associated with inflammatory activity, physical disability, and low bioavailable insulin-like growth factor. *Scand J Rheumatol* 2008; 37: 321-8.
- RALL LC, ROUBENOFF R: Rheumatoid cachexia: metabolic abnormalities, mechanisms and interventions. *Rheumatology* (Oxford) 2004; 43: 1219-23.
- GONZALEZ-GAY MA, GONZALEZ-JUANATEY C, MARTIN J: Rheumatoid arthritis: a disease associated with accelerated atherogenesis. *Semin Arthritis Rheum* 2005; 35: 8-17.
- ALETAHA D, NEOGI T, SILMAN AJ *et al.*: 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 1580-8.
- ENGVALL IL, TENGSTRAND B, BRISMAR K, HAFSTROM I: Infliximab therapy increases body fat mass in early rheumatoid arthritis independently of changes in disease activity and levels of leptin and adiponectin: a randomised study over 21 months. *Arthritis Res Ther* 2010; 12: R197.
- GONZALEZ-GAY MA, GONZALEZ-JUANATEY C: Rheumatoid arthritis: Obesity impairs efficacy of anti-TNF therapy in patients with RA. *Nat Rev Rheumatol* 2012; 8: 641-2.
- FERRAZ-AMARO I, ARCE-FRANCO M, MUNIZ J *et al.*: Systemic blockade of TNF-alpha does not improve insulin resistance in humans. *Horm Metab Res* 2011; 43: 801-8.
- PREVOO ML, VAN 'T HOF MA, KUPER HH, VAN LEEUWEN MA, VAN DE PUTTE LB, VAN RIEL PL: Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 44-8.
- PINCUS T, SWEARINGEN C, WOLFE F: Toward a multidimensional Health Assessment Questionnaire (MDHAQ): assessment of advanced activities of daily living and psychological status in the patient-friendly health assessment questionnaire format. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 2220-30.
- THOMAS EL, SAEED N, HAJNAL JV *et al.*: Magnetic resonance imaging of total body fat. *J Appl Physiol* 1998; 85: 1778-85.

26. WANG J, HEYMSFIELD SB, AULET M, THORNTON JC, PIERSON RN, JR.: Body fat from body density: underwater weighing vs. dual-photon absorptiometry. *Am J Physiol* 1989; 256: E829-34.
27. VISSER M, PAHOR M, TYLAVSKY F *et al.*: One- and two-year change in body composition as measured by DXA in a population-based cohort of older men and women. *J Appl Physiol* 2003; 94: 2368-74.
28. OBESITY: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser* 2000; 894: i-xii, 1-253.
29. GALLAGHER D, HEYMSFIELD SB, HEO M, JEBB SA, MURGATROYD PR, SAKAMOTO Y: Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 694-701.
30. JANSSEN I, BAUMGARTNER RN, ROSS R, ROSENBERG IH, ROUBENOFF R: Skeletal muscle cutpoints associated with elevated physical disability risk in older men and women. *Am J Epidemiol* 2004; 159: 413-21.
31. CORRETTI MC, ANDERSON TJ, BENJAMIN EJ *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; 39: 257-65.
32. DAO HH, DO QT, SAKAMOTO J: Abnormal body composition phenotypes in Vietnamese women with early rheumatoid arthritis. *Rheumatology* (Oxford) 2011; 50: 1250-8.
33. BOOK C, KARLSSON MK, NILSSON JA, AKESSON K, JACOBSSON LT: Changes in body composition after 2 years with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2011; 40: 95-100.
34. ELKAN AC, ENGVALL IL, CEDERHOLM T, HAFSTROM I: Rheumatoid cachexia, central obesity and malnutrition in patients with low-active rheumatoid arthritis: feasibility of anthropometry, Mini Nutritional Assessment and body composition techniques. *Eur J Nutr* 2009; 48: 315-22.
35. GILES JT, BARTLETT SJ, ANDERSEN RE, FONTAINE KR, BATHON JM: Association of body composition with disability in rheumatoid arthritis: impact of appendicular fat and lean tissue mass. *Arthritis Rheum* 2008; 59: 1407-15.
36. SUMMERS GD, DEIGHTON CM, RENNIE MJ, BOOTH AH: Rheumatoid cachexia: a clinical perspective. *Rheumatology* (Oxford) 2008; 47: 1124-31.
37. BAUTISTA-CASTANO I, ALEMAN-PEREZ N, GARCIA-SALVADOR JJ, GONZALEZ-QUE-SADA A, GARCIA-HERNANDEZ JA, SERRA-MAJEM L: [Prevalence of obesity in pregnant women of Canary Islands, Spain]. *Med Clin (Barc)* 2011; 136: 478-80.
38. GILES JT, ALLISON M, BLUMENTHAL RS *et al.*: Abdominal adiposity in rheumatoid arthritis: association with cardiometabolic risk factors and disease characteristics. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 3173-82.
39. SODERGREN A, KARP K, BOMAN K *et al.*: Atherosclerosis in early rheumatoid arthritis: very early endothelial activation and rapid progression of intima media thickness. *Arthritis Res Ther* 2010; 12: R158.
40. GONZALEZ-JUANATEY C, LLORCA J, GONZALEZ-GAY MA: Correlation between endothelial function and carotid atherosclerosis in rheumatoid arthritis patients with longstanding disease. *Arthritis Res Ther* 2011; 13: R101.
41. DESSEIN PH, TOBIAS M, VELLER MG: Metabolic syndrome and subclinical atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2006; 33: 2425-32.
42. CHUNG CP, OESER A, SOLUS JF *et al.*: Prevalence of the metabolic syndrome is increased in rheumatoid arthritis and is associated with coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2008; 196: 756-63.
43. HALCOX JP, DONALD AE, ELLINS E *et al.*: Endothelial function predicts progression of carotid intima-media thickness. *Circulation* 2009; 119: 1005-12.
44. ROMERO-CORRAL A, SERT-KUNIYOSHI FH, SIERRA-JOHNSON J *et al.*: Modest visceral fat gain causes endothelial dysfunction in healthy humans. *J Am Coll Cardiol* 2010; 56: 662-6.
45. SOLOMON A, NORTON GR, WOODIWISS AJ, DESSEIN PH: Obesity and carotid atherosclerosis in African black and Caucasian women with established rheumatoid arthritis: a cross-sectional study. *Arthritis Res Ther* 2012; 14: R67.
46. DESSEIN PH, NORTON GR, JOFFE BI, ABDOOL-CARRIM AT, WOODIWISS AJ, SOLOMON A: Metabolic cardiovascular risk burden and atherosclerosis in African black and Caucasian women with rheumatoid arthritis: a cross-sectional study. *Clin Exp Rheumatol* 2013; 31: 53-61.
47. INABA M, TANAKA K, GOTO H *et al.*: Independent association of increased trunk fat with increased arterial stiffening in postmenopausal patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2007; 34: 290-5.
48. AJEGANOVA S, ANDERSSON ML, HAFSTROM I: Association of obesity with worse disease severity in rheumatoid arthritis as well as with comorbidities: a long-term followup from disease onset. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2013; 65: 78-87.
49. ALEXANDERSEN P, TANKO LB, BAGGER YZ, JESPERSEN J, SKOUBY SO, CHRISTIANSEN C: Associations between aortic calcification and components of body composition in elderly men. *Obesity* (Silver Spring) 2006; 14: 1571-8.
50. KIM TN, PARK MS, LIM KI *et al.*: Skeletal muscle mass to visceral fat area ratio is associated with metabolic syndrome and arterial stiffness: The Korean Sarcopenic Obesity Study (KSOS). *Diabetes Res Clin Pract* 2011; 93: 285-91.
51. KOHARA K, OCHI M, TABARA Y, NAGAI T, IGASE M, MIKI T: Arterial stiffness in sarcopenic visceral obesity in the elderly: J-SHIP study. *Int J Cardiol* 2012; 158: 146-8.
52. METSIOS GS, STAVROPOULOS-KALINOGLOU A, PANOULAS VF *et al.*: Rheumatoid cachexia and cardiovascular disease. *Clin Exp Rheumatol* 2009; 27: 985-8.
53. KITAS GD, GABRIEL SE: Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis: state of the art and future perspectives. *Ann Rheum Dis* 2011; 70: 8-14.
54. SUMMERS GD, METSIOS GS, STAVROPOULOS-KALINOGLOU A, KITAS GD: Rheumatoid cachexia and cardiovascular disease. *Nat Rev Rheumatol* 2010; 6: 445-51.

ANEXO 2

Relationship between endothelial dysfunction and osteoprotegerin, vitamin D, and bone mineral density in patients with rheumatoid arthritis

E. Delgado-Frías¹, R. López-Mejías², F. Genre², B. Ubilla², M.A. Gómez Rodríguez-Bethencourt³, A. González-Díaz³, A.M. de Vera-González⁴, A.F. González-Rivero⁴, F. Díaz-González^{1,5}, M.A. González-Gay^{2,6}, I. Ferraz-Amaro¹

¹Division of Rheumatology, Hospital Universitario de Canarias, Tenerife, Spain;

²Division of Rheumatology, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, IDIVAL, Santander, Spain;

³Division of Nuclear Medicine, and ⁴Central Laboratory Division, Hospital Universitario de Canarias, Tenerife, Spain; ⁵Department of Medicine. Facultad de Medicina, Universidad de La Laguna, Tenerife, Spain; ⁶University of the Witwatersrand, Johannesburg, South Africa.

Abstract

Objective

We aimed to investigate whether the abnormalities in bone mineral density (BMD) that occur in patients with rheumatoid arthritis (RA) are associated with the presence of endothelial dysfunction.

Methods

Cross-sectional study encompassing 216 subjects (111 patients with RA and 105 age- and sex-matched controls) without history of cardiovascular disease. Endothelial function was determined by brachial artery flow-mediated dilatation (FMD) and BMD by dual x-ray absorptiometry (DXA) measurements. Plasma vitamin D and osteoprotegerin serum (OPG) levels were assessed in patients and controls. Multiple regression analysis was performed to study the relationship between BMD with endothelial function, taking into account vitamin D and OPG levels.

Results

After adjusting for traditional cardiovascular risk factors, vitamin D and OPG levels, BMD emerged as an independent factor associated with lower FMD values in controls, but not in patients with RA. Although OPG levels were inversely associated with FMD values in both RA patients and controls after adjusting for BMD, vitamin D showed this relationship only in the controls.

Conclusion

Whilst OPG is associated with endothelial function in RA patients and controls, vitamin D levels and BMD are related to endothelial function in controls but not in patients with RA.

Key words

rheumatoid arthritis, bone mineral density, endothelial function, cardiovascular disease, osteoprotegerin, vitamin D

Esmeralda Delgado-Frías, MD
Raquel López-Mejías, PhD
Fernanda Genre, PhD
Begoña Ubilla, BSc
María A. Gómez

Rodríguez-Bethencourt, PhD
Antonieta González-Díaz, PhD
Antonia M. de Vera-González, PhD
Agustín F. González-Rivero, MD
Federico Díaz-González, PhD
Miguel A. González-Gay, MD, PhD*
Iván Ferraz-Amaro, PhD*

*I. Ferraz-Amaro and M.A. González-Gay share senior authorship.

Please address correspondence to:
Iván Ferraz-Amaro,
Division of Rheumatology,
Hospital Universitario de Canarias,
c/Ofra s/n, La Cuesta,
38320 San Cristóbal de La Laguna,
Santa Cruz De Tenerife, Spain.
E-mail: iferrazamaro@hotmail.com

Received on October 14, 2014; accepted
in revised form on January 7, 2015.

© Copyright CLINICAL AND
EXPERIMENTAL RHEUMATOLOGY 2015.

Funding: this work was supported by a grant from the Fundación Española de Reumatología to I. Ferraz-Amaro, and by a grant from the Spanish Ministry of Health (Fondo de Investigaciones Sanitarias), and co-financed by the European Regional Developed Fund to F. Díaz-González (FIS 12/02499). The work carried out by M.A. González-Gay was supported by grants from the Fondo de Investigaciones Sanitarias PI06/0024, PS09/00748 and PI12/00060, from the RETICS Program, RD08/0075 and RD12/0009/0013 (RIER) from the Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Spain.

Competing interests: none declared.

Introduction

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic, systemic, autoimmune disease of unknown aetiology that causes the destruction of joint cartilage. All-cause mortality is two to five times higher in RA patients than in the general population and the most frequent cause of death in RA is cardiovascular disease (1, 2). This increased rate of cardiovascular mortality in RA cannot be fully explained by the classic atherosclerosis risk factors, and it is thought to be the result of accelerated atherogenesis due to chronic inflammation (3). However, the underlying mechanisms leading to cardiovascular disease in RA are still being investigated (4, 5).

Patients with RA experience a generalised bone loss as the result of a systemic bone resorption that exceeds bone formation. Bone loss in RA may be systemic, periarticular, or focal. This is caused, in general, by immobility, cytokine-mediated systemic inflammation (e.g. tumour necrosis factor and interleukin-1), or by the effects of glucocorticoid therapy (6). Studies have shown that patients with RA have a 30% increased risk of major osteoporotic fracture and a 40% increased risk of hip fracture (7).

Atherosclerosis and osteoporosis appear to be epidemiologically and age-independently correlated in the general population (8). Patients with osteoporosis have higher levels of vascular calcification than those with normal bone mineral density (BMD) (9, 10) and clinical evidence has shown that osteoporosis is independently associated with cardiovascular events (11, 12) and increased cardiovascular mortality (13). Moreover, vascular calcification has been found to be related to an increased risk of fracture (14). Major advances in the understanding of the pathophysiology underlying osteoporosis and its link to vascular damage indicate that these two processes could share a common pathogenesis involving bone morphogenetic proteins such as vitamin D and the receptor activator of the RANKL-RANK-OPG pathway (receptor activator of nuclear factor κ B ligand-receptor activator of nuclear factor κ B - osteoprotegerin).

Osteoprotegerin (OPG) is a member of the tumour necrosis factor-related family that binds to RANKL, preventing its interaction with RANK and inhibiting osteoclast differentiation. There is now emerging evidence that OPG participates in the pathogenesis of atherosclerosis and cardiovascular diseases by amplifying the adverse effects of inflammation and several traditional risk factors such as hyperlipidaemia, endothelial dysfunction, diabetes mellitus, and hypertension (15, 16). Some epidemiological studies have also shown a positive association between OPG levels and cardiovascular morbidity and mortality (15, 17). Recent studies from our group have found an association between severe subclinical atherosclerosis and OPG levels in patients who lack clinically evident cardiovascular disease and who were undergoing anti-TNF therapy because of severe disease (18). Interestingly, the association of OPG with both carotid intima-media wall thickness and the presence of carotid plaques was independent of conventional risk factors and C-reactive protein (CRP) concentrations or disease activity (18). In patients with severe RA OPG concentrations were also associated with intercellular adhesion molecule (ICAM)-1, a biomarker of endothelial cell activation (18). More, recently, in a different cohort of unselected RA patients, we observed that OPG concentrations were higher in RA patients with cardiovascular disease compared to those without. This was true regardless of demographic features, traditional cardiovascular risk factors, adiposity and/or disease characteristics (19).

Regarding vitamin D, observational studies have shown an association between low vitamin D status and risk of cardiovascular events (20). In this context, in a meta-analysis of 19 prospective studies involving the general population (65,994 patients), there was an inverse relationship between serum 25[OH] vitamin D levels and the risk of cardiovascular disease (relative risk of 1.03, 95% CI 1.00-1.60, per 10 ng/mL decrement in serum 25[OH] vitamin D) (21). OPG and vitamin D were, respectively, up- and down-regulated in RA patients vis-à-vis controls (22, 23).

However, the relationship between endothelial function and OPG, vitamin D, and BMD in patients with RA has not been completely elucidated.

Osteoporosis, vascular calcification and cardiovascular events appear to be closely linked, regardless of age. However, the relationship between atherosclerosis and osteoporosis has not been fully studied in RA. In the present study, we assessed BMD by dual x-ray absorptiometry, as well as vitamin D and OPG serum levels, and the presence of subclinical atherosclerosis by flow-mediated vasodilatation of brachial artery in RA patients and matched controls with no previous history of cardiovascular events. We sought to determine whether BMD has some association with endothelial dysfunction in patients with RA, taking into account bone-related metabolites like vitamin D and OPG.

Materials and methods

Study participants

Two hundred and sixteen subjects (111 RA patients and 105 age-matched controls) were recruited for this cross-sectional study. All RA patients were 18 years old or older and fulfilled the 2010 ACR/EULAR diagnostic criteria (24). They had been diagnosed with RA by rheumatologists and were periodically followed at a rheumatology outpatient clinic. In addition, for the purpose of inclusion in the present study, RA disease duration had to be ≥ 1 year. Because anti-TNF- α treatment has been associated with improved endothelial function (25), RA patients undergoing TNF- α antagonist therapy were not included in the present study. The control group consisted of patients attending outpatient clinics for osteoarthritis, and who lived in the same area during the same time period of the study. In addition, they were matched for age and comorbidity. The study was performed from December 2011 to November 2012; therefore all seasons were equally spanned in the study interval. Patients and controls who were under vitamin D supplementations, had a history of a previous bone fracture, myocardial infarction, angina, stroke, a glomerular filtration rate < 60 ml/min/1.73 m²,

a history of cancer, or any other chronic disease, or evidence of active infection were excluded. None of the controls was receiving glucocorticoids; however, since they are often used in the management of RA, patients taking less than 10 mg/prednisone (or an equivalent dose) were not excluded.

The study protocol was approved by the Institutional Review Committee at Hospital Universitario de Canarias (Spain), and all subjects provided written informed consent.

Data collection

Surveys in RA patients and controls were performed in the same manner, except for the specific management for RA. All subjects completed a cardiovascular risk factor and medication use questionnaire and underwent a physical examination to determine their anthropometrics and blood pressure. Medical records were reviewed to ascertain specific diagnoses and medications. Experienced research nurses obtained all anthropometric measures (weight, standing height, and hip and waist circumferences). In patients with RA, disease activity was measured using the Disease Activity Score (DAS28) in 28 joints (26), while disease disability was determined using the Health Assessment Questionnaire (HAQ) (27).

Vitamin D and osteoprotegerin assessments

Vitamin D was determined through radioimmunoassay (DIAsource ImmunoAssays). Precision was estimated 7.2 to 7.3% (inter-assay) and 7.2 to 8.7% (intra-assay). Vitamin D levels were categorised according to the Institute of Medicine (IOM) systematic review (28) values: deficit (< 15 ng/mL), deficiency (15–30 ng/mL), and normal (> 30 ng/mL).

Human OPG serum levels were determined by ELISA as previously reported (19). Briefly, 96-well microplates were precoated with anti-human OPG antibody (Peprotech). Recombinant human OPG (Peprotech) was used to prepare the standard curve. The standard dilution series ranged from 0.313 to 20 ng/ml. First, 50 μ l of each standard or sample was added to the appropriate wells

and incubated for 3 hours at room temperature. After discarding the solution and washing 4 times, 50 μ l of prepared biotinylated anti-human OPG antibody (Peprotech) was added to each well and incubated for 1 hour. After washing away unbound biotinylated antibody, 50 μ l of horseradish peroxidase (HRP)-conjugated avidin (eBioscience) was pipetted into the wells and incubated for 30 minutes. Finally, plates were developed with ABTS Liquid Substrate (Peprotech) and read at 405 and 600 nm (as reference wavelengths) (19). Standard techniques were used to measure plasma C-reactive protein (CRP), the Westergren erythrocyte sedimentation rate (ESR), and serum lipid levels.

Bone mineral density assessment

Dual x-ray absorptiometric (DXA) measurements of areal BMD (g/cm²) at the lumbar spine L1–L4 and the femoral neck were carried out using a Lunar DPX Prodigy densitometer (Lunar, Madison, WI, USA). Other regions of interest such as the Ward's triangle, femoral diaphysis, total hip, and trochanter areas were also measured. The short-term precision of DXA measurements was 0.8% for the lumbar spine and 1.5% for the femoral neck. Results for areal BMD were expressed as an absolute value (g/cm², bone mineral content relative to projected area) and transformed to a T score using normal standard values from the Spanish population. Arms, legs, trunk, and total body BMD were also assessed and data was expressed as a percentage of body mass (bone mass divided for total body mass) in each of these areas. Cut-off values to categorise individuals were based on the World Health Organization criteria for diagnosing osteoporosis (29) according to the following measures – Normal: a BMD not inferior than -1 SD below young normal (T score ≥ 1); osteopenia: a BMD between 1 and 2.5 SD below young normal (T score < -1 and > -2.5); osteoporosis: a BMD 2.5 or more SD below young normal (T score ≤ -2.5). For the purposes of this study, osteopenia and osteoporosis (T score below < -1 SD) were included in the same category. For patients younger than 50 years old, we used the follow-

ing two categories: ‘Within the expected range for age’ (Z-score > -2 SD) and ‘Below the expected range for age’ (Z-score < -2 SD).

Assessment of flow-mediated endothelial-dependent vasodilation of the brachial artery

Flow-mediated endothelium-dependent vasodilatation (FMD) of the brachial artery was assessed by means of ultrasound imaging using a 7-MHz linear probe and automated vessel-diameter measurements (Medical Imaging Applications), as previously described (30). The studies were performed by a single examiner who acquired the images of the brachial artery in the morning, while patients were fasting, in a temperature-controlled room after 10 minutes of rest. Patients fasted for 8 h before the study and all vasoactive medications were withheld for at least four half-lives. In addition, subjects did not exercise or ingest substances that might affect FMD. The brachial artery was imaged above the antecubital fossa continuously for 1 minute at baseline and again after inflation (pressure, 250 mm Hg for 5 minutes) and deflation of a sphygmomanometer cuff placed on the forearm. Images were subsequently analysed offline with the use of dedicated edge detection software (Brachial Tools, Version 3.2.6, Medical Imaging Applications, Coralville, Iowa). Dilatation was quantified as the change, expressed as a percentage, from baseline to the peak diameter, between 45 and 75 seconds after release of the blood-pressure cuff. After 10 minutes of rest, endothelium-independent dilatation was measured after sublingual administration of 25 µg of nitroglycerin according to the same recording protocol.

Statistical analysis

Comparisons between RA patients and controls were performed using a χ^2 test for categorical variables or a Student’s *t*-test for continuous variables (data expressed as mean ± standard deviation-SD). For non-continuous variables, either a Mann-Whitney U-test was performed or a logarithmic transformation was made, and data were expressed as a median (interquartile range-IQR).

Table I. Demographic, analytical and disease-related data.

	Control patients (n=105)	RA patients (n=111)	<i>p</i> -value
Female, n (%)	97 (92)	100 (90)	0.55
Age, years	55.8 ± 9.5	54.8 ± 10.3	0.44
<i>Anthropometric data</i>			
Height, cm	160 ± 8	160 ± 7	0.72
Weight, kg	73 ± 15	75 ± 15	0.31
Body mass index, kg/m ²	28.3 ± 4.8	29.2 ± 5.7	0.25
Waist circumference, cm	95 ± 12	98 ± 15	0.09
Waist/hip ratio	88 (83-92)	90 (84-96)	0.08
Hip circumference, cm	105 ± 12	108 ± 12	0.58
Bicipital circumference, cm	30 ± 5	30 ± 3	0.88
<i>Comorbidity</i>			
Hypertension, n (%)	37 (35)	44 (40)	0.44
Systolic pressure, mmHg	120 (111-140)	128 (115-140)	0.63
Diastolic pressure, mmHg	80 (70-82)	80 (70-80)	0.55
Current smoker, n (%)	5 (5)	5 (4)	0.74
Diabetes, n (%)	8 (8)	16 (14)	0.11
Menopause, n (%)	69 (66)	71 (64)	0.98
Currently on aspirin, n (%)	13 (12)	7 (6)	0.13
NSAID use, n (%)	1 (10)	16 (14)	0.27
Other chronic illness, n (%)	29 (28)	18 (16)	0.05
<i>Analytical data</i>			
ESR, mm/h	23 ± 14	29 ± 20	0.02
CRP, mg/L	3.75 ± 3.06	8.27 ± 16.30	0.01
Cholesterol, mg/dL	205 ± 36	210 ± 41	0.49
Triglycerides, mg/dL	112 ± 57	132 ± 76	0.18
HDL cholesterol, mg/dL	55 ± 11	56 ± 15	0.74
LDL cholesterol, mg/dL	128 ± 32	129 ± 35	0.91
Apolipoprotein A1, mg/dL	150 ± 19	151 (141-165)	0.44
Apolipoprotein B, mg/dL	87 ± 25	90 ± 17	0.65
<i>Brachial echography</i>			
FMD%	8.5 (4.5-15.6)	5.3 (0.0-9.2)	0.00
<i>Rheumatoid arthritis-related data</i>			
DAS28		3.54 ± 1.04	
HAQ		0.750 (0.250-1.500)	
Current prednisone intake, n (%)		49 (44)	
Prednisone, mg/day		2 (0-5)	
Disease duration, years		8 (4-13)	
Rheumatoid factor, n (%)		60 (54)	
Methotrexate, n (%)		89 (80)	

Values are expressed as the mean ± standard deviation or median (interquartile range). ESR: erythrocyte sedimentation rate; CRP: C-reactive protein; HAQ: Health Assessment Questionnaire; DAS28: Disease Activity Score; HDL: high-density lipoprotein; LDL: low-density lipoprotein. FMD%: flow-mediated dilation; NSAID: non-steroidal anti-inflammatory drugs.

The relationship between BMD and endothelial function was carried out using multivariate analysis, adjusting for factors known to be associated with cardiovascular disease and for bone metabolism proteins. For this purpose, BMD was categorised as a dummy (binary) variable and considered superior or inferior to -1 T-score SD. The independent variable was categorised in this way since it does not have a lineal distribution and in our study few patients fulfilled the criteria to be included within the osteoporosis category. We established several models: Model 1, which studied the relationship between

BMD and FMD adjusted for age, sex and body mass index; Model 2 was adjusted for the variables of Model 1 plus hypertension, diabetes, lipids, and smoking; and Model 3, which was adjusted for the variables of Models 1 and 2 plus serum levels of OPG and vitamin D. Figure 1 represents the relationship of OPG and vitamin D with FMD after adjusting for age, sex, body mass index, hypertension, diabetes, smoking and, in this case, BMD. Tukey box plots, which represented the interquartile range and the 75th and 25th percentiles plus 1.5 times the interquartile range (whiskers) were included in Figure 1 to show

Table II. Bone mineral density and serum osteoprotegerin and vitamin D differences between controls and rheumatoid arthritis patients.

	Controls	RA patients	p-value
WHO classification, n (%)			
Patients >50 years old			
Normal (T-score >-1 SD)	49 (46.4)	38 (34.4)	0.08
Osteopenia (T-score -1- -2.5 SD)	43 (41.1)	64 (57.4)	0.05
Osteoporosis (T-score <-2.5)	13 (12.5)	9 (8.2)	0.70
Patients <50 years old			
Within the expected range for age	105 (100)	106 (95.5)	0.43
Below the expected range for age	0 (0)	5 (4.5)	
T-scores, n (%)			
L1-L4 T-score			
>-1 SD	70 (66.7)	71 (63.9)	
<-1 SD	35 (33.3)	40 (36.0)	0.67
Femoral neck T-score			
>-1 SD	77 (73.3)	69 (62.1)	
<-1 SD	28 (26.7)	42 (37.8)	0.14
Ward's triangle T-score			
>-1 SD	49 (46.7)	54 (48.6)	
<-1 SD	56 (53.3)	57 (51.4)	0.81
Trochanter T-score			
>-1 SD	90 (85.7)	82 (73.9)	
<-1 SD	15 (14.3)	29 (26.1)	0.05
Total hip T-score			
>-1 SD	85 (80.9)	80 (72.1)	
<-1 SD	20 (19.0)	31 (27.9)	0.20
Grams/cm² (± SD)*			
L1-L4	1.111 ± 0.208	1.089 ± 0.166	0.02
Femoral neck	0.901 ± 0.150	0.884 ± 0.132	0.11
Ward's triangle	0.730 ± 0.169	0.710 ± 0.141	0.13
Femoral trochanter	0.806 ± 0.143	0.782 ± 0.143	0.03
Femoral diaphysis	1.199 ± 0.220	1.164 ± 0.180	0.04
Total hip	0.994 ± 0.164	0.965 ± 0.147	0.02
Bone mass (± SD)*			
Arms bone mass (%)	4.1 ± 0.8	3.8 ± 1.0	0.04
Legs bone mass (%)	12.8 ± 2.0	12.1 ± 2.0	0.02
Trunk bone mass (%)	11.1 ± 2.5	9.9 ± 2.4	0.00
Total bone mass percentage (%)	34.7 ± 5.7	32.2 ± 5.8	0.00
Analytical data			
Osteoprotegerin, ng/mL	0.84 (0.50-1.46)	1.52 (0.96-3.40)	0.00
Vitamin D, ng/mL	42.50 (31.27-48.13)	33.64 (27.27-48.28)	0.10
Normal (>30 ng/mL), n (%)	82 (78.1)	72 (62.6)	0.03
Deficiency (15-30 ng/mL), n (%)	19 (18.1)	40 (34.8)	0.02
Deficit (<15 ng/mL), n (%)	4 (3.8)	3 (2.6)	0.99

*Grams/cm² and bone mass analysis were adjusted for age, sex and body mass index. Values are expressed as the mean ± standard deviation or median (interquartile range). SD: standard deviation; BMD: bone mineral density; L1-L4: Lumbar vertebrae 1 to 4. Below the expected range for age: Z-score <-2 SD. Within the expected range for age: (Z-score >-2 SD).

the relationship of vitamin D and OPG, as expressed in quartiles with FMD in both patients and controls. The p-values expressed the linear trends of FMD following OPG and vitamin D stratification (quartiles) using linear regression with orthogonal polynomial codification adjusted for sex, age, body mass index, diabetes, hypertension, lipids, smoking, and percentage of body bone mass. All analyses used a 5% two-sided significance level and were performed using SPSS software, version 21 (IBM,

Chicago, IL, USA). A p-value <0.05 was considered statistically significant.

Results

Demographic, analytical and disease-related data

Two hundred and sixteen subjects (111 RA patients and 105 controls) with a mean (±SD) age of 54.8±10.3 years and 55.8±9.5 years, respectively (p=0.44), were included in this study.

Demographic and disease-related characteristics of the participants are shown

in Table I. There were no differences in the frequency of hypertension and diabetes between patients and controls. RA patients had moderately active disease as shown by DAS28 (3.54±1.04) and displayed a median HAQ of 0.750 (IQR 0.250-1.500). Almost half (44%) were taking prednisone (median current dose 2 [0-5] mg/day). As expected, the ESR and CRP levels were significantly higher in patients compared to controls. The lipid profile did not display significant differences between patients and controls. Nevertheless, FMD values were higher in controls than in RA patients (8.5 [4.5-15.6] % vs. 5.3 [0.0-9.2] %, p=0.00).

BMD, and vitamin D and OPG

plasma levels in patients and controls

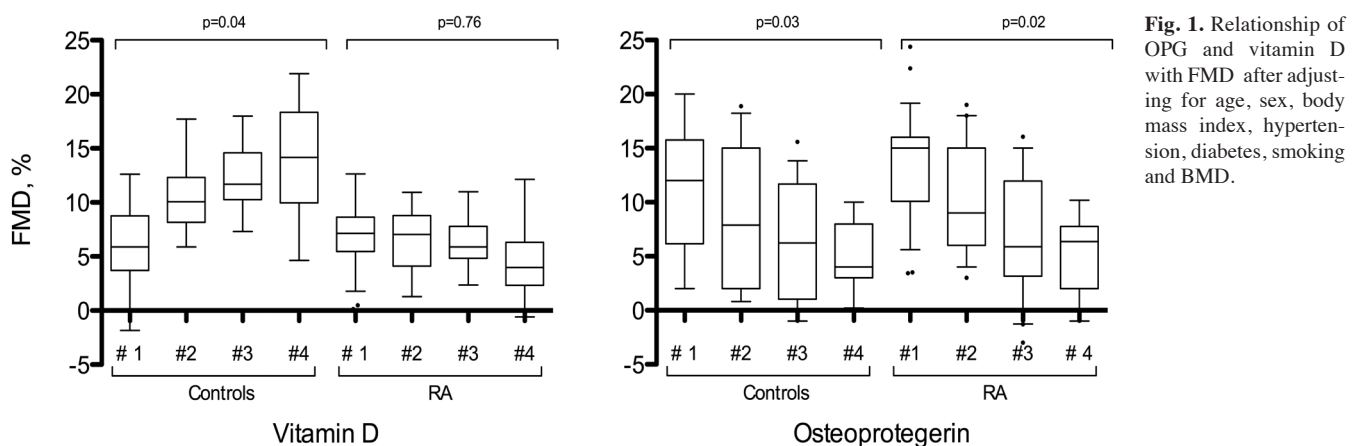
Differences in BMD, OPG and vitamin D serum levels between patients and controls are shown in Table II. Controls more commonly had normal BMD values according to the WHO classification system (29) than RA patients (46.4% in controls vs. 34.4% in patients), although the difference fell slightly out of the range of significance (p=0.08). Although the frequency of osteoporosis in RA patients did not differ from that of controls (12.5% vs. 8.2%, p=0.70), the frequency of osteopenia was marginally higher in patients compared to controls (57.4% vs. 41.1%, p=0.048).

The categorisation of subjects younger than 50-years-old, using the definitions of “within the expected range for age” (Z-score >-2 SD) and “below the expected range for age” (Z-score <-2 SD), did not disclose statistically significant differences. When the adjusted analysis was made using T-score data (T-score higher or lower than -1 SD) or grams/cm² in specific areas, RA patients showed lower values, although statistically significant differences were not attained in all areas. In contrast, when differences in the percentage of body bone mass composition were assessed, RA patients showed statistically significantly lower percentages of bone mass than controls (Table II). In this regard, all the body areas including the arms, legs, trunk, and total body bone mass percentage (32.2±5.8 vs. 34.7±5.7%, p=0.00) were lower in RA patients than in controls.

Table III. Relationship of BMD with FMD in RA patients and controls.

% FMD, beta coefficient (95% CI)				
Model 1				
	Controls	p-value	RA patients	p-value
L1L4 T-score < -1 SD	-3.86 (-12.63-4.91)	0.37	1.46 (-6.58-9.50)	0.72
Femoral neck T-score < -1 SD	-8.87 (-17.96-0.23)	0.06	1.33 (-6.80-9.45)	0.75
Ward's triangle T-score < -1 SD	-5.02 (-13.12-3.09)	0.21	-2.41 (-10.14-5.33)	0.54
Throchanther T-score < -1SD	-9.96 (-19.35-0.57)	0.04	-2.59 (-11.65-6.47)	0.57
Total hip T-score < -1 SD	-8.87 (-17.96-0.23)	0.06	-2.58 (-12.48-7.32)	0.60
Model 2				
	Controls	p-value	RA patients	p-value
L1L4 T-score < -1 SD	-4.79 (-14.93-5.36)	0.34	1.58 (-7.14-10.31)	0.72
Femoral neck T-score < -1 SD	-10.20 (-20.41-0.01)	0.05	1.47 (-7.05-9.99)	0.73
Ward's triangle T-score < -1 SD	-5.59 (-14.91-3.72)	0.22	-2.89 (-11.07-5.29)	0.48
Throchanther T-score < -1SD	-10.96 (-21.37-0.55)	0.04	-3.26 (-13.05-6.54)	0.51
Total hip T-score < -1 SD	-10.20 (-20.41-0.01)	0.05	-3.20 (-13.55-7.15)	0.54
Model 3				
	Controls	p-value	RA patients	p-value
L1L4 T-score < -1 SD	.247 (-11.76-6.82)	0.58	1.16 (-9.37-11.69)	0.82
Femoral neck T-score < -1 SD	-8.73 (-16.88-0.34)	0.05	1.25 (-9.98-12.47)	0.82
Ward's triangle T-score < -1 SD	-3.61 (-12.24-5.02)	0.38	-3.50 (-15.25-8.24)	0.55
Throchanther T-score < -1SD	-9.67 (-19.37-0.03)	0.04	-6.28 (-19.75-7.20)	0.35
Total hip T-score < -1 SD	-8.27 (-16.88-0.34)	0.05	-4.61 (-17.71-8.48)	0.48

T-score in each bone area has been categorised in < -1 SD and > -1 SD. Beta coefficient represents the change in FMD% from > -1 SD to < -1 SD. Model 1; data adjusted for age, sex and body mass index. Model 2; data adjusted for model 1 + hypertension, diabetes and smoking. Model 3; data adjusted for model 1 + model 2 + vitamin D and osteoprotegerin ($p < 0.10$) are depicted in bold.



OPG serum levels were higher in RA patients compared to healthy controls (1.52 [IQR 0.96–3.40] vs. 0.84 [0.50–1.46] ng/mL, $p=0.00$). RA patients tended to have lower levels of vitamin D (33.64 [IQR 27.27–48.28] vs. 42.50 [31.27–48.13] ng/mL, $p=0.10$). However, when subjects were stratified according to vitamin D levels, we observed that vitamin D deficiencies were more common in RA patients than in controls (34.8 vs. 18.1 %, $p=0.02$) (Table II).

Association of BMD, vitamin D and OPG serum levels with endothelial dysfunction

Table III shows the relationship of BMD with FMD. BMD inferior to -1 T-score SD was associated with lower values of FMD in controls, though not in RA patients. Moreover, in controls femoral neck, throchanter and total hip BMD scores were associated with significantly lower FMD values. This was not the case for other areas such as the lumbar spine or Ward's triangle. When

this analysis was performed in RA patients, neither hip, lumbar nor Ward's areas were associated with FMD. These results were replicated when adjusting for cardiovascular risk factors (diabetes, hypertension, serum lipids, and smoking) and for the bone mineral-related proteins OPG and vitamin D. After these corrections, the association of BMD with FMD remained statistically significant in controls. However, in RA patients the absence of any association between BMD and FMD per-

sisted even after making adjustments that included RA-related data such as steroid intake, ESR, C-reactive protein or disease activity or duration (data not shown in Table III).

Figure 1 shows a trend analysis (adjusted for classical cardiovascular risk factors, body mass index and bone mass percentage) examining the relationship of OPG and vitamin D as expressed in quartiles with FMD. In both RA patients and controls low FMD was associated with high levels of OPG. In contrast, high vitamin D levels were associated with high FMD values in controls but not in RA patients.

Discussion

Endothelial dysfunction is typically present in long-standing RA patients, even in those without traditional cardiovascular risk factors (31, 32). The present study supports the relationship between OPG and endothelial function in RA. However, our results do not shed light on the relationship between vascular damage and osteoporosis in RA because endothelial function, as measured by FMD, showed no association with vitamin D levels and BMD in RA patients. This finding was somehow unexpected due to the fact that in a multivariate analysis endothelial function was found to be related to BMD and vitamin D levels in controls.

Low levels of vitamin D are common in patients with RA. Several studies have shown a high prevalence of sub-optimal vitamin D levels in these individuals (22, 33). Moreover, 25(OH) not only have vitamin D plasma levels been inversely correlated with RA disease activity (34), but they have also been associated with cardiovascular disease in the general population (35, 36). As pointed out by Dessein (37), vitamin D may be involved in both high-grade systemic inflammation and in the enhanced cardiovascular risk factors affecting insulin resistance, endothelial activation, and lipids. However, in our series endothelial function, as measured by FMD, was not associated with vitamin D levels or BMD. This finding was equally unexpected since in a multivariate analysis endothelial function was found to be related to BMD

and vitamin D levels in controls. The reasons for this disparate association in patients with RA and controls remain unknown. Haque *et al.* (38) suggested that vitamin D deficiency may be independently associated with several cardiometabolic intermediates in RA patients including HDL-cholesterol, HOMA-IR index (homeostatic model assessment), fibrinogen, E-selectin, and soluble intercellular adhesion molecule. Another study (39) also revealed an association between serum vitamin D levels and traditional cardiovascular risk factors such as serum low-density lipoprotein cholesterol, triglycerides, and the metabolic syndrome observed in patients with RA. However, these two studies lacked a control group and endothelial function was not assessed. Interestingly, in another study (40) involving 87 vitamin D-deficient RA patients (but no control group), vitamin D levels in the former (<20 ng/ml, n=25) showed a correlation with microvascular function when assessed using the reactive hyperemia index. Nevertheless, this association was not found in RA patients with insufficient (<30 ng/ml) or normal vitamin D levels. An explanation for our findings might be that the role played by vitamin D in cardiovascular risk may be less relevant in RA patients than in the general population. Thus, it is possible that the presence of a chronic proinflammatory condition might prevail over other potential factors that promote the development of vascular damage in RA.

Recent clinical studies in the general population have demonstrated that increased concentrations of OPG are associated with the presence and severity of coronary artery disease (15, 41, 42). It has also been found that OPG is up-regulated in RA patients and appears to be associated with the inflammation already present in the existing disease (23, 43). Unselected patients with RA exhibit higher serum levels of OPG than do controls (19) and TNF- α blockade can reduce OPG concentrations in RA (18, 44). Our results in patients with RA are in keeping with previous reports that showed OPG to be independently associated with carotid plaque and carotid intima-media thickness (18, 45)

and coronary-artery calcification (23) in RA patients. Due to the cross-sectional nature of our study, however, we cannot completely exclude the possibility that increased levels of OPG in RA patients could stem from a compensatory effect meant to counteract the mechanisms of accelerated atherogenesis that occur in this chronic proinflammatory disease. In any case, this assumption seems to be unlikely as this relationship between OPG and endothelial function was similarly observed in controls who exhibited a lower inflammatory burden than their RA patient counterparts. What is novel in our study is that the relationship between OPG and FMD in RA patients was independent of BMD, and therefore is not mediated by the low BMD that RA patients often exhibit. In this regard, our results addressing BMD in RA were in keeping with previous reports that recorded significantly lower BMD levels in patients with RA (46, 47).

In keeping with previous studies (8, 10, 48, 49), we also found endothelial function to be independently associated with BMD in non-RA individuals. Remarkably, we observed that this association between BMD and FMD in controls occurred independently of OPG and vitamin D levels. As we did not find such a relationship in RA patients, we can only state that the lack of any association between BMD and FMD in RA patients was not due to such confounding factors as OPG or vitamin D plasma levels.

In a study that included 47 patients with RA, Tanaka *et al.* demonstrated that trabecular BMD at the distal radius was a significant factor independently associated with greater femoral-ankle and brachial-ankle pulse wave velocity when adjusted for age, blood pressure, and smoking (50). Interestingly, as with our own findings, these authors detected no such association when total bone mass (cortical plus trabecular) was analysed. However, unlike the study by Tanaka *et al.*, we assessed FMD in a larger series of RA patients, one which was not restricted to postmenopausal women. Moreover, we measured total body bone mass instead of distal radius and adjusted for two relevant bone metabolites, OPG and vitamin D.

We acknowledge that some possible limitations may exist in our study. In this regard, age was not an exclusion criterion in our study as we enrolled pre- and menopausal women. In addition, some potential confounding factors such as physical activity, diet calcium intake and sun exposure were not assessed in the present study.

Taken together, the findings in our study indicate that OPG serum level is an independent factor associated with endothelial function in RA patients and controls, whilst vitamin D levels and BMD showed such a relationship only in healthy controls. Remarkably, the association of OPG with FMD occurred independently of BMD status.

Acknowledgements

The authors are indebted to all members of the Division of Rheumatology of the Hospital Universitario de Canarias for their continuous support.

References

- MEUNE C, TOUZE E, TRINQUART L, ALLANORE Y: Trends in cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis over 50 years: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Rheumatology* (Oxford) 2009; 48: 1309-13.
- AVINA-ZUBIETA JA, CHOI HK, SADATSAFAVI M, ETMINAN M, ESDAILE JM, LACAILE D: Risk of cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Arthritis Rheum* 2008; 59: 1690-7.
- GONZALEZ-GAY MA, GONZALEZ-JUANATEY C, MARTIN J: Rheumatoid arthritis: a disease associated with accelerated atherogenesis. *Semin Arthritis Rheum* 2005; 35: 8-17.
- MARTIN-MARTINEZ MA, GONZALEZ-JUANATEY C, CASTANEDA S et al.: Recommendations for the management of cardiovascular risk in patients with rheumatoid arthritis: Scientific evidence and expert opinion. *Semin Arthritis Rheum* 2014; 44: 1-8.
- SANDOO A, CHANCHLANI N, HODSON J, SMITH JP, DOUGLAS KM, KITAS GD: The relationship between cardiovascular disease risk prediction scores and vascular function and morphology in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2014; 32: 914-21.
- DEAL C: Bone loss in rheumatoid arthritis: systemic, periarticular, and focal. *Current Rheum Rep* 2012; 14: 231-7.
- KANIS JA, JOHNNELL O, ODEN A, JOHANSSON H, MCCLOSKEY E: FRAX and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporosis Int* 2008; 19: 385-97.
- LAMPROPOULOS CE, PAPAIOANNOU I, D'CRUZ DP: Osteoporosis--a risk factor for cardiovascular disease? *Nat Rev Rheumatol* 2012; 8: 587-98.
- HYDER JA, ALLISON MA, WONG N et al.: Association of coronary artery and aortic calcium with lumbar bone density: the MESA Abdominal Aortic Calcium Study. *Am J Epidemiol* 2009; 169: 186-94.
- SUMINO H, ICHIKAWA S, KASAMA S et al.: Relationship between carotid atherosclerosis and lumbar spine bone mineral density in postmenopausal women. *Hypertens Res* 2008; 31: 1191-7.
- FARHAT GN, NEWMAN AB, SUTTON-TYRRELL K et al.: The association of bone mineral density measures with incident cardiovascular disease in older adults. *Osteoporosis Int* 2007; 18: 999-1008.
- MARCOVITZ PA, TRAN HH, FRANKLIN BA et al.: Usefulness of bone mineral density to predict significant coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2005; 96: 1059-63.
- TRIVEDI DP, KHAW KT: Bone mineral density at the hip predicts mortality in elderly men. *Osteoporosis Int* 2001; 12: 259-65.
- NAVES M, RODRIGUEZ-GARCIA M, DIAZ-LOPEZ JB, GOMEZ-ALONSO C, CANNATA-ANDIA JB: Progression of vascular calcifications is associated with greater bone loss and increased bone fractures. *Osteoporosis Int* 2008; 19: 1161-6.
- MONTAGNANA M, LIPPI G, DANESE E, GUIDI GC: The role of osteoprotegerin in cardiovascular disease. *Ann Med* 2013; 45: 254-64.
- KIECHL S, SCHETT G, WENNING G et al.: Osteoprotegerin is a risk factor for progressive atherosclerosis and cardiovascular disease. *Circulation* 2004; 109: 2175-80.
- LIEB W, GONA P, LARSON MG et al.: Biomarkers of the osteoprotegerin pathway: clinical correlates, subclinical disease, incident cardiovascular disease, and mortality. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30: 1849-54.
- DESSEIN PH, LOPEZ-MEJIAS R, GONZALEZ-JUANATEY C et al.: Independent relationship of osteoprotegerin concentrations with endothelial activation and carotid atherosclerosis in patients with severe rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2014; 41: 429-36.
- LOPEZ-MEJIAS R UB, GENRE F, CORRALES A et al.: Osteoprotegerin concentrations relate independently to established cardiovascular disease in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2015; 42: 39-45.
- THEODORATOU E, TZOULAKI I, ZGAGA L, IOANNIDIS JP: Vitamin D and multiple health outcomes: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies and randomised trials. *BMJ* 2014; 348: g2035.
- WANG L, SONG Y, MANSON JE et al.: Circulating 25-hydroxy-vitamin D and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective studies. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 2012; 5: 819-29.
- KERR GS, SABAH I, RICHARDS JS et al.: Prevalence of vitamin D insufficiency/deficiency in rheumatoid arthritis and associations with disease severity and activity. *J Rheumatol* 2011; 38: 53-9.
- ASANUMA Y, CHUNG CP, OESER A et al.: Serum osteoprotegerin is increased and independently associated with coronary-artery atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis* 2007; 195: e135-41.
- ALETAHA D, NEOGI T, SILMAN AJ et al.: 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 1580-8.
- GONZALEZ-JUANATEY C, VAZQUEZ-RODRIGUEZ TR, MIRANDA-FILLOY JA et al.: Anti-TNF-alpha-adalimumab therapy is associated with persistent improvement of endothelial function without progression of carotid intima-media wall thickness in patients with rheumatoid arthritis refractory to conventional therapy. *Mediators Inflamm* 2012; 2012: 674265.
- PREVOO ML, VAN 'T HOF MA, KUPER HH, VAN LEEUWEN MA, VAN DE PUTTE LB, VAN RIEL PL: Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 44-8.
- PINCUS T, SWEARINGEN C, WOLFE F: Toward a multidimensional Health Assessment Questionnaire (MDHAQ): assessment of advanced activities of daily living and psychological status in the patient-friendly health assessment questionnaire format. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 2220-30.
- http://books.nap.edu/openbook.php?record_id=13050.
- WHO STUDY GROUP: Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. *WHO Tech Rep Ser* n° 843; 1999.
- CORRETTI MC, ANDERSON TJ, BENJAMIN EJ 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; 39: 257-65.
- GONZALEZ-JUANATEY C, TESTA A, GARCIA-CASTELO A et al.: HLA-DRB1 status affects endothelial function in treated patients with rheumatoid arthritis. *Am J Med* 2003; 114: 647-52.
- SATIJA M, YADAV TP, SACHDEV N, CHHABRA A, JAHAN A, DEWAN V: Endothelial function, arterial wall mechanics and intima media thickness in juvenile idiopathic arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2014; 32: 432-9.
- ROSSINI M, MADDALI BONGI S, LA MONTAGNAG A et al.: Vitamin D deficiency in rheumatoid arthritis: prevalence, determinants and associations with disease activity and disability. *Arthritis Res Ther* 2010; 12: R216.
- CUTOLO M, OTSA K, UPRUS M, PAOLINO S, SERIOLO B: Vitamin D in rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* 2007; 7: 59-64.
- WANG TJ, PENCINA MJ, BOOTH SL et al.: Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation* 2008; 117: 503-11.
- KENDRICK J, TARGHER G, SMITS G, CHONCHOL M: 25-Hydroxyvitamin D deficiency is independently associated with cardiovascular disease in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Atherosclerosis* 2009; 205: 255-60.
- DESSEIN PH: Vitamin D replacement therapy:

- a promising adjunct in cardiovascular risk management among patients with rheumatoid arthritis? *J Rheumatol* 2013; 40: 1463-5.
38. HAQUE UJ, BATHON JM, GILES JT: Association of vitamin D with cardiometabolic risk factors in rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res* 2012; 64: 1497-504.
 39. BAKER JF, MEHTA NN, BAKER DG *et al.*: Vitamin D, metabolic dyslipidemia, and metabolic syndrome in rheumatoid arthritis. *Am J Med* 2012; 125: 1036 e9- e15.
 40. RANGANATHAN P, KHALATBARI S, YALAVARTHI S, MARDER W, BROOK R, KAPLAN MJ: Vitamin D deficiency, interleukin 17, and vascular function in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2013; 40: 1529-34.
 41. JONO S, IKARI Y, SHIOI A *et al.*: Serum osteoprotegerin levels are associated with the presence and severity of coronary artery disease. *Circulation* 2002; 106: 1192-4.
 42. SCHOPPET M, SATTLER AM, SCHAEFER JR, HERZUM M, MAISCH B, HOFBAUER LC: Increased osteoprotegerin serum levels in men with coronary artery disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1024-8.
 43. CORALLINI F, BOSSI F, GONELLI A *et al.*: The soluble terminal complement complex (SC5b-9) up-regulates osteoprotegerin expression and release by endothelial cells: implications in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2009; 48: 293-8.
 44. ZIOLKOWSKA M, KUROWSKA M, RADZIKOWSKA A *et al.*: High levels of osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor kappa B ligand in serum of rheumatoid arthritis patients and their normalization after anti-tumor necrosis factor alpha treatment. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1744-53.
 45. ASANUMA YF, SHIMADA Y, KOUZU N *et al.*: Serum osteoprotegerin concentration is associated with carotid atherosclerotic plaque in patients with rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol* 2013; 23: 269-75.
 46. HAUGEBERG G, ORSTAVIK RE, UHLIG T, FALCH JA, HALSE JI, KVIEN TK: Clinical decision rules in rheumatoid arthritis: do they identify patients at high risk for osteoporosis? Testing clinical criteria in a population based cohort of patients with rheumatoid arthritis recruited from the Oslo Rheumatoid Arthritis Register. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 1085-9.
 47. HAUGEBERG G, UHLIG T, FALCH JA, HALSE JI, KVIEN TK: Reduced bone mineral density in male rheumatoid arthritis patients: frequencies and associations with demographic and disease variables in ninety-four patients in the Oslo County Rheumatoid Arthritis Register. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 2776-84.
 48. SEO SK, CHO S, KIM HY *et al.*: Bone mineral density, arterial stiffness, and coronary atherosclerosis in healthy postmenopausal women. *Menopause* 2009; 16: 937-43.
 49. SUMINO H, ICHIKAWA S, KASAMA S *et al.*: Relationship between brachial arterial endothelial function and lumbar spine bone mineral density in postmenopausal women. *Circ J* 2007; 71: 1555-9.
 50. TANAKA K, INABA M, GOTO H *et al.*: Para-articular trabecular bone loss at the ultradistal radius and increased arterial stiffening in postmenopausal patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2006; 33: 652-8.