

**Reyes-García R<sup>1,2</sup>, Rozas-Moreno P<sup>1,3</sup>, García-Martín A<sup>1,4</sup>, García-Fontana B<sup>1,5</sup>, Morales-Santana S<sup>1,5</sup>, Muñoz-Torres M<sup>1,6</sup>**

1 Unidad Metabolismo Óseo, Endocrinología y Nutrición - Hospital Universitario San Cecilio - Granada (España)

2 Sección de Endocrinología - Hospital General Rafael Méndez - Lorca - Murcia (España)

3 Servicio de Endocrinología - Hospital General de Ciudad Real - Ciudad Real (España)

4 Sección de Endocrinología - Hospital Comarcal del Noroeste - Caravaca de la Cruz - Murcia (España)

5 Servicio de Proteómica - Fundación para la Investigación Biosanitaria de Andalucía Oriental -Alejandro Otero- (FIBAO) - Granada (España)

6 Plataforma Metabolismo Mineral y Óseo (RETICEF) (España)

## Dickkopf1 (DKK1), metabolismo óseo y enfermedad aterosclerótica en pacientes con diabetes *mellitus* tipo 2

Correspondencia: Antonia García-Martín - Servicio de Endocrinología y Nutrición - Hospital Universitario San Cecilio - Avda. Dr. Oloriz, 16 - 18012 Granada (España)

Correo electrónico: garciamartin\_t@hotmail.com

Fecha de recepción: 05/10/2015

Fecha de aceptación: 28/12/2015

*Trabajo becado por la FEIOMM para asistir al 35º Congreso de la ASBMR (Baltimore, 2013).*

### Resumen

**Objetivos:** La diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) se asocia a un incremento del riesgo de fracturas y de enfermedades cardiovasculares. Los objetivos de nuestro estudio fueron evaluar los niveles séricos de Dickkopf-1 (DKK1) en una cohorte de pacientes con DM2 y analizar su relación con el metabolismo óseo y la enfermedad aterosclerótica (EA).

**Pacientes y métodos:** Se estudiaron 126 sujetos: 72 pacientes con DM2 (edad media de 58,2±6 años) y 54 sujetos no diabéticos (edad media de 55,4±7 años). Se midió DKK1 mediante ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, Biomedica Gruppe), se determinó la densidad mineral ósea (DMO) mediante absorciometría dual de rayos X (DXA), se registró la presencia de EA (enfermedad cerebrovascular, enfermedad arterial periférica, cardiopatía isquémica) y se evaluó el grosor de la íntima-media (GIM, ultrasonografía doppler) y la calcificación aórtica (radiología simple).

**Resultados:** No se encontraron diferencias significativas en DKK1 entre diabéticos y no diabéticos. Las concentraciones séricas de DKK1 fueron significativamente mayores en las mujeres de la muestra total (24,3±15,2 vs. 19,6±10,2 pmol/L, p=0,046) y del grupo DM2 (27,5±17,2 vs. 19,8±8,9 pmol/L, p=0,025). Hubo una correlación positiva entre DKK1 y DMO lumbar en la muestra total (r=0,183, p=0,048). Sin embargo, no se encontraron diferencias en función del diagnóstico de osteoporosis o presencia de fracturas vertebrales morfométricas. Los valores de DKK1 fueron significativamente mayores en los pacientes con DM2 y EA (26,4±14,5 pmol/L vs. 19,1±11,6 pmol/L, p=0,026) y también en pacientes con GIM anormal (26,4±15,1 pmol/L vs. 19,8±11,3 pmol/L, p=0,038). En el análisis de la curva ROC para evaluar la utilidad de DKK1 como un marcador de alto riesgo de EA, el área bajo la curva fue de 0,667 (intervalo de confianza -IC- del 95%: 0,538-0,795; p=0,016). Una concentración de 17,3 pmol/L o superior mostró una sensibilidad del 71,4% y una especificidad del 60% para identificar un mayor riesgo de EA.

**Conclusiones:** Los niveles circulantes DKK1 son más altos en los diabéticos con EA y se asocian con un GIM patológico. Por tanto, consideramos que DKK1 puede estar implicado en la enfermedad vascular de los pacientes con DM2.

**Palabras clave:** *Dickkopf1, metabolismo óseo, enfermedad aterosclerótica, diabetes mellitus tipo 2.*

## Serum dickkopf1 (DKK1), bone metabolism and atherosclerotic disease in patients with type 2 diabetes

### Summary

**Background and objectives:** Type 2 diabetes (T2DM) is a risk factor for osteoporotic fractures and cardiovascular disease. The aims of our study were to evaluate serum Dickkopf-1 (DKK1) levels in a cohort of T2DM patients and to analyze its relationships with bone metabolism and atherosclerotic disease (AD).

**Patients and methods:** We studied 126 subjects: T2DM patients (n: 72, mean age 58,2±6 years) and non-diabetic subjects (n: 54, mean age 55,4±7 years). DKK-1 was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA, Biomedica Gruppe). Bone mineral density (BMD) was measured by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA). The presence of AD (cerebrovascular disease, peripheral arterial disease, ischemic heart disease) was recorded. Intima-media thickness (IMT) was determined by doppler ultra-sonography and aortic calcification by evaluation of lateral view conventional X-rays.

**Results:** We did not find significant differences in DKK1 between groups. Serum DKK1 concentrations were significantly higher in females in total sample (24,3±15,2 vs 19,6±10,2 pmol/L, p=0,046) and in T2DM group (27,5±17,2 vs 19,8±8,9 pmol/L, p=0,025). There was a positive correlation between serum DKK1 and LS BMD in total sample (r=0,183, p=0,048). However, we did not find a significant relationship with osteoporosis diagnosis or morphometric vertebral fractures. Serum DKK1 was significantly higher in T2DM patients with AD (26,4±14,5 pmol/L vs 19,1±11,6 pmol/L, p=0,026) and also in patients with abnormal IMT (26,4±15,1 pmol/L vs 19,8±11,3 pmol/L, p=0,038). In the ROC curve analysis to evaluate the usefulness of DKK-1 as a marker for high risk of AD, the area under the curve was 0,667 (95% confidence interval: 0,538-0,795; p=0,016). A concentration of 17,3 pmol/L or higher showed a sensitivity of 71,4% and a specificity of 60% to identify an increased risk of AD.

**Conclusions:** Circulating DKK1 levels are higher in T2DM with AD and are associated with an abnormal IMT in this cross-sectional study. DKK1 may be involved in vascular disease of T2DM patients.

**Key words:** serum Dickkopf1, bone metabolism, atherosclerotic disease, type 2 diabetes mellitus.

### Introducción

La diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) se asocia con un mayor riesgo de fracturas en cualquier localización pese a una mayor densidad mineral ósea (DMO)<sup>1,2</sup>. Por otro lado, la aterosclerosis es el principal mecanismo patogénico en la enfermedad macrovascular del paciente diabético en relación con un engrosamiento de la pared arterial, el desarrollo de la placa de ateroma y la calcificación vascular<sup>3</sup>. La enfermedad vascular aterosclerótica es más frecuente en los pacientes con osteoporosis, y se han sugerido diversas vías fisiopatológicas comunes<sup>4</sup>. Además, los datos epidemiológicos apoyan una relación entre la baja densidad mineral ósea (DMO) y la presencia de enfermedad aterosclerótica avanzada en la DM2<sup>5,6</sup>.

Las vías de señalización Wnt están implicadas en diversos procesos fisiológicos incluyendo la diferenciación celular y tisular junto a la morfogénesis de órganos<sup>7</sup>. El descubrimiento de la vía de señalización de Wnt y su relevancia en la homeostasis ósea ha contribuido a un mejor conocimiento de los mecanismos celulares y moleculares de la biología del hueso<sup>8</sup>. La activación de esta vía da como resultado una expansión de las células osteoprogenitoras, así como una reducción de la apoptosis de los osteoblastos, lo que conlleva efectos anabólicos sobre el hueso<sup>8</sup>. La vía canónica de Wnt está regulada por múltiples familias de antagonistas, tales como Dickkopf-1 (DKK1). DKK1 regula la señalización de Wnt mediante su unión a un co-receptor, el receptor relacionado con la lipoproteína de baja densidad (LRP) 5/6. Además DKK1 se une a otras moléculas, como las proteínas transmembrana Kremen, para aumentar su actividad inhibidora de la vía Wnt<sup>9</sup>. La relación entre las concen-

traciones séricas de DKK1 y la masa ósea se ha analizado con datos contradictorios<sup>10-12</sup>.

Teniendo en cuenta la relación inversa entre la fragilidad ósea y la aterosclerosis, se está investigando el papel de la vía de señalización Wnt en el proceso de aterosclerosis. En estudios preclínicos las vías de señalización de Wnt están involucradas en los procesos de calcificación vascular<sup>13</sup>, inflamación<sup>14</sup>, la adhesión de monocitos y la migración trans-endotelial<sup>15</sup>. También hay datos recientes que muestran una relación entre los niveles séricos de DKK1 y la aterosclerosis en los seres humanos<sup>16,17</sup>.

En este contexto, los objetivos de nuestro estudio fueron evaluar los niveles séricos de DKK1 en una cohorte de pacientes con DM2 y analizar su relación con el metabolismo óseo y la enfermedad aterosclerótica. Además, se compararon las concentraciones séricas DKK1 entre DM2 y los sujetos no diabéticos.

### Pacientes y métodos

#### Población de estudio

Nuestro estudio de carácter transversal incluyó a 126 sujetos: un grupo de DM2 con 72 pacientes diagnosticados de diabetes según los criterios de la Asociación Americana de Diabetes (ADA, 2005) y un grupo de control con 54 sujetos no diabéticos reclutados consecutivamente entre la población general de forma aleatoria en el mismo período de tiempo.

Todos los sujetos del estudio cumplieron los siguientes criterios de inclusión: caucásicos, ambulatorios, edad entre 35 y 65 años y valores normales de hemograma, creatinina, función hepática, calcio y fósforo. Los criterios de exclusión fueron enfermedad crónica excepto la DM2, situaciones y

tratamiento con fármacos que afectan el metabolismo óseo. También se excluyeron los pacientes diabéticos tratados con tiazolidinedionas.

Los pacientes con DM2 se clasificaron en dos grupos de acuerdo a la presencia o no de la enfermedad aterosclerótica (EA): grupo EA y el grupo no-EA, respectivamente. Los criterios de inclusión para los pacientes con enfermedad aterosclerótica fueron: enfermedad cerebrovascular (ictus isquémico o accidente isquémico transitorio); enfermedad coronaria (infarto de miocardio previo, diagnóstico de angina estable o inestable o cirugía de revascularización coronaria) o enfermedad arterial periférica.

El estudio se realizó con la aprobación del Comité Ético del Hospital y se ajustó a las directrices pertinentes para la investigación en humanos. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado para su inclusión.

### Evaluación clínica

En todos los pacientes se midieron altura, peso y circunferencia de cintura al inicio del estudio de acuerdo a los procedimientos estándares. El índice de masa corporal (IMC) se calculó dividiendo el peso por el cuadrado de la altura ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ).

Se midió la presión arterial de una manera estandarizada. Tras 5 minutos de reposo se midió la presión arterial dos veces utilizando un esfigmomanómetro de mercurio estándar (12 centímetros de largo, 35 cm de ancho). La media de los dos valores se utilizó para el análisis. Se definió la hipertensión ante valores  $\geq 140/90$  mmHg y/o el tratamiento antihipertensivo.

Los participantes informaron sobre su consumo de alcohol, tabaco y el nivel de actividad física según un cuestionario de salud específico.

### Determinaciones analíticas

La glucemia basal plasmática (GBP), la hemoglobina glicosilada (HbA1c), el calcio, el fósforo y la creatinina séricos fueron medidos usando las técnicas automatizadas del laboratorio. La lipoproteína de alta densidad (HDL), las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y los triglicéridos se midieron por métodos bioquímicos estándares. La dislipidemia se definió según el 3º Informe del Grupo de Expertos en la Detección, Evaluación y Tratamiento de la Hipercolesterolemia en Adultos (ATP-III) o si había tratamiento con estatinas.

Se determinaron los niveles séricos de parathormona (PTH; inmunoensayo: Roche Diagnostics SL, Barcelona, España) y 25-hydroxivitamina D (25-OH-D; radioinmunoensayo: DiaSorin, Stillwater, Minnesota, EE.UU.).

Los marcadores del remodelado óseo de formación recogidos fueron osteocalcina (OC; radioinmunoensayo, DiaSorin, Stillwater, Minnesota, EE.UU.) y fosfatasa alcalina ósea (FAo; ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas - ELISA-, Tandem-R Ostase TM, Hybritech Europe, Liège, Bélgica). Los marcadores de resorción incluidos fueron fosfatasa ácida tartrato resistente 5 $\beta$  (TRAP5 $\beta$ ; colorimetría, Hitachi 704 Boehringer Mannheim GmbH) y telopéptido carboxi-terminal del colágeno tipo 1 (CTX; inmunoensayo enzimático, analizador Elecsys CrossLaps, Roche Diagnostics SL, Barcelona, España).

Los niveles séricos de DKK1 se midieron mediante el ELISA (Biomedica Medizinprodukte GmbH y Co. KG, Viena, Austria) según las instrucciones del fabricante. El Biomedica DKK-1 ELISA (BI-20412) detecta DKK-1 libre. La variabilidad intraensayo e interensayo fueron del 7% y 9%, respectivamente. La medida de DKK1 se expresa en picomoles por litro (pmol/L).

### Densidad mineral ósea y estudio radiológico vertebral

La densidad mineral ósea (DMO) de columna lumbar (CL) L2-L4, cuello femoral (CF) y cadera total (CT) fue determinada en todos los pacientes mediante absorciometría dual de rayos X (DXA) usando el densitómetro Hologic QDR 4500 (Whatman, MA; coeficiente de variación <1%). Todas las medidas fueron hechas por el mismo operador. Usamos los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el diagnóstico de osteoporosis. También se realizó radiología simple de rayos X de columna dorsal y lumbar para el análisis de fracturas vertebrales (FV) morfométricas, y se interpretó de acuerdo al algoritmo desarrollado por McCloskey y cols.<sup>18</sup>.

### Mediciones del grosor de la íntima media y de la calcificación aórtica

El grosor de la íntima media carotídea (GIM) se midió mediante eco-doppler (TOSHIBA Vision 6000) en ambas carótidas a unos 10 mm proximales de la bifurcación carotídea (BIF) mediante sonda de 7,5 MHz en modo B. La determinación se realizó por el mismo observador en todos los sujetos. Se realizaron 10 mediciones en cada carótida calculando la media para cada arteria y a su vez la media de las dos. Se expresa en milímetros, y se definió GIM patológico si  $\geq 0,9$  mm, y la presencia de placa de aterosclerosis si GIM  $\geq 1,2$  mm o superior al 50% del GIM adyacente<sup>19</sup>.

La presencia de calcificación aórtica se evaluó mediante radiología simple lateral de columna torácica y lumbar (T4-L5)<sup>20</sup>.

### Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó empleando el programa SPSS (versión 18.0, Chicago, EE.UU.). Para variables continuas se evaluó si seguían una distribución normal mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Se emplearon medidas de tendencia central (media) y dispersión (desviación estándar -SD-, rango) para variables continuas, y distribución de frecuencias absolutas y relativas para variables categóricas. Las diferencias para las variables de interés entre grupos de comparación se realizaron mediante el test de la t de Student para dos muestras independientes y el test de la U de Mann-Whitney en el caso de variables continuas. Para variables categóricas se utilizó el test de la Chi Cuadrado de Pearson y el test exacto de Fisher. La relación entre las variables cuantitativas se analizó usando el test de correlaciones bivariadas de Pearson o de Spearman. La utilidad de DKK1 suero como un marcador de alto riesgo de enfermedad aterosclerótica en la DM2 se analizó utilizando una curva ROC (característica operativa del receptor). Todos los test estadísticos se realizaron a doble cola. Una  $p < 0,05$  fue considerada estadísticamente significativa.

## Resultados

Las características clínicas de la población de estudio se resumen en la tabla 1.

No se encontraron diferencias significativas en DKK1 entre ambos grupos: DM2,  $23,35 \pm 13,78$  pmol/L *vs.* no diabéticos,  $20,1 \pm 11,86$  pmol/L,  $p=0,163$ . Las concentraciones séricas de DKK1 fueron significativamente mayores en las mujeres en la muestra total ( $24,3 \pm 15,2$  *vs.*  $19,6 \pm 10,2$  pmol/L,  $p=0,046$ ) y en el grupo DM2 ( $27,5 \pm 17,2$  *vs.*  $19,8 \pm 8,9$  pmol/L,  $p=0,025$ ).

En cuanto al metabolismo óseo, hubo una correlación positiva entre DKK1 y DMO lumbar en la muestra total ( $r=0,183$ ;  $p=0,048$ ). Sin embargo, no se encontraron diferencias en función del diagnóstico de osteoporosis o presencia de fracturas vertebrales morfométricas. Tampoco existió relación con las hormonas calcitropas ni los marcadores de remodelado óseo.

En la tabla 2 se muestran los datos de EA según los grupos de estudio.

Los valores de DKK1 fueron significativamente mayores en los pacientes con DM2 y EA ( $26,4 \pm 14,5$  pmol/L *vs.*  $19,1 \pm 11,6$  pmol/L,  $p=0,026$ ) y también en pacientes con GIM anormal ( $26,4 \pm 15,1$  pmol/L *vs.*  $19,8 \pm 11,3$  pmol/L,  $p=0,038$ ).

En el análisis de la curva ROC para evaluar la utilidad de DKK1 como un marcador de alto riesgo de EA, el área bajo la curva fue de 0,667 (intervalo de confianza - IC- del 95%: 0,538-0,795;  $p=0,016$ ). Una concentración de 17,3 pmol/L o superior mostró una sensibilidad del 71,4% y una especificidad del 60% para identificar un mayor riesgo de EA.

## Discusión

Existen escasos estudios sobre la relación entre DKK1 y el metabolismo óseo en la DM2. Nuestros resultados mostraron niveles más altos de DKK1 en pacientes diabéticos con EA y GIM patológico. Estos hallazgos sugieren que las concentraciones séricas de DKK1 pueden constituir un predictor de la presencia de enfermedad aterosclerótica en esta población. Sin embargo, nuestros datos no mostraron diferencias en DKK1 entre los pacientes diabéticos y los sujetos no diabéticos. En cuanto al metabolismo óseo, se encontró una relación significativa de DKK1 sérico con la densidad mineral ósea, mientras que no la hubo con los marcadores de remodelado óseo, el diagnóstico de osteoporosis o la presencia de fracturas vertebrales morfométricas.

No existen trabajos previos centrados en evaluar las diferencias en las concentraciones séricas de DKK1 de acuerdo con la presencia de diabetes. Por nuestra parte, no encontramos diferencias en DKK1 entre los pacientes con DM2 y los sujetos sin diabetes. Estos resultados contrastan con nuestros datos anteriores, que muestran altas concentraciones de esclerostina en este mismo grupo de pacientes diabéticos<sup>21</sup>. Sin embargo, la relación establecida entre DKK1 y esclerostina no ha sido claramente establecida<sup>22</sup>. A diferencia de nuestros resultados previos sobre esclerostina, las mujeres tenían concentraciones de DKK1 superiores, tanto en la muestra total como en el grupo de DM2. El estradiol y la progesterona regulan las vías de Wnt en el tejido endometrial<sup>23</sup> y el cerebro<sup>24</sup>, por lo que los efectos

inducidos por los esteroides sexuales podrían explicar las diferencias de género en DKK1.

En cuanto a la relación entre el metabolismo óseo y DKK1 sólo encontramos una correlación débil con DMO en columna lumbar en la muestra total, y ninguna relación con los marcadores de remodelado óseo, osteoporosis o fracturas vertebrales morfométricas. Además, la DMO lumbar puede verse afectada por la calcificación aórtica. Nuestros hallazgos confirman los datos anteriores que muestran la inexistencia de relación entre DKK1 y los marcadores de recambio óseo en osteoporosis postmenopáusicas<sup>11</sup> y pacientes en hemodiálisis<sup>12</sup>. La asociación entre DKK1 y la DMO no está totalmente asentada. No se ha encontrado relación con la DMO de pacientes diabéticos afroamericanos<sup>17</sup>. Sin embargo, por otro lado se ha descrito una relación inversa entre DKK1 y DMO y mayores concentraciones de DKK1 en pacientes con osteoporosis<sup>10</sup> y en la enfermedad renal crónica<sup>22</sup>. Por lo tanto, los datos sobre DKK1 sérico y el metabolismo óseo son controvertidos, e impiden extraer conclusiones claras al respecto.

En nuestro estudio, los niveles más altos de DKK1 se relacionaron positivamente con la enfermedad aterosclerótica en pacientes con DM2 independientemente de la presencia de otros factores de riesgo vasculares, y concentraciones más altas de DKK1 estaban relacionadas con un GIM patológico en diabéticos. Estos resultados están en consonancia con los datos previos que muestran la relación entre la enfermedad vascular y DKK1. Los pacientes con enfermedad cerebrovascular tienen niveles séricos DKK1 mayores respecto a los controles<sup>25</sup>, y las concentraciones séricas de DKK1 se correlacionaron con la calcificación de las arterias coronarias y las placas ateroscleróticas coronarias<sup>16</sup>. Previamente, Ueland y cols.<sup>26</sup> demostraron la expresión génica de DKK1 en las placas ateroscleróticas carotídeas, y que DKK1 constituye un nuevo mediador en la activación de células endoteliales mediada por las plaquetas. En contraposición a nuestros resultados, las concentraciones DKK1 se asociaron negativamente con la placa aterosclerótica en pacientes afroamericanos con DM2<sup>17</sup>. Como señalan los autores, los afroamericanos tienen una menor prevalencia de calcificación vascular, y muestran relaciones opuestas entre la calcificación arterial y las concentraciones séricas de vitamina D en comparación con los europeos<sup>27</sup>, lo que podría explicar la discordancia de los resultados.

Nuestro estudio tiene algunas limitaciones como el diseño transversal que no permite establecer una relación causa-efecto, y el tamaño de la muestra que es relativamente pequeño y podría afectar para encontrar otros resultados interesantes.

En resumen, las concentraciones plasmáticas de DKK1 no mostraron diferencias según la presencia de diabetes, y no encontramos relación con los marcadores de remodelado óseo, el diagnóstico de osteoporosis o la presencia de fracturas vertebrales morfométricas. Sin embargo, los niveles circulantes de DKK1 son más altos en los diabéticos con enfermedad aterosclerótica y están relacionados con un GIM patológico. Estos hallazgos sugieren que DKK1 podría estar involucrado en el desarrollo de enfermedad aterosclerótica de los pacientes con DM2.



Tabla 1. Características de la muestra de estudio

	Muestra total (n=126)	Grupo DM2 (n=72)	Grupo no DM2 (n=54)	Valor p
Edad (años)	57±6	58±6	55±7	0,018
Varones/mujeres (n)	62/64	39/33	25/29	0,472
<b>Historia clínica</b>				
Duración diabetes (años)	-	13,7±7,6	-	
Hipertensión (%)	53,2	80,6	46,3	<0,001
Dislipemia (%)	65,9	94,4	70,4	<0,001
Tabaco (%)	15,1	16,7	13	0,623
Alcohol (%)	8,7	6,9	11,1	0,104
Sedentarismo (%)	47,6	55,6	37	0,048
<b>Evaluación clínica</b>				
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	30,5±5,9	31,4±5,7	29,3±5,9	0,043
Cintura (cm)	102,6±12,4	106,4±11,4	97,4±11,9	<0,001
PAS (mm Hg)	130±20	134±97	124±17	0,002
PAD (mm Hg)	80±13	80±12	79±15	0,705
<b>Datos analíticos</b>				
GBP (mg/dL)	137,2±61,9	173±60,1	89,4±10,4	<0,001
HbA1c (%)	6,7±2,2	8±1,9	4,8±0,4	<0,001
Creatinina (mg/dL)	0,88±0,18	0,89±0,19	0,86±0,16	0,266
Calcio (mg/dL)	9,5±0,5	9,6±0,5	9,3±0,4	0,001
Fósforo (mg/dL)	3,6±0,5	3,7±0,5	3,5±0,5	0,01
PTH (pg/mL)	43,6±19,5	38,5±18,4	50,4±19,1	<0,001
25(OH)D (ng/mL)	19,5±11,3	17,8±11,5	21,6±10,9	0,06
OC (ng/mL)	1,5±1,3	1,5±1,3	1,5±1,2	0,939
FAo (µg/L)	14±6,5	14,7±6,2	13±6,8	0,162
CTX (ng/mL)	0,266±0,155	0,209±0,132	0,338±0,153	<0,001
TRAP5b (UI/L)	1,6±0,9	1,4±1	1,8±0,8	0,02
Triglicéridos (mg/dl)	142±121	169,9±149,8	104,9±47,7	<0,001
HDL (mg/dl)	53,5±15,5	49±16	59,5±12,5	<0,001
LDL (mg/dl)	111,7±35,5	96,9±34,1	130,8±27,4	<0,001
DKK1 (pg/ml)	<b>21,95±13,1</b>	<b>23,35±13,78</b>	<b>20,1±11,86</b>	0,163
<b>Parámetros DXA y fracturas</b>				
DMO CL (g/cm <sup>2</sup> )	0,977±0,148	0,954±0,146	1±0,148	0,068
DMO CF (g/cm <sup>2</sup> )	0,820±0,124	0,817±0,132	0,823±0,117	0,792
DMO CT (g/cm <sup>2</sup> )	0,906±0,135	0,903±0,145	0,911±0,125	0,772
T-score CL	-1,08±1,36	-1,3±1,3	0,82±1,3	0,058
T-score CF	-0,55±1,01	-0,6±1,04	-0,49±0,99	0,565
T-score CT	-0,55±0,98	-0,62±1	-0,51±0,92	0,557
Osteoporosis (%)	15,9	24,6	9,4	0,047
Fracturas (%)	23	30,3	20	0,274

IMC: índice de masa corporal; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica; GBP: glucemia basal plasmática; HbA1c: hemoglobina glicada; PTH: parathormona; 25(OH)D: 25-hidroxivitamina D; OC: osteocalcina; FAo: fostatasa alcalina ósea; CTX: telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo 1; TRAP5b: fosfatasa ácida tartrato resistente 5β; HDL: lipoproteína de alta densidad; LDL: lipoproteína de baja densidad; DMO: densidad mineral ósea; CL: columna lumbar; CF: cuello femoral; CT: cadera total; GIM: grosor íntima-media.

Tabla 2. Enfermedad aterosclerótica según grupos de estudio

	Muestra total (n=126)	Grupo DM2 (n=72)	Grupo no DM2 (n=54)	Valor p
Enfermedad aterosclerótica	35,7	58,3	5,6	<0,001
Enfermedad cerebrovascular (%)	11,9	19,4	1,9	0,002
Cardiopatía (%)	23,8	38,9	3,7	<0,001
Enfermedad arterial periférica (%)	7,9	13,9	0	0,005
GIM patológico (%)	35,7	54,2	11,1	<0,001
Placa carotídea (%)	15,9	29,4	0	<0,001
Calcificación aórtica (%)	19	34,8	2,2	<0,001

GIM: grosor íntima-media.

**Conflicto de intereses:** No existe conflicto de intereses por parte de los autores.

### Bibliografía

- Hofbauer LC, Brueck CC, Singh SK, Dognig H. Osteoporosis in patients with diabetes mellitus. *J Bone Miner Res* 2007;22:1317-28.
- Epstein S, Leroith D. Diabetes and fragility fractures - A burgeoning epidemic? *Bone* 2008;43:3-6.
- Madonna R, De Caterina R. Cellular and molecular mechanisms of vascular injury in diabetes-part I: Pathways of vascular disease in diabetes. *Vascul Pharmacol* 2011;54:68-74.
- Magnus JH, Brussard DL. Relationship between bone mineral density and myocardial infarction in US adults. *Osteoporos Int* 2005;16:2053-62.
- Carr JJ, Register TC, Hsu FC, Lohman K, Lenchik L, Bowden DW, et al. Calcified atherosclerotic plaque and bone mineral density in type 2 diabetes: the diabetes heart study. *Bone* 2008;42:43-52.
- Divers J, Register TC, Langefeld CD, Wagenknecht LE, Bowden DW, Carr JJ, et al. Relationships between calcified atherosclerotic plaque and bone mineral density in African Americans with type 2 diabetes. *J Bone Miner Res* 2011;26:1554-60.
- Gordon MD, Nusse R. Wnt signalling: multiple pathways, multiple receptors and multiple transcription factors. *J Biol Chem* 2006;281:22429-33.
- Huang H, He X. Wnt/beta-catenin signaling: new (and old) players and new insight. *Curr Opin Cell Biol* 2008;20:119-25.
- Mao B, Wu W, Davidson G, Marhold J, Li M, Mechler BM, et al. Kremen proteins are Dickkopf receptors that regulate Wnt/\_-catenin signalling. *Nature* 2002;417:664-7.
- Butler JS, Murray DW, Hurson CJ, O'Brien J, Doran PP, O'Byrne JM. The role of Dkk1 in bone mass regulation: correlating serum Dkk1 expression with bone mineral density. *J Orthop Res* 2011;29:414-8.
- Polyzos SA, Anastasilakis AD, Bratengeier C, Woloszczuk W, Papatheodorou A, Terpos E. Serum sclerostin levels positively correlate with lumbar spinal bone mineral density in postmenopausal women-the six-month effect of risedronate and teriparatide. *Osteoporos Int* 2012;23:1171-6.
- Cejka D, Jäger-Lansky A, Kieweg H, Weber M, Bieglmayer C, Haider DG, et al. Sclerostin serum levels correlate positively with bone mineral density and micro-architecture in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27:226-30.
- Shao JS, Cheng SL, Pingsterhaus JM, Charlton-Kachigian N, Loewy AP, Towler DA. Msx2 promotes cardiovascular calcification by activating paracrine Wnt signals. *J Clin Invest* 2005;115:1210-20.
- Sen M, Ghosh G. Transcriptional outcome of Wnt-Frizzled signal transduction in inflammation: evolving concepts. *J Immunol* 2008;181:4441-5.
- Christman MA 2nd, Goetz DJ, Dickerson E, McCall KD, Lewis CJ, Benencia F, et al. Wnt5a is expressed in murine and human atherosclerotic lesions. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;294:H2864-70.
- Kim KI, Park KU, Chun EJ, Choi SI, Cho YS, Youn TJ, et al. A novel biomarker of coronary atherosclerosis: serum DKK1 concentration correlates with coronary artery calcification and atherosclerotic plaques. *J Korean Med Sci* 2011;26:1178-84.
- Register TC, Hruska KA, Divers J, Bowden DW, Palmer ND, Carr JJ, et al. Plasma Dickkopf (DKK1) concentrations negatively associate with atherosclerotic calcified plaque in african-americans with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:60-5.
- McCloskey EV, Spector TD, Eyres KS, Fem ED, O'Rourke N, Vasikaran S, et al. The assessment of vertebral deformity: a method for use in population studies and clinical trials. *Osteoporos Int* 1993;138-47.
- Junyent M, Gilabert R, Nuñez I, Corbella E, Vela M, Zambon D, et al. Carotid ultrasound in the assessment of preclinical atherosclerosis. Distribution of intima-media thickness values and plaque frequency in a Spanish community cohort. *Med Clin* 2005;125:770-4.
- Kaupilla I, Polak JF, Cupples LA, Hannan MT, Kiel DP, Wilson PW. New indices to classify location, severity and progression of calcific lesions in the abdominal aorta: a 25-year follow-up study. *Atherosclerosis* 1997;132:245-50.
- García-Martín A, Rozas-Moreno P, Reyes-García R, Morales-Santana S, García-Fontana B, García-Salcedo JA, et al. Circulating levels of sclerostin are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:234-41.
- Thambiah S, Roplekar R, Manghat P, Fogelman I, Fraser WD, Goldsmith D, et al. Circulating sclerostin and Dickkopf-1 (DKK1) in predialysis chronic kidney disease (CKD): relationship with bone density and arterial stiffness. *Calcif Tissue Int* 2012;90:473-80.
- Wang Y, Hanifi-Moghaddam P, Hanekamp EE, Kloosterboer HJ, Franken P, Veldscholte J, et al. Progesterone inhibition of Wnt/beta-catenin signaling in normal endometrium and endometrial cancer. *Clin Cancer Res* 2009;15:5784-93.
- Scott EL, Brann DW. Estrogen regulation of Dkk1 and Wnt/β-Catenin signaling in neurodegenerative disease. *Brain Res* 2013;1514:63-74.
- Seifert-Held T, Pekar T, Gattringer T, Simmet NE, Scharnagl H, Stojakovic T, et al. Circulating Dickkopf-1 in acute ischemic stroke and clinically stable cerebrovascular disease. *Atherosclerosis* 2011;218:233-37.
- Ueland T, Otterdal K, Lekva T, Halvorsen B, Gabrielsen A, Sandberg WJ, et al. Dickkopf-1 enhances inflammatory interaction between platelets and endothelial cells and shows increased expression in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29:1228-34.
- Freedman BI, Register TC. Effect of race and genetics on vitamin D metabolism, bone and vascular health. *Nat Rev Nephrol* 2012;8:459-66.