

**EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE LA PROTEÍNA DICKKOPF- 1 (DKK-1) Y SU  
ASOCIACIÓN CON ÍNDICES DE ACTIVIDAD CLÍNICA REUMÁTICA EN PACIENTES  
CON ARTRITIS REUMATOIDE TEMPRANA**



**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO  
TRABAJO DE GRADO  
BOGOTÁ D.C., MAYO DE 2018**

***EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE LA PROTEÍNA DICKKOPF- 1 (DKK-1) Y SU ASOCIACIÓN  
CON ÍNDICES DE ACTIVIDAD CLÍNICA REUMÁTICA EN PACIENTES CON ARTRITIS  
REUMATOIDE TEMPRANA***

ESTUDIANTE

Angela Miyared Arias Arias

ASESOR EXTERNO

María Consuelo Romero Sánchez, MSc, PhD.

Leidy Lorena Chila Moreno, Bcl, est. MSc.

ASESOR INTERNO

Janeth Navarrete. MSc

UNIVERSIDAD EL BOSQUE  
HOSPITAL MILITAR CENTRAL



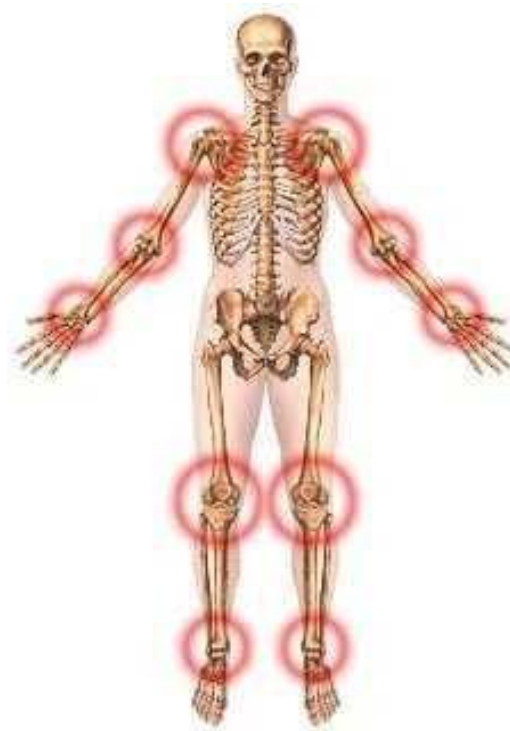
# Introducción

## Artritis reumatoide

Destrucción articular

Factores genéticos  
y ambientales

Prevalencia 0.5 – 1.0%  
en la población adulta



Factor reumatoide  
(FR)

Proteína C-reactiva  
(PCR)

Velocidad de sedimentación  
globular (VSG)

Anticuerpos anti-proteínas  
citrulinadas (anti-CCP).

Anticuerpos anti-proteínas  
carbamiladas (anti-Carp)

## Proteína Dickkopf-1



## **OBJETIVO GENERAL**

1. Evaluar los niveles de la proteína Dickkopf-1 (DKK-1) sérica y su asociación con índices de actividad reumática en pacientes con artritis reumatoide temprana.

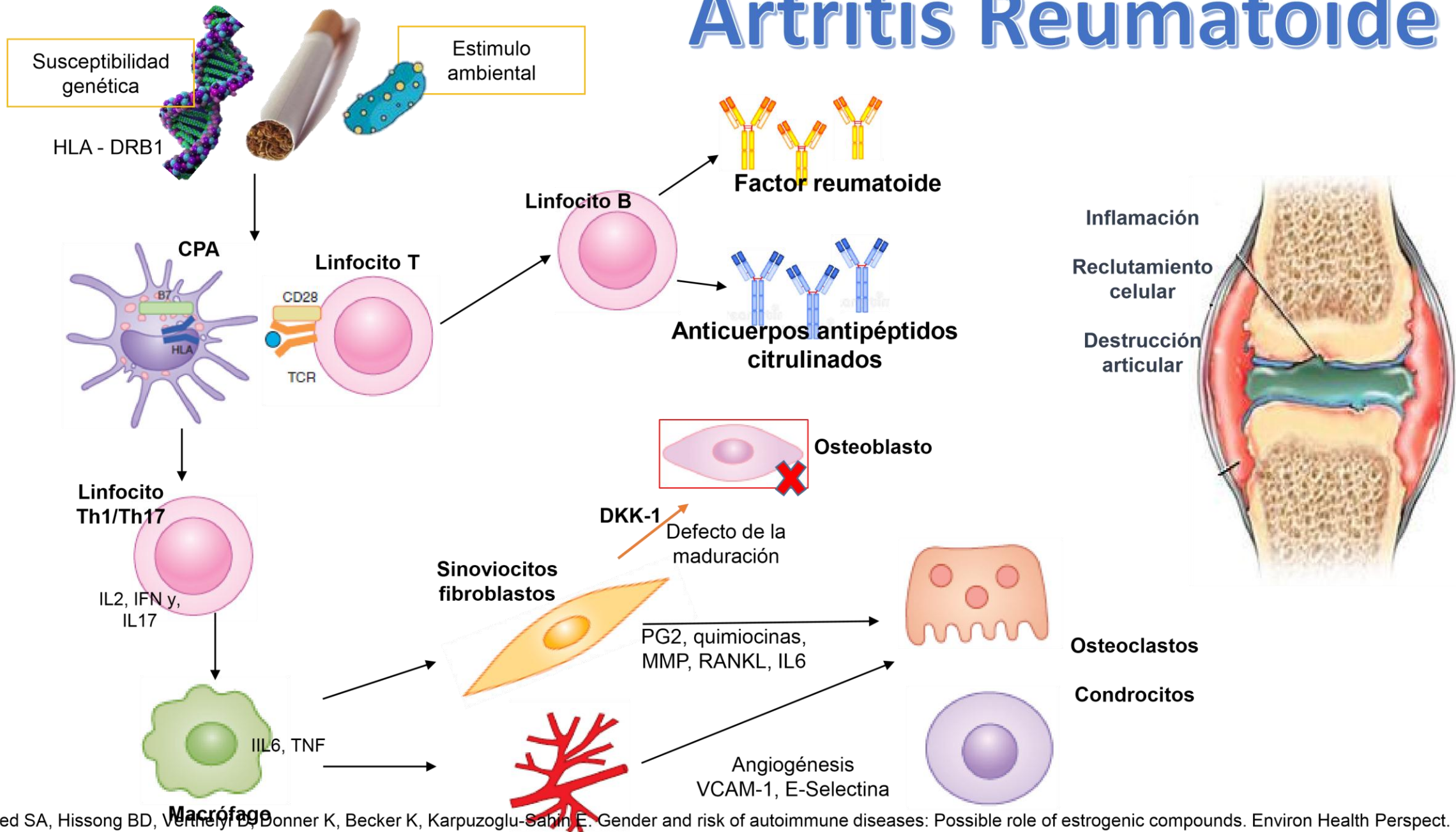


## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar la asociación entre el nivel de DKK-1 en suero y su relación con índices de actividad reumática en pacientes con AR temprana.
2. Determinar la asociación entre el nivel de DKK-1 en suero y los niveles de auto anticuerpos anti-proteínas citrulinadas (anti CCP) y factor reumatoide además de proteínas de fase aguda en pacientes con AR temprana.
3. Establecer los niveles de DKK-1 en suero en pacientes con AR temprana, por medio del ensayo inmunoenzimático ELISA.



# Artritis Reumatoide

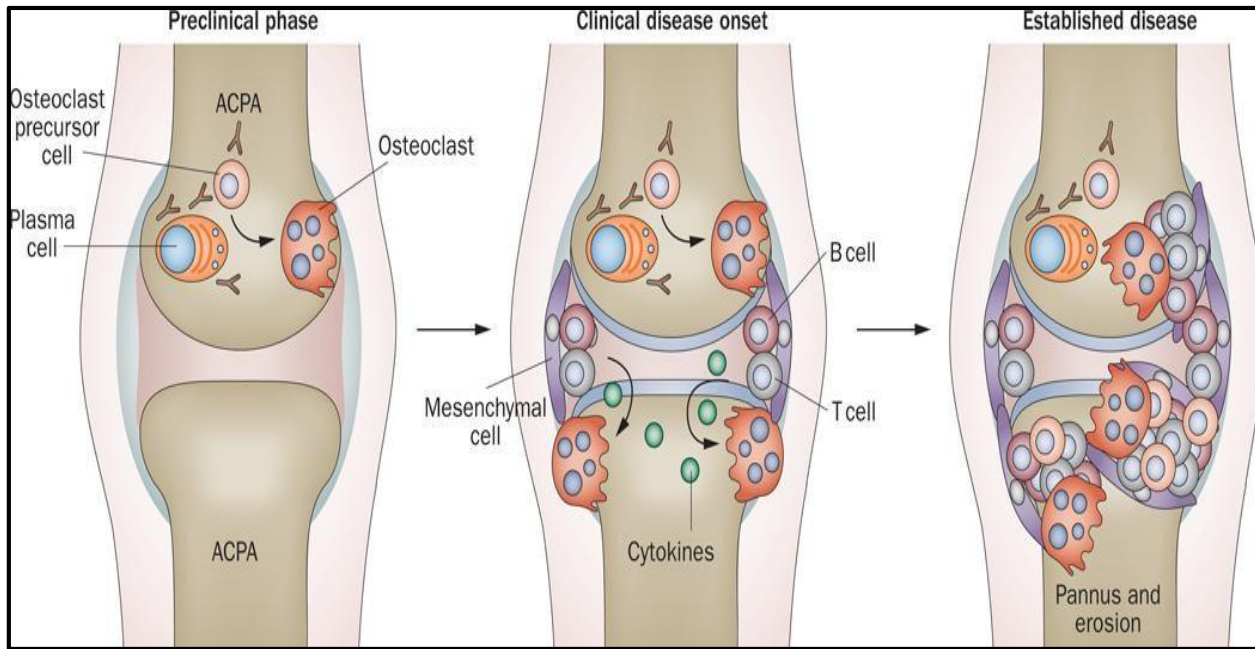




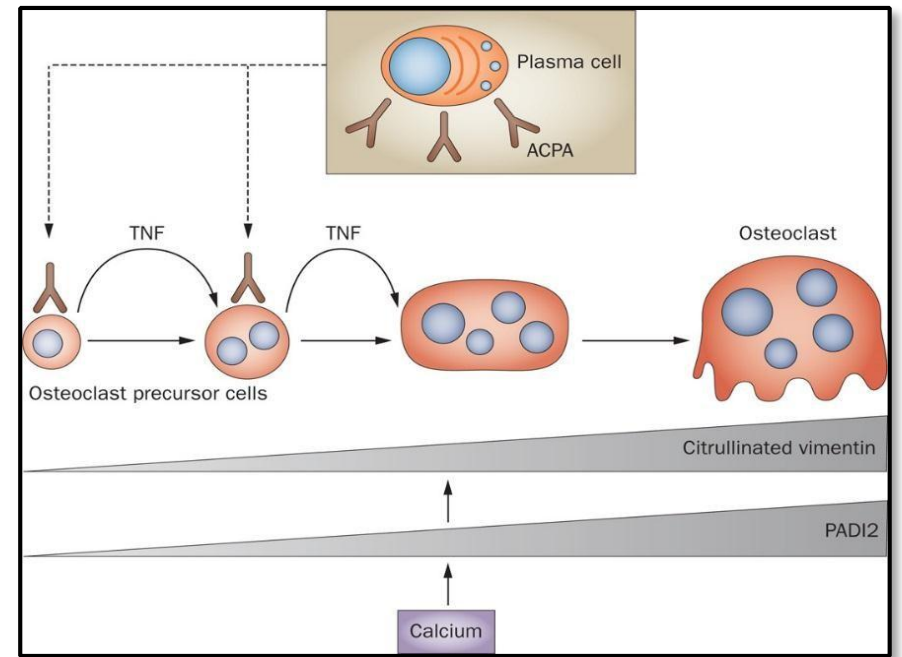
# Manifestaciones clínicas



## Erosiones óseas en artritis reumatoide



## Erosiones óseas – anti CCP



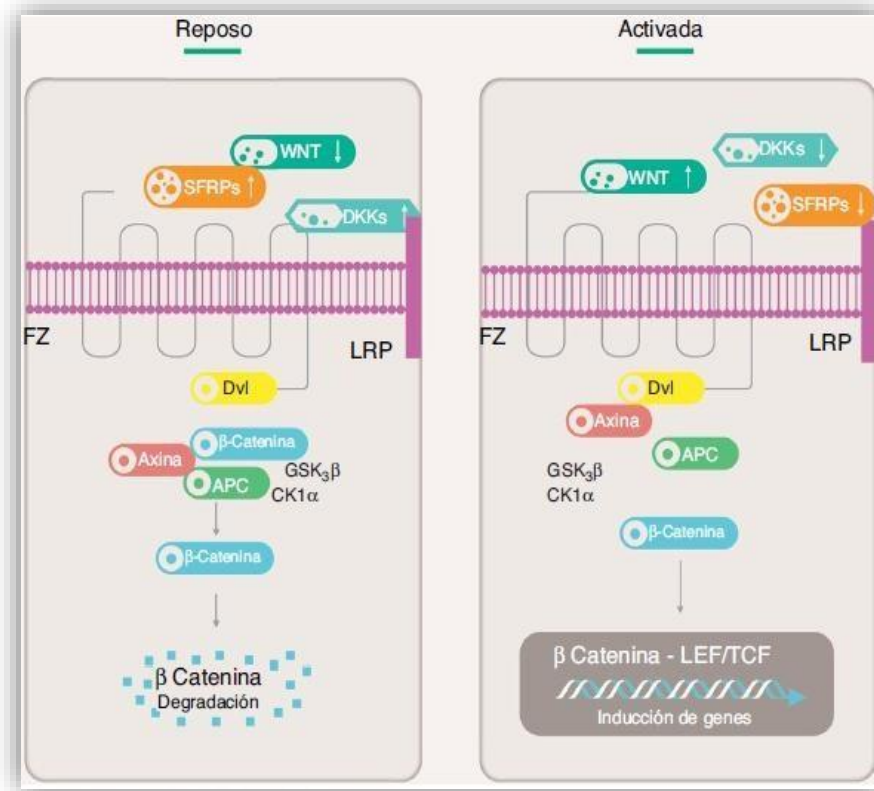
La presencia de anticuerpos anti-CCP en el suero de pacientes con AR, han revelado estar relacionada con la erosión ósea articular en estos pacientes .

Figura tomada de Schett G and Gravalles E. Nat Rev Rheumatol 2012; 8(11): 656\_664

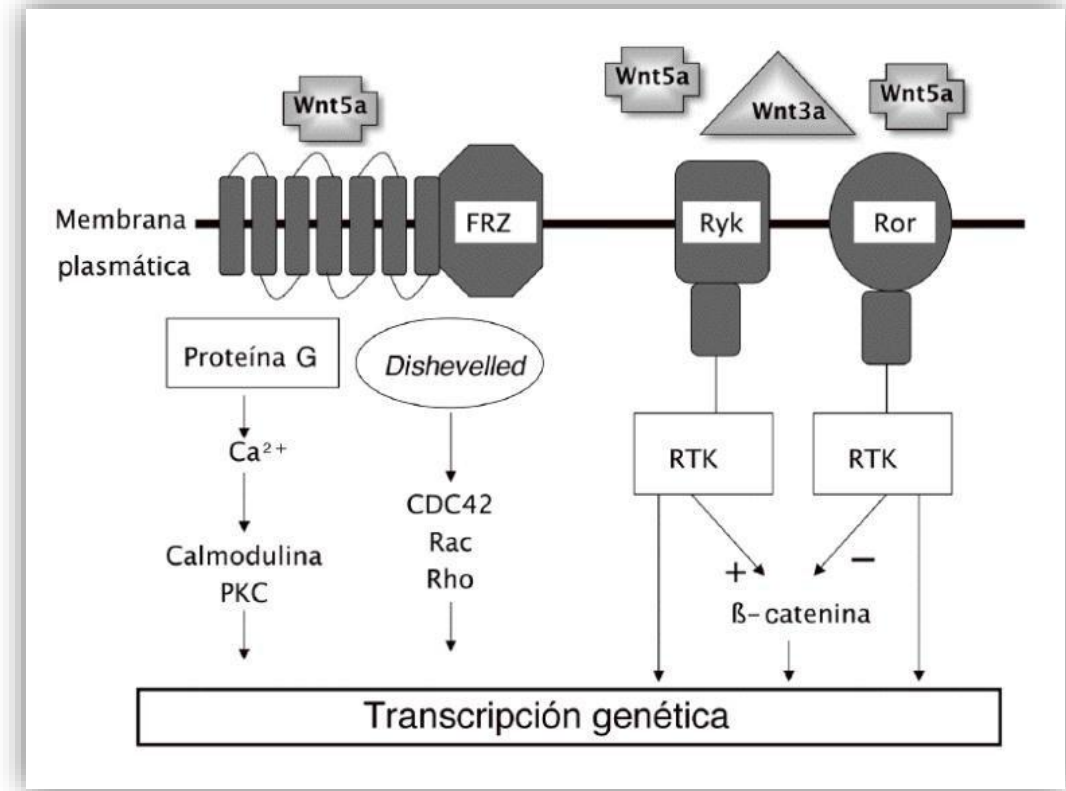




# Vía Wnt (Wingless)



Vía canónica

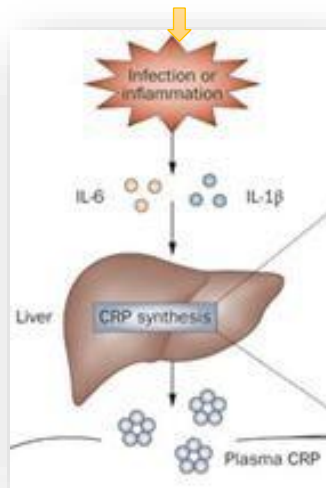


Vía no canónica



# Biomarcadores

## Proteína C-reactiva



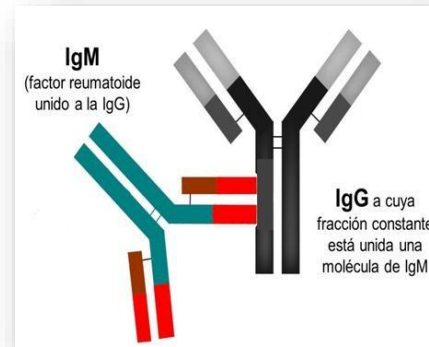
Sintetizada en los hepatocitos

Marcador de (ACR) desde 1987 inflamación

Entidades no

inflamatorios

## Factor Reumatoide



Presente en un 60-80% en pacientes con AR

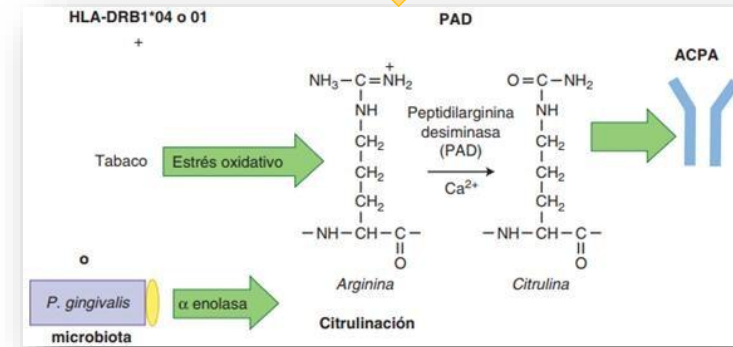
Criterio diagnóstico

PAD5, PAD6

Presente en otras enfermedades

infecciosas

## Anticuerpos anti-péptidos citrulinados (anti-CCP).



Modificación postraducional

PAD1, PAD2, PAD3, PAD4

Procesos

Sensibilidad: 90-95%  
Especificidad: 80-85%

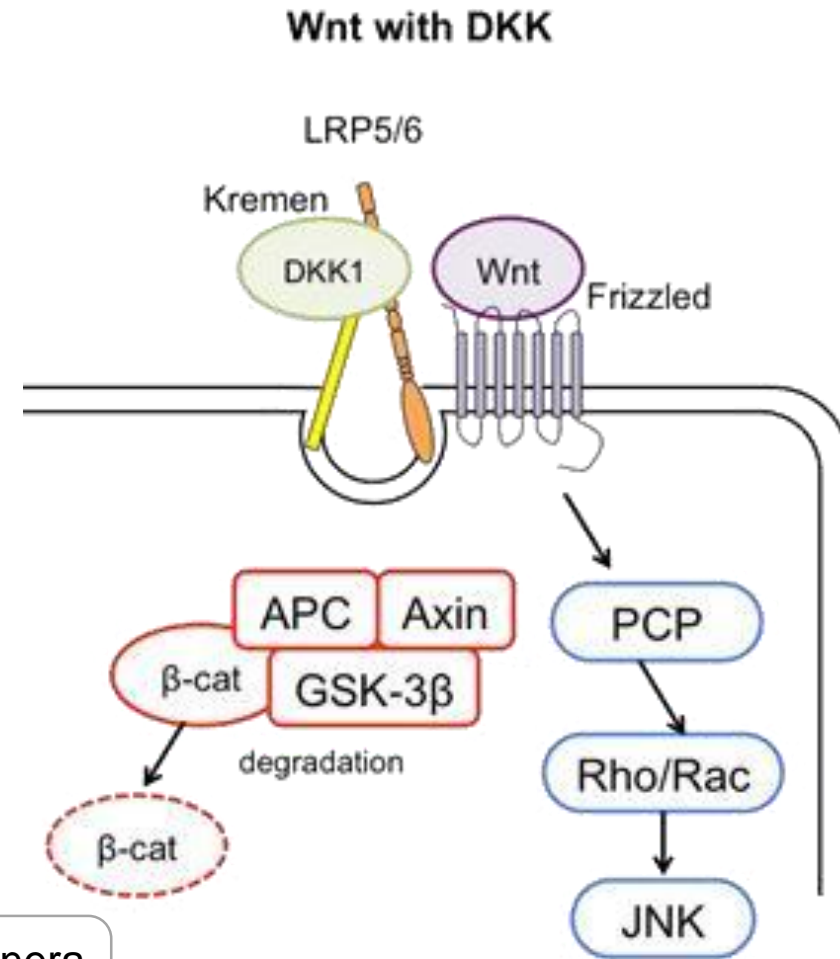
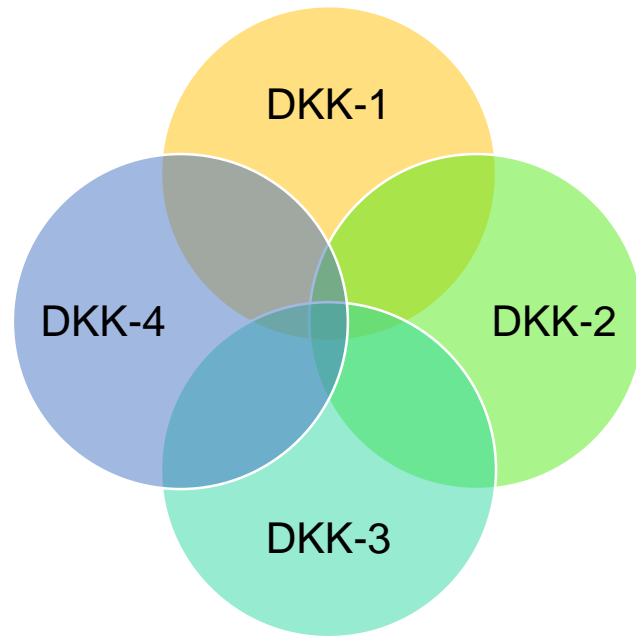
Sensibilidad: 60-80%  
Especificidad: 85%

Sensibilidad: 70-90%  
Especificidad: 95-99%

Zeneng Wang et al. Protein carbamylation links inflammation, smoking, uremia and atherogenesis. *Nature Medicine* 13, 1176 - 1184 (2007)

O. M. R. Westwood P. N. Nelson F. C. Hay. Rheumatoid factors: what's new? *Rheumatology*, Volume 45, Issue 4, 1 April 2006, Pages 379–385

Kahlenberg JM, Fox DA. Advances in the medical treatment of rheumatoid arthritis. Vol. 27, *Hand Clinics*. 2011. p. 11–20



Regulador importante de la masa ósea, este parece participar de manera activa en la remodelación y daño osteoarticular en pacientes con AR

**DICKKOPF-1 (DKK-1)**

Imagen tomada de: Katase N, Nohno T. DKK3 (dickkopf 3 homolog (*Xenopus laevis*)) [Internet]. Atlasgeneticsoncology.org. 2018 [cited 16 May 2018]. <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/DKK3ID40327ch11p15.html>

Daoussis D, Andonopoulos AP. The Emerging Role of Dickkopf-1 in Bone Biology: Is It the Main Switch Controlling Bone and Joint Remodeling? *Semin Arthritis Rheum.* 2011;41(2):170–7





## Metodologia

### Estudio de corte transversal

#### Población

Pacientes con AF temprana de menos de 2 años de evolución

Hospital Militar Central “Asociación de marcadores óseos y anticuerpos anti carbamilados y su relación con índices periodontales y de actividad reumatológica en pacientes con AR temprana y en familiares en primer grado de pacientes con AR” 2015-47

Universidad El Bosque, título “DKK1 como marcador de progresión de enfermedad periodontal en pacientes con Artritis Reumatoide Temprana” 2016-8806

## Selección de la muestra

### Criterios de inclusión

Pacientes mayores de 18 y menores de 65 años con criterios clasificatorios de AR según el consenso de ACR y EULAR de 2010, con evolución menor a 2 años.

Individuos con proceso infeccioso en curso o diagnóstico de neoplasia.

Individuos con diagnóstico de diabetes mellitus.

### Detección y cuantificación de la proteína DKK-1

Recolección no probabilística por conveniencia

- 63 pacientes con diagnóstico de AR no mayor a 2 años de evolución

### Criterios de exclusión

Pacientes que se encuentren bajo tratamiento antibiótico

Pacientes con aparatología ortodóntica

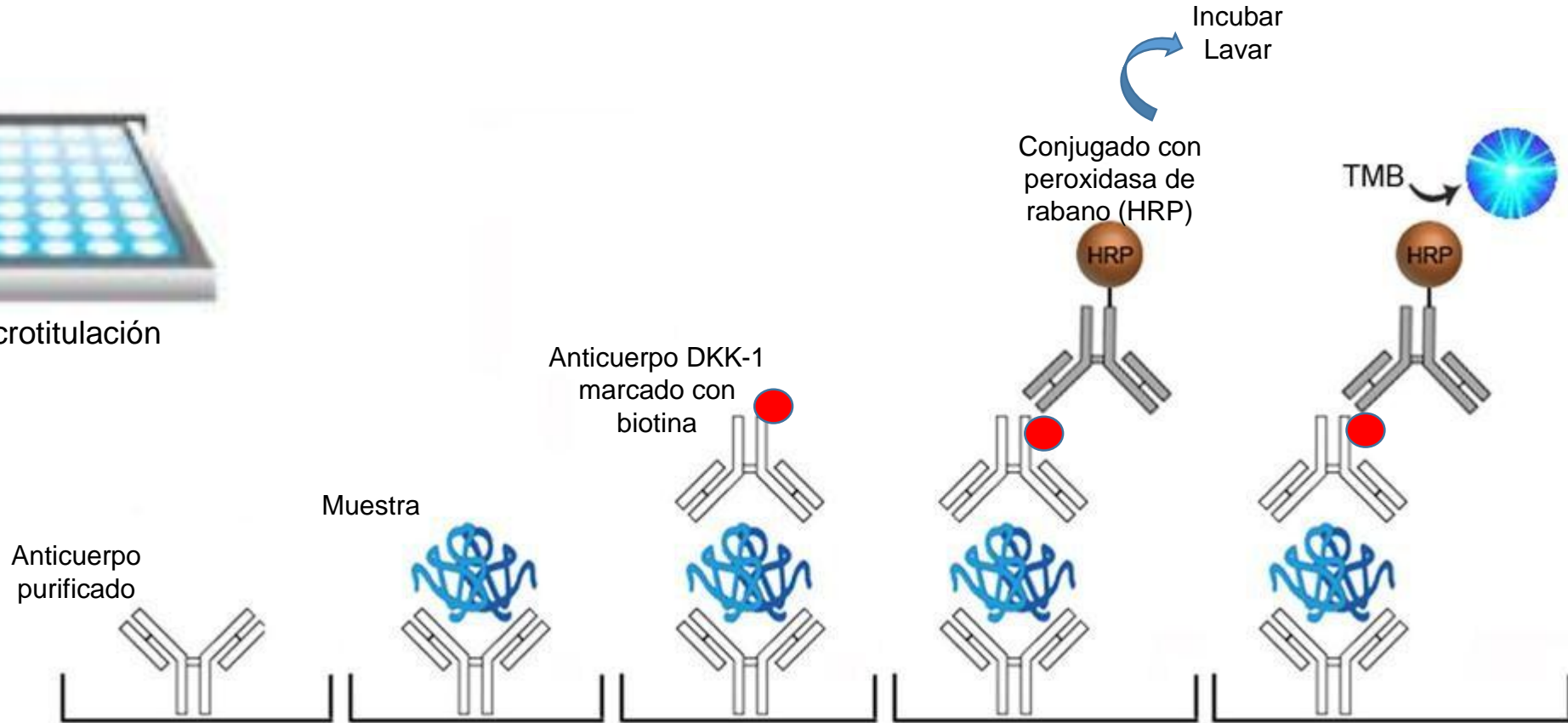
Pacientes que hayan tenido terapia periodontal

Tener más de dos años de diagnóstico de AR





Placa de microtitulación



Longitud

de onda:

450 nm

Human  
Dickkopf  
Related  
Protein 1  
(DKK-1)

ELISA Kit

Lote No:

MBS02914

Imagen tomada:



## Características sociodemográficas del grupo total de pacientes ART

Si	32 (50,8)
<b>Fuma</b>	31 (49,2)
No	
Si	59 (93,7)
<b>Fumó</b>	4 (6,3)
No	
Si	41 (65,1)
<b>Fumador pasivo</b>	22 (34,9)
No	
Si	52 (82,5)
<b>Economía</b>	11 (17,5)
Hogar	
Independiente	21 (33,3)
Empleado	7
Pensionado Estudiante	(
<b>Vivienda</b>	1
Propia	1
Arrendada	,
Común	1
<b>Estado Civil</b>	)
Casado	2
Soltero	6
Viudo	(
Unión libre	4
Separado	1
<b>Nivel de estudios</b>	,
Primaria	3
Bachillerato	)
Técnico	7
Universitario	(
<b>Índice de masa corporal</b>	1
Mayor a 25	1
De 25 a 30	,
Mayor a 30	

Kahlenberg J. Michelle , M.D., Ph.D.a and David A. Fox M. Advances in the Medical Treatment of Rheumatoid Arthritis. NIH Public Access. 2011;27(1):11–20.

Wilder RL, Sternberg EM. Neuroendocrine hormonal factors in rheumatoid arthritis and related conditions. Curr Opin Rheumatol [Internet]. 1990 Jun;2(3):436–40.

Ahmed SA, Hissong BD, Verthelyi D, Donner K, Becker K, Karpuzoglu-Sahin E. Gender and risk of autoimmune diseases: Possible role of estrogenic compounds. Environ Health Perspect. 1999;107(SUPPL. 5):681–6.

No



# Resultados

1)

3 (4,8)

9 (14,3)

2 (3,2)

9 (14,3)

46 (73,0)

17 (27,0)

14 (22,2)

9 (14,3)

3 (4,8)

28 (44,4)

37 (58,7)

14 (22,2) 2 (3,2) 7 (11,1)

30 (47,6)

24 (38,1)

Mujer

50 (79,4)

ART  
n:63 (100%)

Sexo

Hombre

13 (20,6)

Comorbilidad

---

**ARt n=63  
(100%)**

---



## Parámetros reumatológicos del grupo total de pacientes con ART

<b>Articulaciones dolorosas</b> Mayor a 1	48 (76,2)
<b>Articulaciones Inflamadas</b> Mayor a 1	46 (73,0)
<b>DAS 28 VSG</b> Media ±DE	3,74±1.579
<b>DAS 28 PCR</b> Media ±DE	3,479±1.080
<b>SDAI</b> <b>Media ±DE</b>	13,33 ± 11,00
≤ 3.3	10 (15,4)
3.3-11	15 (23,8)
>11 <b>DKK-1</b>	38(60,3)
Media ±DE	372,07 ± 2131,05
<b>VSG</b> Media ±DE	23,27 ± 26,71
<b>PCR</b> Media ±DE	16,57 ± 31,34
<b>FR</b> Media ±DE	57,40 ± 61,10
<b>Anti-CCP IgG/IgA</b> Media ±DE	110,77 ± 159,05

**DAS: Disease Activity Score of 28 joints, SDAI: Simplified Disease Activity Index**

---

## Parámetros clínicos periodontales del grupo total de pacientes con ARt

---

	ARt n=63 (100%)
<b>Diagnostico periodontal</b>	
Positivo	45(71,42)
<b>Severidad Periodontal</b>	
Leve	8(12,6)
Moderada	23(36,5)
Severa	14(22,2)
<b><i>P. gingivalis</i></b>	45(71,42)
Positivo	

---



**Anticuerpos IgG1 *P. gingivalis* Positivo**  
mayor a 1/100

21(33,3)

**Anticuerpos IgG2 *P. gingivalis* Positivo**  
mayor a 1/100

15(23,80)

---

# Asociación entre los niveles leve, moderado y alto de DKK-1 en suero con marcadores e índices de actividad reumatológica en pacientes con ARt

Articulaciones dolorosas ( $p=0.061$ )

Kahlenberg J y colaboradores

Kahlenberg JM, Fox DA. Advances in the medical treatment of rheumatoid arthritis. Vol. 27, Hand Clinics. 2011. p. 11–20

Comparación entre los niveles leve vs moderado-alto de DKK en suero con las variables reumatológicas en el grupo de ARt

Leve Moderado  
- alto n=63 (100%)  
n=63 (100%)  
Valor p

SENS mayor a 1

Menor a 8  
20 (64,5) 0,337

	Leve n=63 (100%)	Moderado n=63 (100%)	Alto n=63 (100%)	Valor p
<b>Articulaciones dolorosas</b>				0,061
Ninguna	1 (6,7)	5 (20,0)	9 (39,1)	
Mayor a 1	14 (93,3)	20 (80,0)	14 (60,9)	
				0,197
<b>Articulaciones inflamadas</b>				
Ninguna	2 (13,3)	6 (24,0)	9 (39,1)	
Mayor a 1	13 (86,7)	19 (76,0)	14 (60,9)	
				0,642
<b>DAS28 VSG</b>				
Menor a 2,6	1 (6,7)	4 (16,0)	5 (21,7)	
2,6-3,2	1 (6,7)	3 (12,0)	1 (4,3)	
Mayor 3,2	13 (86,7)	18 (72,0)	17 (73,9)	
				0,789
<b>VAS</b>				
Menor a 50	10 (66,7)	16 (64,0)	13 (56,5)	
Mayor a 50	5 (33,3)	9 (36,0)	10 (43,5)	
				0,154
<b>HAQ</b>				
Menor a 1	3 (20,0)	13 (52,0)	11 (47,8)	
1,1 – 2	3 (20,0)	1 (4,0)	3 (13,0)	
2,1 – 3	2 (13,3)	0 (0,0)	3 (13,0)	
Mayor a 3	7 (46,7)	11 (44,0)	5 (21,7)	
				0,328
<b>RAPID</b>				
Menor a 12	0 (0,0)	1 (4,0)	3 (13,0)	
6,1 - 12	9 (60,0)	13 (52,0)	8 (34,8)	
3,1 - 6	4 (26,7)	4 (16,0)	8 (34,8)	
Menor a 3	2 (13,3)	7 (28,0)	4 (17,3)	
	0 (0,0)	2 (8,0)	1 (4,3)	0,805
<b>SDAI</b>				
Menor a 3,3	3 (20,0)	6 (24,0)	6 (26,1)	
3,3 – 11	12 (80,0)	17 (68,0)	16 (69,6)	
Mayor a 11				
				0,985
<b>IMC</b>				
Menor a 25	7 (46,7)	11 (44,0)	12 (52,2)	
25 – 30	6 (40,0)	10 (40,0)	8 (34,8)	
Mayor a 30	2 (13,3)	4 (16,0)	3 (13,0)	

(50,0)

1





Mayor a 1

8 (50,0)

11 (35,5)

	<b>SENS mayor a 2</b>	10	27	
	Menor a 2	(62,5)	(87,1)	
	Mayor a 2	6	4	
		(37,5)	(12,9)	0,050*
	<b>VSG</b>	11	30 (63,8)	
	Menor a 20	(68,8)	17 (36,2)	0,721
	Mayor a 20	5		
		(31,3)		
	<b>VSG</b>	11	34 (72,3)	
	Menor a 30	(68,8)	13 (27,7)	
	Mayor a 30	5		
		(31,3)		0,784
Garnero y colaboradores 2008;35(12):2313	<b>PCR</b>	7 (43,8)	19 (40,4)	
	Menor a 3	9 (56,3)	28 (59,6)	
	Mayor a 3			
	<b>FR</b>			
	Menor a 20	7 (43,8)	15 (31,9)	
	Mayor a 20	9 (56,3)	32 (68,1)	
	<b>FR</b>			
	Menor a 60	12 (75,0)	30 (63,8)	0,816
	Mayor a 60	4 (25,0)	17 (36,2)	
		9 (56,3)	25 (53,2)	0,391
	<b>Anti CCP</b>	7 (43,8)	22 (46,8)	
	Menor a 20	10	34 (72,3)	0,413
	Mayor a 20	(62,5)	13 (27,7)	
		6		
	<b>Anti CCP</b>	(37,5)	45 (95,7)	0,832
	Menor a 60	14 (87,5)	2 (4,3)	
	Mayor a 60	2 (12,5)		0,459
	<b>RA 33</b>			
Menor a 25			0,243	
Mayor a 25				



# SENS (Simple erosion Narrowing score)



Forma simplificada de evaluar radiografías y está basado en el método de SvdH

Para erosiones y DEA se evalúan las mismas áreas que en el método de SvdH, esto es en 32 articulaciones de manos y en 12 de pies; mientras que para DEA en 30 y 12 respectivamente.

El puntaje máximo es de dos para cada articulación evaluada.

Este método es apto para su aplicación en la práctica clínica diaria, así como también en estudios epidemiológicos, es especialmente útil durante los primeros años del padecimiento.



# Discusión

1. La actividad de la enfermedad medida por DAS28, HAQ, VAS, RAPID 3 y SDAI, no presentó ninguna asociación con los niveles de DKK-1 de los pacientes con ARt estudiados, esto puede deberse a que son pacientes de reciente comienzo con apenas 2 años de evolución de la enfermedad
2. El Score SENS mayor a 2 se correlacionó con los niveles de DKK-1 en suero, siendo este un índice de puntaje de daño radiológico, nos puede indicar que la proteína DKK-1 podría considerarse como un biomarcador de resorción ósea y daño articular en pacientes con AR de reciente inicio
4. No se obtuvo asociaciones estadísticamente significativas entre las categorías leve, moderado y alto de niveles séricos de DKK-1 en suero con marcadores reumatológicos como el FR, anti-CCP y reactantes de fase aguda (PCR y VSG)

# Conclusiones



La evaluación sérica de los niveles de la proteína DKK1 tiene asociación con el daño progresivo articular visible por radiología, aunque carece de capacidad diagnóstica en el desarrollo de la enfermedad en fases tempranas

Aunque existe asociación entre los niveles de DKK-1 y una mayor progresión del daño óseo, este no se asocia con marcadores empleados en la práctica clínica como el factor reumatoide, anti-péptidos cíclicos citrulinados y reactantes de fase aguda como factor reumatoide y velocidad de sedimentación globular

# Recomendaciones a futuro





Aumentar el  
tamaño de la  
muestra

Tiempo de  
progreso de la  
enfermedad

Ampliar el  
estudio en  
etapas mas  
avanzadas de  
la enfermedad