



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

RELACIÓN DE LOS NIVELES SÉRICOS DE
LEPTINA CON LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA
EN ADULTOS MAYORES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

MARÍA GUADALUPE VERGARA MARÍN



México, D.F.

DIRECTORA: M EN C RAQUEL RETANA UGALDE
ASESOR: DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ

Abril 2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE
MEXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES "ZARAGOZA"**

**JEFATURA DE LA CARRERA DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

ASUNTO: ASIGNACIÓN DE SINODALES

ESTIMADOS MAESTROS:

La Dirección de la Facultad de Estudios Superiores "Zaragoza", ha nombrado a ustedes como Sinodales del Examen Profesional del (la) señor (ita):

VERGARA MARÍN MARÍA GUADALUPE

para obtener el Título de Químico Farmacéutico Biólogo.

Les agradeceré se sirvan revisar el trabajo escrito intitulado: **Relación de los niveles séricos de leptina con la densidad mineral ósea en adultos mayores**

Y asistir en la fecha que después se les hará saber al Examen de Recepción Profesional.

PRESIDENTE	DRA. MARTHA A. SÁNCHEZ RODRÍGUEZ
VOCAL	M. en C. RAQUEL RETANA UGALDE
SECRETARIO	DR. VICTOR M. MENDOZA NÚÑEZ
SUPLENTE	Q.F.B. MA. DE LAS MERCEDES ZAMUDIO DURÁN
SUPLENTE	M. en C. MIRNA RAMOS RUIZ



ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
México, D.F. a, 17 de enero de 2008.

DRA. MARTHA ASUNCIÓN SÁNCHEZ RODRÍGUEZ
JEFA DE LA CARRERA

ZARAGOZA
JEFATURA DE LA CARRERA
DE Q. F. B

c.c.p. Departamento de Control de Egresados
c.c.p. Interesado

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se desarrolló en su mayoría en el Laboratorio de Gerontología Clínica de la Unidad de Investigación en Gerontología en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza de la UNAM.

La investigación se realizó bajo la dirección del Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez y la M en C Raquel Retana Ugalde y fue apoyada por el proyecto de investigación “La participación del adulto mayor en el manejo del síndrome metabólico, bajo el paradigma del envejecimiento activo”, del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) con clave de proyecto IN 303407 de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA).

AGRADECIMIENTOS

A los sinodales: Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez, M en C Raquel Retana Ugalde, Dra. Martha A. Sánchez Rodríguez, QFB María de las Mercedes Zamudio Durán y la M en C Mirna Ramos Ruiz.

A todo el equipo de trabajo de la Unidad de Investigación en Gerontología; Dr. Víctor Manuel, M en C Raquel Retana Ugalde, Dra. Martha A. Sánchez, M en C Mirna Ramos Ruiz, Mtra. Elsa Correa, Juanita y Mauricio por su ayuda y apoyo incondicional durante la realización de este proyecto.

A la M. en C. Rosa Elba Galván Duarte por la asesoría técnica en la cuantificación de hormonas que se llevó a cabo en el Laboratorio de Hormonas del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

A los profesores de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por compartir su conocimiento a lo largo de la carrera, en especial a la memoria de la Profesora María de los Ángeles Vidal Millán, Profesora María José Márquez Dos Santos, Profesora Patricia Vidal Millán, Profesora Guadalupe Miranda, QFB Ramón Rodríguez, QFB Oscar González Moreno, Dra. Leticia Cruz A. y todos los profesores que no menciono.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y en especial a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, que me permitió ser parte de esta gran institución y formarme como profesionista.

A todos mis amigos tanto de la carrera así como externos: Maricela, Pilar, Diana, Guadalupe, Miriam, Tania, Lizbeth, Geovany, Liliana, Delia, Sarita, Lucía, JP, Arturo y **todos mis demás** amigos del PB y a los que no menciono, les agradezco el que siempre hayan estado brindándome su amistad y apoyo en los momentos más difíciles de mi vida y de la carrera. Gracias.

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a toda mi familia, especialmente a mi mamá Roselia Marín Carbajal, a mis hermanas y hermanos quienes me han apoyado incondicionalmente a lo largo de mi carrera, y que creyeron en mí, lo que permitió que concluyera con éxito esta etapa de mi vida. Por ello les agradezco la confianza que me tuvieron para cumplir con este objetivo tan importante. Gracias.

A la memoria de mi padre Raúl Vergara Garfías que aunque ya no está presente, le dedico este logro.

A Bernardo Martínez M. una persona muy importante para mí quien ha estado conmigo a lo largo de mi carrera apoyándome en cada etapa de la misma, gracias por tu entrega y confianza. Gracias por todo.

ÍNDICE

	Página
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	2
III. MARCO TEÓRICO.....	3
1. Fisiología del hueso.....	3
2. Osteoporosis.....	7
2.1 Factores involucrados en su aparición y desarrollo.....	8
2.2 Evaluación de la densidad mineral ósea.....	9
3. Proteína C Reactiva.....	11
4. Marcadores de remodelación ósea.....	11
5. Perfil lipídico.....	13
6. Leptina.....	15
6.1 Aspectos moleculares.....	16
6.2 Mecanismo de acción.....	17
6.3 Regulación de la síntesis y liberación de leptina.....	18
7. Relación de leptina con la densidad mineral ósea.....	20
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	26
V. HIPÓTESIS.....	27
VI. OBJETIVOS.....	28
VII. MATERIAL Y MÉTODOS.....	29
1. Tipo de estudio.....	29
2. Población de estudio.....	29
3. Criterios de inclusión y exclusión.....	29
4. Variables.....	29
4.1 Operacionalización de variables.....	30
5. Materiales.....	32
6. Técnicas.....	34
VIII. DIAGRAMA DE FLUJO.....	46
IX. DISEÑO ESTADÍSTICO.....	47
X. RESULTADOS.....	48
XI. DISCUSIÓN.....	60
XII. CONCLUSIONES.....	65

XIII. PROPUESTAS Y/O RECOMENDACIONES.....	66
XIV. REFERENCIAS.....	67

I. RESUMEN

Antecedentes: La osteoporosis es un desorden metabólico caracterizado por la disminución de la densidad mineral ósea, teniendo como consecuencia incremento en la fragilidad y susceptibilidad del hueso. Ésta disminución ha sido relacionada con la presencia de leptina, no obstante también se le ha atribuido a la leptina el efecto osteoprotector, por lo que la relación entre ambas no ha sido del todo concluyente. **Objetivo:** Determinar la relación de la densidad mineral ósea con los niveles séricos de leptina en una población de personas mayores de 50 años sanos y con osteoporosis. **Método:** Se llevó a cabo un estudio de tipo observacional, prolectivo, transversal y comparativo en una población de 118 adultos mayores de 50 años de ambos sexos, conformado por dos grupos de acuerdo al diagnóstico en: 1) 31 personas sanas (68.1 ± 8.9 años) y 2) 87 con osteoporosis (68.6 ± 7.4 años) respectivamente. Posteriormente la población se estratificó con el género y con la edad en función de la densidad mineral ósea. Se les realizaron mediciones antropométricas; perfil de lípidos, marcadores de formación ósea (fosfatasa alcalina específica de hueso y osteocalcina) cuantificadas por ELISA, proteína C reactiva, fósforo y calcio; además de leptina determinada por RIA (Radioinmunoensayo). Los datos fueron analizados con t-Student, regresión lineal múltiple y análisis de frecuencias con cálculo de χ^2 , utilizando el paquete estadístico SPSS V.15.0. **Resultados:** Se detectó una prevalencia de osteoporosis del 74%, así como una asociación positiva estadísticamente significativa entre la densidad mineral ósea con la leptina, una asociación negativa con la fosfatasa alcalina al igual que con la edad y una asociación positiva con el IMC y el perfil de lípidos. Estos resultados se observaron principalmente en mujeres con osteoporosis de 50-59 años. **Conclusión:** Los niveles séricos de leptina mostraron una correlación positiva estadísticamente significativa con la densidad mineral ósea sugiriendo un efecto protector para la osteoporosis. Mostrando que las variables que más se asociaron con la densidad mineral ósea fueron la edad de manera negativa y el género, siendo las mujeres las más afectadas.

II. INTRODUCCIÓN

La osteoporosis es un desorden en el metabolismo óseo, caracterizado por la disminución de la densidad mineral ósea y por el deterioro de la microarquitectura, con un subsecuente incremento en la fragilidad del hueso y susceptibilidad a fracturas, padecimiento que ha sido asociado a diversos factores, entre ellos la presencia de leptina en el organismo. Actualmente se calcula que 75 millones de personas en EU de América, Europa y Japón la padecen. En México los datos estadísticos son escasos, no obstante se ha detectado osteoporosis en un 19.5% en mujeres de 60 a 69 años y el 30% en mujeres de 70 a 79, mientras que en hombres sólo el 9.6% de 60 a 69 años y el 10% en hombres de 70 a 79 años respectivamente.

Sin embargo son diversos los factores que participan en la disminución de la densidad mineral ósea, que en un determinado tiempo se traduce en osteoporosis, entre ellos se encuentra un desequilibrio en el metabolismo óseo, que incluyen principalmente la falta de secreción de hormonas, deficiencia de calcio, fósforo y vitamina D, entre otros. Aunque actualmente se ha relacionado a la leptina, una nueva hormona sintetizada en el tejido adiposo, con la densidad mineral ósea.

En este sentido, son pocos los estudios realizados sobre la relación entre la densidad mineral ósea y los niveles de leptina, algunos de ellos muestran que la leptina influye en la disminución de la densidad mineral ósea. Pero también hay otros estudios que reportan lo contrario, que ésta no tiene relación con la pérdida ósea y que actúa directamente sobre el hipotálamo produciendo un efecto protector contra osteoporosis, mediante mecanismos moleculares específicos. En cambio hay otros autores que no han encontrado ninguna relación entre la densidad mineral ósea y la leptina.

De ahí que en este estudio se buscó el establecer la relación de los niveles séricos de leptina con la densidad mineral ósea en personas mayores de 50 años.

III. MARCO TEÓRICO

El esqueleto es un tejido dinámico, sometido a un proceso de remodelado continuo a lo largo de la vida. Por un lado, proporciona soporte estructural para el movimiento y por otro además de proteger, es el soporte y matriz de diversas funciones en el organismo.

1. FISIOLÓGÍA DEL HUESO

El hueso contiene el 99% del calcio, el 85% del fosfato, el 60% de magnesio y el 35% de sodio del organismo. Desde el punto de vista estructural, éste es un tejido conectivo mineralizado que adopta dos variedades: *a) cortical o compacto*, que se encuentra en las diáfisis de huesos largos y en las láminas externas e internas de los planos y periferias de los cortos y *b) trabecular o esponjoso*, el cual se localiza en la parte central de los huesos cortos, epífisis y metáfisis de los largos, y diploe de los planos.¹

De este modo, el hueso se encuentra compuesto por dos tipos principales de células óseas los osteoblastos y osteoclastos, además de la matriz orgánica y el mineral óseo, los cuales se encargan de mantener el equilibrio entre la formación y resorción del hueso.

Células óseas

En el estroma de la cavidad medular de los huesos se encuentran los adipocitos, macrófagos, mastocitos (células cebadas), células progenitoras o reticulares, células endoteliales, osteoblastos y osteoclastos.¹

Los osteoblastos: son células grandes de forma cuboidea, de 20-30 µm de diámetro mayor, con un núcleo ovalado en el que se distinguen de 2 a 4 nucléolos. Son células polarizadas y se encuentran dispuestas en forma de empalizada sobre la matriz orgánica, misma que sintetizan y segregan ellos

mismos, actuando de forma coordinada. Las acciones fisiológicas de los osteoblastos son: a) producir la totalidad de las proteínas que constituyen la matriz osteoide; b) dirigir la organización o correcta disposición de esa matriz en forma de fibrillas y fibras que brindan una gran resistencia; c) contribuir a la adecuada mineralización de esa matriz orgánica, un proceso en el que es esencial la fosfatasa alcalina que producen los osteoblastos y d) mediar los efectos que sobre los osteoclastos tienen las hormonas y factores estimulantes de la reabsorción ósea. Una vez acabada la fase de síntesis de osteoide, los osteoblastos pueden derivar bien a osteocitos englobados en la matriz orgánica, o bien a osteocitos de superficie. El papel funcional de los osteocitos es la detección de estímulos mecánicos y variaciones en la tensión y morfología del hueso producidas por las cargas que soporta, así como su traducción en el remodelado óseo.¹

Los osteoclastos: son células grandes de 20-100 μm de diámetro, multinucleadas y polarizadas, sus efectos se localizan en regiones determinadas de su superficie en donde contiene un sinfín de entrantes y salientes (borde de cepillo), donde se desarrolla la resorción ósea, proceso necesario en el remodelado óseo.¹⁻²

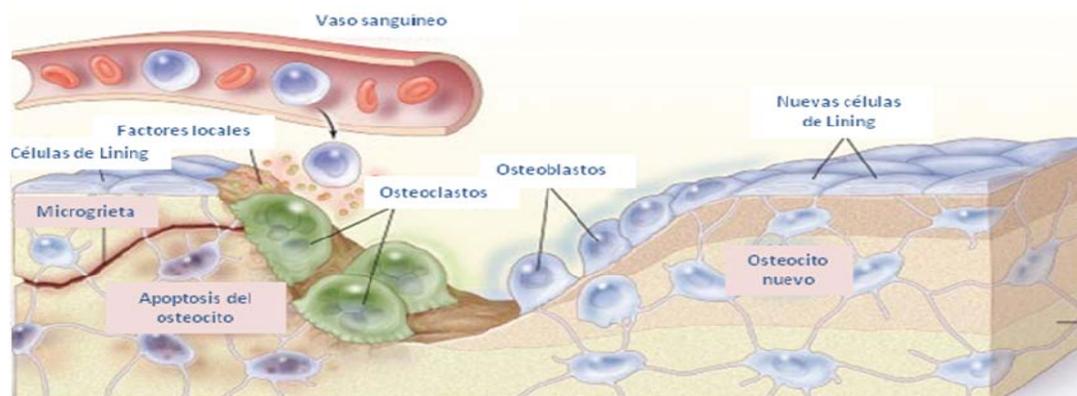


Figura 1. Morfología de las células óseas (osteoblastos y osteoclastos). Tomado de Pacifici, 1996.²

Matriz orgánica del hueso

La matriz orgánica, o sustancia osteoide compuesta por proteínas colágenas y no colágenas producida por los osteoblastos, representa alrededor de un tercio del peso del hueso.¹

Al respecto, el colágeno tipo I compone aproximadamente el 90% de las proteínas de la matriz osteoide, y el resto es compuesto por proteínas como:

Proteínas no colágenas de la matriz osteoide: estas proteínas no colágenas, además de contribuir en la formación de la matriz osteoide, intervienen o median fundamentalmente la fisiología dinámica del hueso. Entre las proteínas no colágenas se encuentra la fosfatasa alcalina y la osteocalcina. La fosfatasa alcalina producida por los osteoblastos, es una enzima que libera fosfato inorgánico a partir de ésteres fosfóricos a un pH óptimo de 8.6. En cuanto a la osteocalcina es producida por los osteoblastos y contiene un ácido gamma-carboxiglutámico el cual se combina con iones calcio entre sus dos grupos carbonilo, ésta media la mineralización de la matriz orgánica y facilita la adhesión de las células óseas a la misma.¹

En tanto que el papel fisiológico de las proteínas no colágenas de la matriz osteoide es actuar en: 1) la mineralización, favorece o inhibe el depósito de mineral en la matriz osteoide, favorece o inhibe la maduración y crecimiento del mineral y tienen acción enzimática; 2) la resorción ósea, regulan la actividad de los osteoclastos, tienen acción quimiotáctica y poseen la función de reconocimiento; 3) la estructura de la matriz osteoide, favorecen el anclaje de las células óseas en la matriz y contribuyen a la estructura de la misma; y 4) entre otras funciones, ayudan al transporte de iones, hormonas y metabolitos además de estimular o inhibir enzimas.¹

Mineral óseo

El componente mineral del hueso representa alrededor de las dos terceras partes de su volumen total, y se compone principalmente de hidroxiapatita.¹ Este cristal $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, se caracteriza por su pequeño tamaño (200-400 Å de largo, 20-40 Å de ancho y 10-20 Å de espesor) y su gran asimetría física y electrostática, estas características le facilitan el depósito de iones y agua en su superficie, así junto al Ca^{2+} , HPO_4^{2-} , Mg^{2+} , F^- , Na^+ y K^+ quedan adsorbidos sobre la hidroxiapatita iones carbonato, citrato e hidroxilo, además de iones metálicos menos frecuentes como Pb^{2+} , Zn^{2+} y Cd^{2+} .¹

La mineralización de la matriz orgánica del hueso está dirigida por los osteoblastos mediante dos vías, una es controlando la concentración local de calcio y fosfato, y la otra mediante la regulación de proteínas no colágenas y de factores favorecedores o inhibidores de la mineralización. En suma en la mineralización intervienen elementos estructurales y funcionales que regulan la formación de hidroxiapatita y su depósito en la matriz orgánica del hueso. La cantidad y calidad del mineral óseo depende de la coordinación y equilibrio entre esos elementos.¹

Remodelado óseo

El hueso está sometido a un continuo proceso de remodelado óseo, que en un adulto se da cada año. Este remodelado está ligado a las superficies óseas y comprende una secuencia ordenada de acciones celulares.¹ En este proceso la fase de resorción por parte de los osteoclastos se lleva a cabo en periodos cortos, sin embargo el periodo requerido para el remplazo osteoblastico del hueso es más largo.³ Por otro lado hay factores que regulan el remodelado óseo, la reserva de hueso que se posee en cada momento es consecuencia del equilibrio entre su reabsorción y su formación, un equilibrio que está influido íntimamente por factores genéticos, alimentarios, hormonales y locales. Destacando el papel hormonal de la insulina pues ejerce una importante acción sobre el desarrollo óseo al estimular directamente la síntesis de proteínas de la matriz orgánica por los osteoblastos.¹

Todo lo anterior nos ayuda a entender el proceso por el cual el hueso se mantiene saludable y en equilibrio, y que si dicho equilibrio se ve afectado, éste puede traducirse en un daño, como lo es la osteoporosis.

2. OSTEOPOROSIS

Definida según la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1994, como una enfermedad esquelética y sistemática caracterizada por una baja masa ósea y deterioro de la microarquitectura del tejido óseo, teniendo como consecuencia el incremento de la fragilidad y susceptibilidad ósea.⁴⁻⁷ En tanto que la Norma Oficial Mexicana NOM-035 la define como la disminución en la densidad mineral ósea con daño a la microarquitectura y aumento en la frecuencia de fracturas con trauma mínimo.⁸

Ésta puede ser primaria (idiopática) o secundaria debida a una o más causas identificables, éstas incluyen corticosteroides orales, hipogonadismo, abuso de alcohol, hipertiroidismo, metástasis esquelética, mieloma múltiple y anticonvulsivantes. En cada caso el resultado es una baja Densidad Mineral Ósea (DMO). En las últimas décadas se ha reconocido a la osteoporosis como uno de los principales problemas de salud, de ahí los avances en el conocimiento de su epidemiología, patogenia, manifestaciones clínicas (fractura), diagnóstico, prevención y tratamiento, ya que esta enfermedad afecta tanto a mujeres como a hombres, siendo la incidencia mayor en mujeres, puesto que una de cada dos la padece y sólo uno de cada seis hombres. De este modo personas que han llegado a los 50 años tendrán una o más fracturas siendo los principales sitios de daño: vértebra, cadera, columna y antebrazo distal. El riesgo de presentar fracturas en el hueso por fragilidad depende de la densidad ósea (70% a 80% de la resistencia del hueso), calidad (arquitectura, remodelamiento, daño por microfracturas, plasticidad) y geometría (longitud del eje femoral y su ángulo con relación a la diáfisis). Incluyendo la propensión a presentar caídas, el grosor de tejidos blandos y los mecanismos de defensa del trauma. Además de que en la mujer la causa principal de pérdida ósea y osteoporosis es la falta de estrógenos, especialmente asociada a la menopausia.⁵⁻⁹

Cabe resaltar que esta enfermedad con frecuencia se diagnostica hasta que se presenta una fractura, de aquí la importancia de una detección oportuna.

2.1 Factores involucrados en su aparición y desarrollo

Se conoce que el riesgo de presentar fracturas por fragilidad depende de factores de origen genético y principalmente de origen bioquímico los cuales atribuyen la aparición de la osteoporosis a una ingestión y balance metabólico inadecuados de calcio y fósforo, deficiencia de vitamina D, así como la deficiencia de estrógenos después de la menopausia.^{6,10}

Factores bioquímicos

Dentro de los factores bioquímicos existen dos principales: los nutricionales y los endocrinos. Se conoce que los nutrientes más importantes en la conservación de la salud del hueso son el calcio y fósforo, en forma de fosfato, éstos componen del 80 al 90% del contenido mineral óseo y algunos elementos traza como el manganeso, cobre y zinc. Estos últimos son indispensables en el funcionamiento celular del hueso; siendo cofactores necesarios en la formación de los entrecruzamientos del colágeno, síntesis de mucopolisacáridos, actividades enzimáticas de la fosfatasa alcalina y de la anhidrasa carbónica. Un factor endocrino involucrado en el origen y desarrollo de la osteoporosis ha sido la deficiencia de estrógenos en mujeres posmenopáusicas.^{3, 5-7, 9-10}

Calcio y Fósforo

El hueso proporciona una fuente fácilmente accesible de calcio para el mantenimiento de las concentraciones normales en el líquido extracelular, en donde aproximadamente el 50% se encuentra ionizado y fisiológicamente activo, el producto iónico de las concentraciones plasmáticas normales de calcio ionizado y fosfato libre difusible es considerado superior al valor necesario para que formen ambos compuestos (calcio ionizado y fosfato

difusible), por lo que en comparación con el hueso, el plasma está supersaturado de ambos minerales, siendo el fosfato cálcico en forma de hidroxapatita el principal componente de las estructuras duras de huesos y dientes.¹¹

La insuficiencia de calcio y fósforo en la dieta provoca cambios en la producción y secreción de hormonas calciotrópicas que minimizan el desarrollo de balances negativos de ambos iones. Además su consumo insuficiente puede provocar disminución en la masa ósea.³ También se ha observado que concentraciones menores a 0.7 mmol/L reflejan defectos en la mineralización ósea y que productos superiores a 2.2 mmol/L indican presencia de calcificaciones en tejidos blandos. En tanto que la hipofosfatemia crónica puede dar lugar a enfermedades del metabolismo óseo como la osteoporosis y osteomalacia. Por otra parte la hiperfosfatemia intensa y aguda provoca hipocalcemia.¹⁰

Así mismo también existen otros factores involucrados en la disminución de la densidad mineral ósea como son:

Los factores de origen genético, que determinan el pico de masa ósea que alcanzará una persona entre los 25-35 años, el hiperparatiroidismo, la administración de corticosteroides, inactividad física, hábitos diarios (alcoholismo, tabaquismo), empleo de anticonceptivos orales y número de embarazos.¹²⁻¹³

2.2 Evaluación de la Densidad Mineral Ósea

De ahí que la evaluación de la densidad mineral ósea en los adultos mayores nos da una idea del estado de salud del hueso además de que ayuda como indicador primario de personas propensas a desarrollar osteoporosis.

Densitometría

Se define como estudio de gabinete mediante el cual se puede medir la densidad mineral ósea cortical y trabecular, y se expresa en g/cm^2 y en T-score.⁸ Método que permite diagnosticar o confirmar la osteoporosis en pacientes sin fracturas.⁹

Existen varias técnicas diferentes para medir la DMO, la más empleada es mediante rayos X de doble energía tanto axial como periférica, ya que es considerada la técnica diagnóstica más precisa y exacta.^{5, 9, 14}

En 1994 la OMS reconoció a la densitometría ósea como un método diagnóstico útil para medir la densidad o masa ósea y evaluar riesgo de fractura y seleccionó el valor T (T-score) para diagnosticar osteoporosis. El T-score es la medida expresada en Desviaciones Estándar (DE) por abajo o por arriba del promedio del valor de DMO de mujeres caucásicas jóvenes sanas. Una DE significa que la DMO ha disminuido alrededor del 12% con respecto al DMO promedio de la población joven. Los criterios diagnósticos de la OMS, basados en la medición de la DMO consideran a un individuo con “osteoporosis” si su DMO se encuentra 2.5 DE por debajo de la DMO promedio de la población joven (20 a 39 años de edad) sana.^{9,14}

Cuadro 1. Guías de la OMS para la interpretación de la medición de DMO.⁹

T-score (DE)	Interpretación
Mayor a (-1.0)	Normal
Menores a (-2.5)	Osteoporosis

Estas mediciones tienen tres principales usos: 1) Para confirmar el diagnóstico de osteoporosis, 2) Para estimar la severidad de la pérdida ósea, y 3) Para determinar si el paciente está respondiendo al tratamiento.⁶

De todo lo anterior se debe tener presente que el riesgo para desarrollar osteoporosis aumenta con los años, y que además el riesgo de fractura alcanza un 40% entre las mujeres y sólo 13% para hombres. Por lo que a nivel

mundial se calcula que el número de fracturas de cadera aumentará de 1.7 millones en 1990 a 6.3 millones en 2050. Aunado a este problema se ha reportado que también el medio ambiente contribuye de manera significativa con el envejecimiento de las personas, influyendo en la calidad de vida, aire, agua, alimentación, etc. Por lo que es importante prevenir o tratar esta enfermedad. Actualmente se está empleado el tratamiento de reemplazo hormonal (HRT) o bifosfonatos, lo cual ha disminuido el riesgo de fractura hasta en un 50% en mujeres con osteoporosis.¹⁵⁻¹⁷

Por otro lado hay diferentes parámetros que se pueden medir y que en cierto modo se encuentran relacionados con la disminución de la densidad mineral ósea como lo son la proteína C reactiva y los marcadores de remodelado óseo.

3. PROTEÍNA C REACTIVA

La Proteína C Reactiva (PCR) es una glicoproteína anormal producida en el hígado en respuesta a la inflamación. Además varios estudios han fallado para demostrar una asociación directa entre PCR sérica y la densidad ósea, otros estudios muestran que niveles altos de PCR están asociados con una reducción de la DMO. Pasco y cols. encontraron un 23% en incremento de riesgo de fractura, independientemente de la DMO, con cada desviación estándar aumentada, es más alta la sensibilidad de la PCR.⁴

4. MARCADORES DE REMODELACIÓN ÓSEA

Actualmente hay una serie de pruebas que se emplean para evaluar el grado de pérdida de hueso, como son: Marcadores Bioquímicos de Remodelado Óseo (MBRO) además del fósforo y calcio; estos marcadores pueden ser evaluados en suero u orina. Los cuales incluyen a la Fosfatasa Alcalina fracción ósea o específica de Hueso (BAP) y Osteocalcina, como índices de

formación ósea, mientras que la Deoxipiridinolina (DPD) es empleada como marcador bioquímico de resorción ósea.^{9,14}

Marcadores de formación ósea

Actualmente, la formación ósea osteoblástica puede ser medida clínicamente usando tres diferentes pruebas: 1) osteocalcina en suero, 2) fosfatasa alcalina específica de hueso en suero y 3) el Propéptido N-terminal de Colágeno tipo I (P1NP) en suero. Los niveles elevados de osteocalcina, BAP y P1NP son vistos con el incremento del remodelado óseo y pérdida ósea. En tanto que BAP y P1NP son considerados como los principales marcadores de formación, mientras que la osteocalcina y la fosfatasa alcalina, aunque ambos son marcadores de la actividad osteoblástica éstos están influenciados por factores genéticos.⁴

Fosfatasa alcalina específica de hueso

Por otro lado, la determinación del nivel de Fosfatasa Alcalina específica de Hueso (BAP), es la única prueba sencilla de laboratorio que se corresponde de una manera directa con la consolidación de una fractura. El nivel de BAP se incrementa cuando aumenta el recambio óseo (remodelación), lo que ocurre durante la consolidación normal de una fractura, durante el crecimiento esquelético (en la infancia) o en ciertas neoplasias malignas o trastornos metabólicos (p. ej., enfermedad de Paget) que afectan el esqueleto.¹⁴ BAP es empleada como un índice selectivo de la actividad osteoblástica expresada durante la fase de mineralización en la formación de la matriz ósea.¹⁸⁻¹⁹

Osteocalcina

Mientras que la osteocalcina plasmática, es una proteína sintetizada por osteoblastos maduros, considerada como marcador de la actividad osteoblástica que reduce sus valores en inanición, malnutrición y anorexia nerviosa, dando como resultado una disminución ósea, volviéndose en

osteoporosis. En contraste la obesidad humana está asociada con el incremento de los niveles de osteocalcina e incrementa la DMO y el Índice de Masa Corporal (IMC).²⁰

Marcadores de resorción ósea

Entre los marcadores de resorción ósea, en orina, se encuentra el Enlace Cruzado del Telopéptido N-terminal del Colágeno tipo I (N-tx) y la DPD, que reflejan el nivel de la actividad osteoclástica en el proceso de remodelado óseo. La actividad acelerada osteoclástica incrementa el remodelado y está asociada con una baja masa ósea en mujeres pre y posmenopáusicas. Niveles elevados de marcadores de resorción indican incremento en la actividad osteoclástica y un alto riesgo para fractura de cadera por osteoporosis, independientemente de la DMO. Definitivamente cuando la DMO está en el rango de osteoporosis, se incrementa en orina el N-tx y/o DPD lo que indica un incremento en la resorción ósea y riesgo de fractura. Estos niveles de DPD son influenciados por un colapso del colágeno muscular, debido a esto el N-tx es más sensible para detectar los cambios en el metabolismo óseo que la DPD.⁴

En este sentido es también importante mencionar que existen otros parámetros que se relacionan con la DMO, por ejemplo el perfil lipídico (colesterol, triglicéridos y las lipoproteínas de alta densidad HDL).

5. PERFIL LIPÍDICO

El perfil lipídico incluye la determinación del colesterol total, HDL, triglicéridos, entre otros. En donde algunos estudios reportan que los niveles séricos altos de HDL tienen un efecto protector sobre la DMO, sin embargo las evidencias científicas no son del todo concluyentes.²¹

Colesterol

Es el principal esteroide del organismo, se trata de un componente estructural de las membranas celulares y de las lipoproteínas plasmáticas, a partir del cual se sintetizan los ácidos biliares y las hormonas esteroideas.¹¹ Casi todos los tejidos del hombre sintetizan colesterol.²²

Lipoproteínas (HDL)

Son complejos macromoleculares esféricos de lípidos y proteínas específicas (apolipoproteínas o apoproteínas), tienen como funciones conservar solubles sus lípidos componentes mientras los transportan en el plasma, así como proveer un mecanismo eficiente para transportar su contenido lipídico hacia los tejidos y desde ellos.^{11, 22}

Se tiene ampliamente entendido que el HDL actúa como protector en enfermedades cardiovasculares, sin embargo recientemente ha sido identificado como un posible regulador de la diferenciación de células osteoblásticas. Por lo que, tanto las HDL y las LDL son consideradas como biomarcadores, ya que pueden ser indicadores de la reducción de la calidad ósea e incremento de riesgo de fractura.^{4, 23}

Triglicéridos

Son ácidos grasos que se acumulan en las células de la mucosa intestinal, para posteriormente liberarse a la linfa en forma de lipoproteínas llamadas *quilomicrones*. La mayor parte de triglicéridos se elimina por la acción de la enzima hidrolítica denominada lipoproteína lipasa, que está unida a la superficie de las células endoteliales de los capilares y los ácidos grasos liberados son captados por los tejidos y la mayoría se deposita en los adipocitos.^{11, 22}

El adipocito tiene como papel principal el almacenamiento de grasa, pero también funciona como una célula endocrina, ya que sintetiza y libera muchas moléculas reguladoras, entre ellas una de gran importancia, la leptina, además de otras hormonas.

6. LEPTINA

Estudios científicos han mostrado que la leptina parece tener relación con la densidad mineral ósea, por lo que es importante conocer los aspectos más relevantes acerca de esta hormona.

La palabra leptina proviene de la raíz griega “*leptos*” que significa delgado, es una proteína de 16-kDa constituida por 146 aminoácidos que contiene un puente disulfuro necesario para su actividad biológica. Es un producto del gen *ob* que regula la adiposidad corporal y el balance de energía; se le conoce también como la hormona de la saciedad y se produce principalmente en el tejido adiposo y ésta se produce de manera proporcional a la masa adiposa, por lo que informa al cerebro sobre el nivel de la reserva de grasa.²² Fue identificada en 1994, pero en 1958 Hervey GR fue el primero en demostrar la presencia de una hormona reguladora del peso corporal a través de su acción en el hipotálamo. Cinco años antes Kennedy GC había sugerido que el sitio de producción de la hormona era en el tejido adiposo (teoría lipostática). Pero *Zhang y cols.* identificaron en 1994 el gen responsable de la obesidad en el ratón obeso (leptina), reviviendo la teoría genética de la obesidad. Es considerada como la hormona de la saciedad porque suprime el apetito e incrementa la termogénesis a través de disminuir la producción del neuropéptido Y en hipotálamo.²⁴⁻²⁵

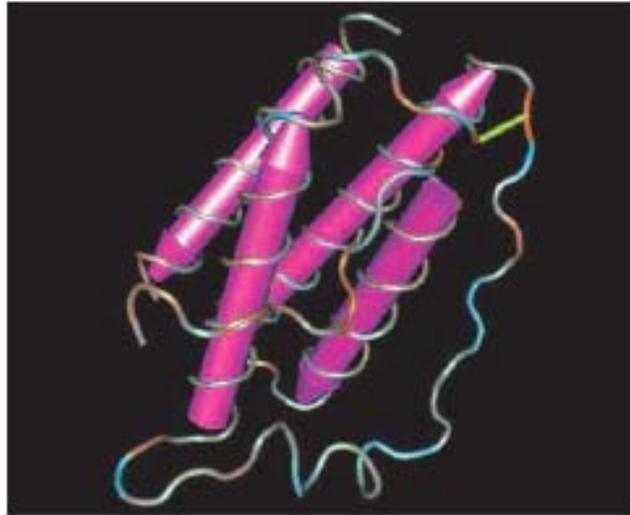


Figura 2. Estructura tridimensional de la leptina. Tomado de La Cava, 2004.³⁵

6.1 Aspectos Moleculares

Posee un alto grado de homología entre especies (ej. 84% entre la leptina humana y murina) además de que comparte algunas similitudes estructurales con las citocinas. Circula en sangre en forma libre y unida a una familia de proteínas y cruza la barrera hematoencefálica por endocitosis y es a este nivel en donde inhibe el apetito y regula el gasto energético. Aunado a esto, el producto del gen *db*, es el receptor de la leptina (ObR o LR) y es expresado en varios tipos de tejidos estudiados (hallada en hipotálamo, hipófisis, placenta, músculo esquelético, mucosa gástrica y epitelio mamario), lo que indica la importancia de la leptina como hormona reguladora en todos los tipos celulares. El receptor pertenece a la familia de las citocinas de clase I, existen seis isoformas pero sólo una es activa, el subtipo *ObR* el cual usa el Transductor Janus Señal/Cinasa (JAK2-STAT3) y el Activador de la vía de Transcripción como la mayor ruta de señalización y con otras cascadas de señalización intracelular.²⁴⁻³⁴

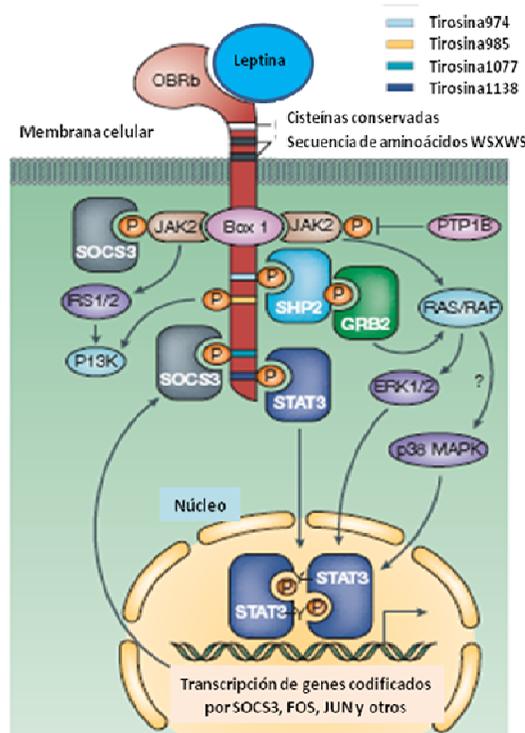


Figura 3. Vía de acción de la leptina. Tomado de La Cava, 2004.³⁵

6.2 Mecanismo de acción

Únicamente la forma larga del receptor de la leptina (OBRb), puede señalizar intracelularmente, puesto que las formas cortas no lo hacen. La longitud total del OBRb es de 1162 amino ácidos; los dominios extracelulares consisten de 816 amino ácidos y es un receptor de citocina clase I, éste contiene dos dominios enlazados como citocina, Trp-Ser-Xaa-Trp-Ser (WSXWS) y un dominio de fibronectina tipo III. Después de unirse la leptina, el OBRb se asocia con la familia Janus Tyrosin Kinase 2 (JAK2), que llega a ser activada por una auto fosforilación o fosforilación cruzada y fosforila a la tirosina en el dominio citoplásmico del receptor. Cuatro de los residuos de tirosina fosforilados funcionan como sitios estacionarios para adaptadores citoplásmicos así como transductor de una señal y activador de los factores de transcripción (STAT), particularmente STAT3. La tirosina en la membrana distal (posición 1138) funciona como un sitio estacionario para STAT3, el cual es un sustrato de JAK2. Después de la dimerización subsecuente, STAT3 transloca al núcleo e induce la expresión del *supresor de citocina señalizadora3 (SOCS3)* y otros

genes. SOCS3 toma parte en una retroalimentación que inhibe la señal de la leptina por unión a tirosinas fosforiladas. El SRC homólogo (SH2) contiene dos dominios fosfatados, (SHP2) es reclutado a Tyr985 y Tyr974, y activan una señal extracelular regulada por la cinasa (ERK1/2) y la activación de las vías p38 y de la proteína cinasa activada por mitógeno (MAPK) a través de la proteína del receptor del factor de crecimiento 2 (GRB2), finalmente induciendo la expresión de FOS, y JUN. Después de unir la leptina, JAK2 puede inducir la fosforilación del sustrato del receptor de insulina 1/2 (IRS1/2) proteínas que son responsables para la activación del fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K). La fosfotirosina fosfatasa 1B (PTP1B), el cual está localizado sobre la superficie del retículo endoplásmico, es involucrado en la regulación negativa de la señalización de OBRb a través de la defosforilación de JAK2 después de la internalización del complejo OBRb.³⁵

6.3 Regulación de la síntesis y liberación de la leptina

Así mismo la secreción de la leptina muestra un incremento entre las 22:00 y 03:00 h, siendo su concentración plasmática directamente proporcional a la reserva de grasa, al índice de masa corporal (IMC) y a la concentración de insulina. Es importante considerar que en la mujer la síntesis de leptina es de dos a tres veces mayor que en el hombre. Y que ésta se encuentra elevada en mujeres obesas, y disminuida en mujeres con bajo peso.³⁶⁻³⁷

En tanto que la regulación de la síntesis y liberación de leptina se lleva a cabo mediante la activación del Sistema Nervioso Simpático (SNS) que es el mecanismo primario mediante el cual ésta incrementa el gasto de energía. La administración intravenosa de leptina, mediante la vía intracerebro-ventricular y en el núcleo hipotalámico en roedores ha demostrado un incremento del flujo simpático a los riñones, tejido adiposo, vasculatura del músculo esquelético y la red neural al suprarrenal. Por lo que la importancia de este proceso radica en que el SNS puede ser la llave reguladora o inhibitoria de la producción de leptina.^{27, 34}

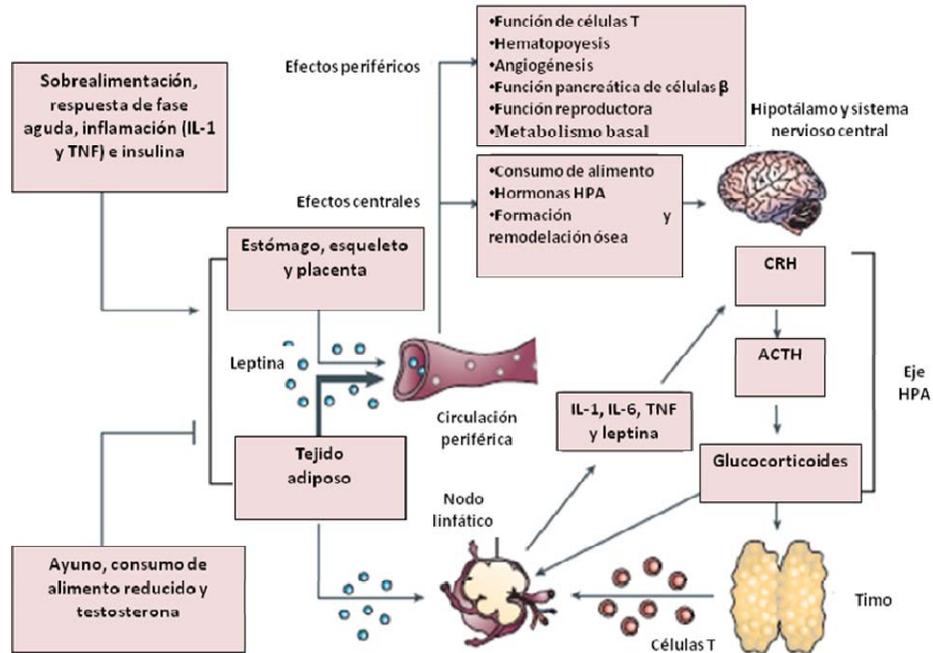


Figura 4. Efectos neuroendocrinos centrales y periféricos de la leptina. Tomado de La Cava, 2004.³⁵

No obstante, los sistemas neuroendocrinos e inmunes se comunican bidireccionalmente a través de ligandos y receptores comunes. El eje adrenal pituitario hipotalámico (HPA, es una de las principales estructuras que es responsable de esta comunicación, así como las hormonas del HPA, hormona liberadora de corticotropina, CRH, hormona adrenocorticotrópica, ACTH y glucocorticoides) secretados durante respuestas al estrés y respuestas inmunes al control de la inflamación. Los productos de fase aguda: interleucina -1 (IL-1), IL-6 y el factor de necrosis tumoral (TNF) pueden influir en la secreción de las hormonas del HPA. La leptina es una hormona/citocina que puede además influir en el eje HPA. Ésta es principalmente producida por el tejido adiposo y en una menor producción por el estómago, músculo esquelético y placenta. La leptina es secretada dentro del torrente sanguíneo con un ritmo circadiano, éste es opuesto a la secreción de glucocorticoides y es proporcional al índice de masa corporal (un confiable marcador de la masa grasa corporal). Una vez liberada dentro de la circulación periférica, la leptina tiene efectos centrales y periféricos. En el hipotálamo, la leptina regula el apetito, el flujo en el sistema nervioso autónomo, masa ósea y la secreción de

las hormonas del HPA. En la periferia, la leptina incrementa el metabolismo basal, influye en la función reproductiva, regula la función pancreática de las células β y secreción de insulina, es proangiogénico para células endoteliales, regula la hematopoyesis en la médula ósea y afecta la generación de células T en el timo y la diferenciación de las T colaboradoras (T_H1) en las células de los nodos linfáticos. La insulina incrementa la secreción de la leptina y a su vez la leptina incrementa la secreción de la insulina.^{35, 38}

Así mismo, se ha encontrado en ciertos estudios relación entre la DMO y la masa grasa en mujeres, especialmente después de la menopausia, los cuales sugieren que esta asociación puede ser el resultado de factores hormonales y mecánicos. Desde luego la masa grasa puede actuar como un sitio periférico para la conversión de andrógenos a estrógenos y los estrógenos séricos están asociados con DMO y el riesgo de fractura.

7. RELACIÓN DE LEPTINA CON LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA

Recientes estudios *in vitro* muestran que la leptina es expresada y secretada de forma primaria en cultivos humanos de osteoblastos durante el periodo de mineralización, aumentando a su vez la actividad osteogénica en la médula ósea al disminuir la osteoclastogénesis. La relación exacta de la leptina con la DMO aún no ha sido elucidada por completo. Por lo que han surgido nuevas propuestas de que la leptina puede ejercer los dos efectos.³⁹⁻⁴⁰

Por otro lado, hay estudios en los cuales *Ducy y cols.* reportan que la leptina administrada en los ventrículos cerebrales de ratones obesos ob/ob (deficientes en leptina) inhibe la formación de hueso, sin afectar la resorción ósea, por el contrario *Burguera y cols.* y *Blain y cols.* observaron que la administración sistémica de leptina parece tener un efecto osteoprotector en ratas ovariectomizadas y en mujeres climatéricas, mientras que *Sato y cols.* han encontrado una relación inversa entre la densidad mineral ósea y la leptina sérica en hombres adultos.⁴¹⁻⁴²

Aunque en sus inicios la investigación sobre la leptina se dirigió a demostrar su efecto anti-obesidad a través de su acción bloqueadora sobre el neuropéptido Y, actualmente juega un papel muy importante en diversos mecanismos fisiopatológicos del organismo, al vincularla con la función reproductiva, inicio de la pubertad, embarazo, lactancia, regulación del sistema inmune, proceso inflamatorio, función respiratoria, tensión arterial, así como su relación con la densidad mineral ósea. También se ha estudiado a la leptina como un potente mediador con efectos protectores de la masa grasa sobre el tejido óseo, debido a que actúa directamente aumentando el desarrollo de precursores hematopoyéticos, línea celular mioblástica o células pulmonares, y más importante ejerce efecto angiogénico en células vasculares endoteliales. En donde se ha observado que los niveles de leptina se incrementan exponencialmente al aumentar la masa grasa, en altas cantidades almacenándose en depósitos grasos subcutáneos y viscerales.⁴³⁻⁴⁴

Bases moleculares de la leptina sobre el control de la formación ósea

Sólo un receptor adrenérgico, el receptor adrenérgico ($\beta 2$) es expresado en osteoblastos. Por lo que se ha establecido en experimentos genéticos que el sistema nervioso simpático, vía $Ad\beta 2$, media por medio de la leptina la regulación de la masa ósea. Los enlaces de la leptina con los receptores hipotalámicos inducen dos cascadas para controlar la masa ósea. En el núcleo se incrementa la expresión de *Cart* (Transcrito Regulado por Cocaína Anfetamina) el cual regula la remodelación ósea vía un mecanismo desconocido, la expresión de *RankL* (Ligando del Receptor Activador de Factor Nuclear kappa-B), factor que tiene un papel importante en el remodelado óseo, es una proteína transmembrana expresada en los osteoblastos y de este modo la resorción ósea. Además los enlaces de la leptina a receptores en las neuronas sensibles a GTG del VMH en el núcleo, inducen un incremento en la actividad simpática la cual señala a los osteoblastos vía receptores $\beta 2$ adrenérgicos presentes en su superficie. Las dos cascadas moleculares distintas van de arriba hacia abajo cuando el

receptor es activado. Una inhibición de la proliferación de osteoblastos es por la vía del reloj molecular regulando la expresión de *c-myc* y *Cyclin-D* (Proteínas que participan en la regulación del ciclo celular). El otro es mediado por la fosforilación a PKA de ATF4, promotores de la expresión de *Rankl* y de este modo la resorción ósea.⁴⁵

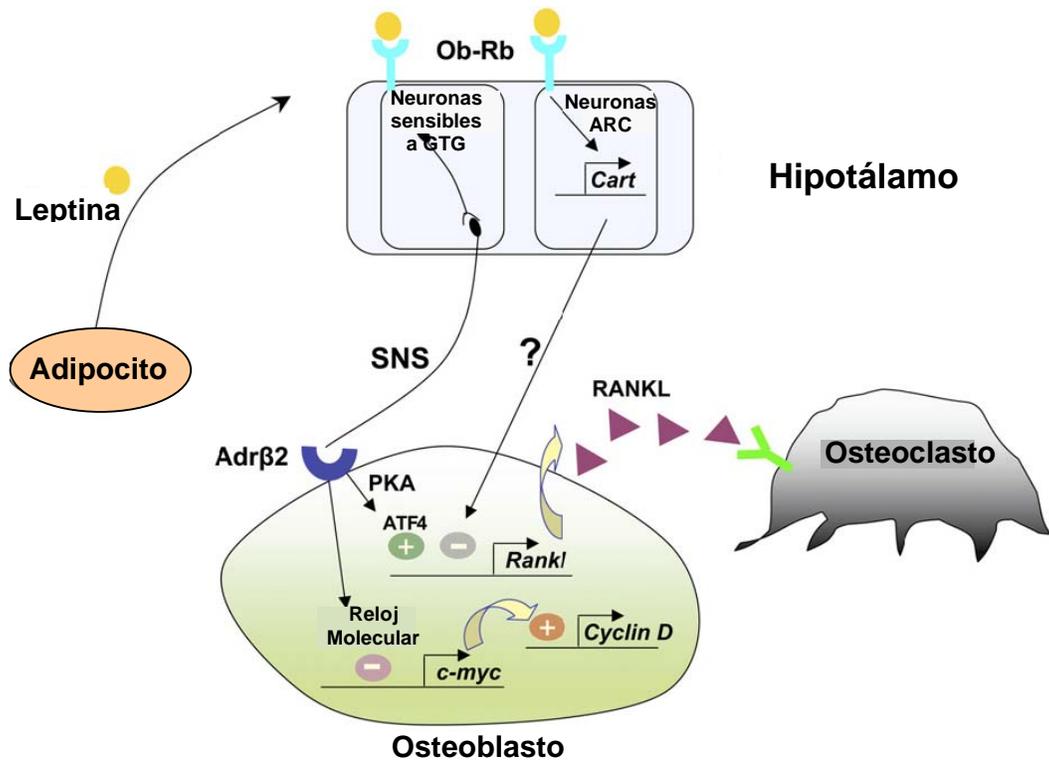


Figura 5. Modelo actual donde la regulación de la masa ósea depende de la leptina. Tomado de Karsenty, 2006.⁴⁵

Una sobre activación de un punto molecular de la rama leptina/SNS reguladora de la proliferación de osteoblastos vía *c-myc* y *Cyclin-D* es sobre activada, llevando a un incremento en la formación ósea y de este modo hay un fenotipo de elevada masa ósea.⁴⁵

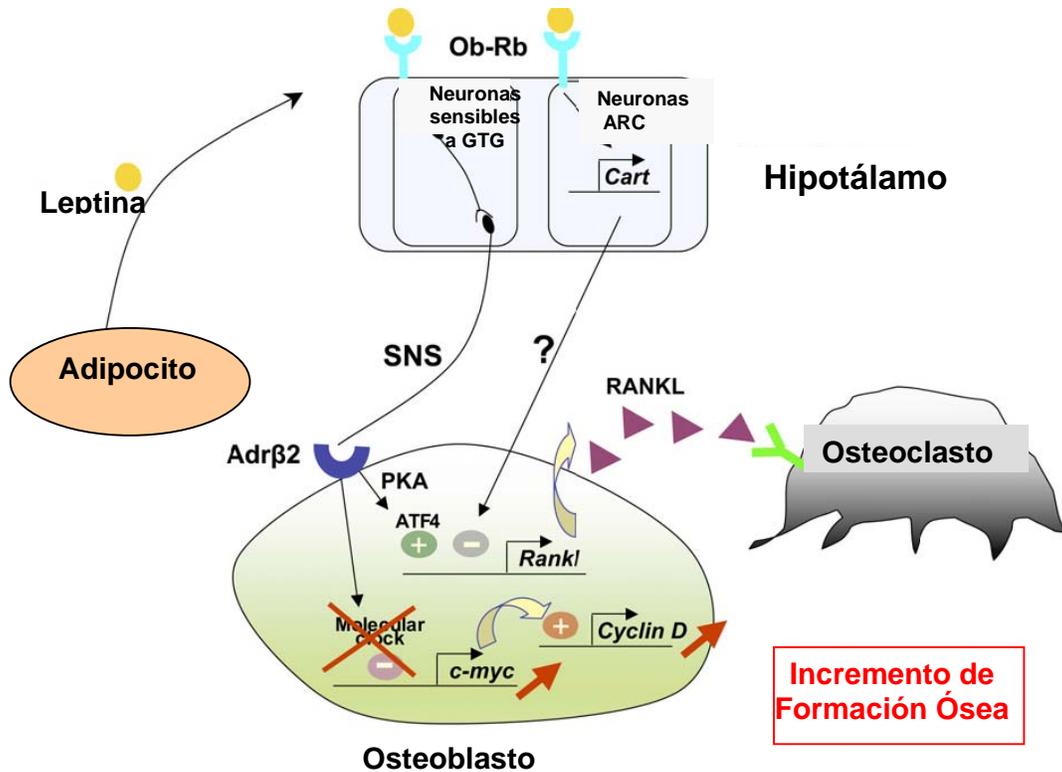


Figura 6. Representación esquemática de las modificaciones causadas por la inactivación de *Per1/2* o *Cry1/2* sobre la regulación de la masa ósea dependiente de la leptina. Tomado de Karsenty, 2006.⁴⁵

La inactivación de la señalización $\beta 2$ adrenérgica lleva a un incremento de la masa ósea. Este incremento de formación ósea por inhibición ejercida por una regulación negativa por el reloj molecular sobre la proliferación de osteoblastos. En resumen esta disminución de la resorción se da por regulación limitada de ATF4 y por la regulación de la expresión de *Rankl*.⁴⁵

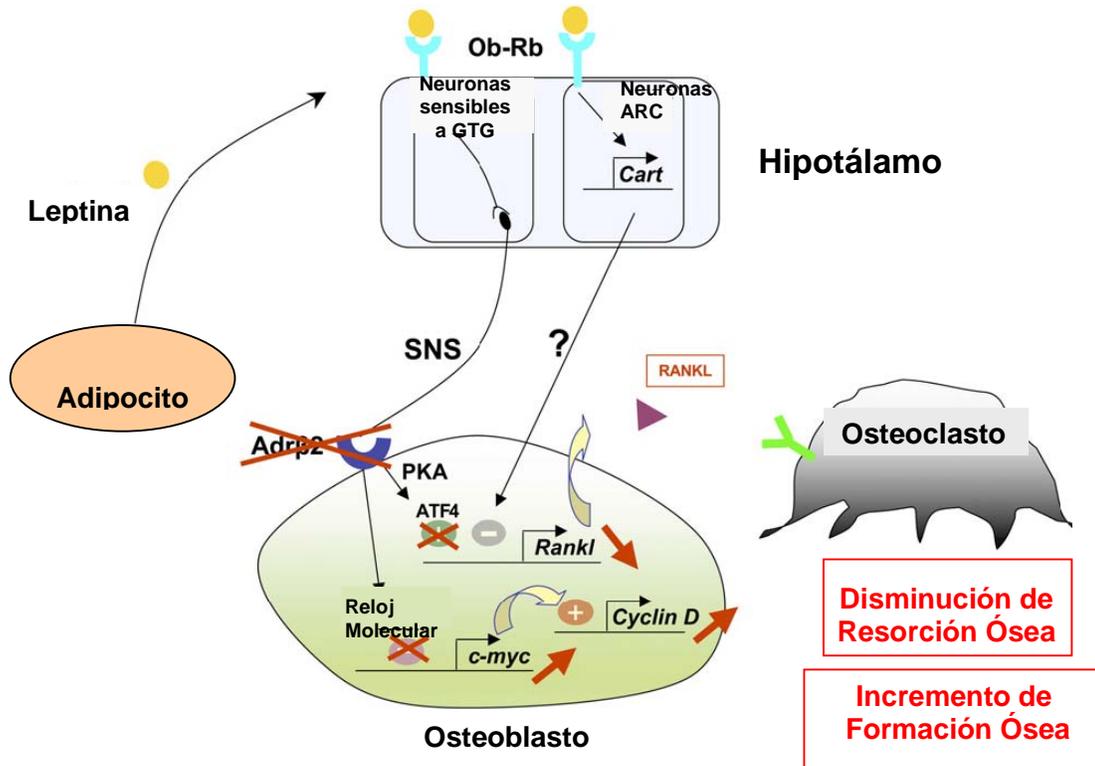


Figura 7. Representación esquemática de las modificaciones causadas por la activación de β_2 Adrenérgica sobre la regulación de la masa ósea dependiente de leptina. Tomado de Karsenty, 2006.⁴⁵

La ausencia de *Cart* lleva a una disminución en la masa ósea porque incrementa la actividad en osteoclastos aislados seguida de una sobre-expresión de *Rankl* por los osteoblastos.⁴⁵

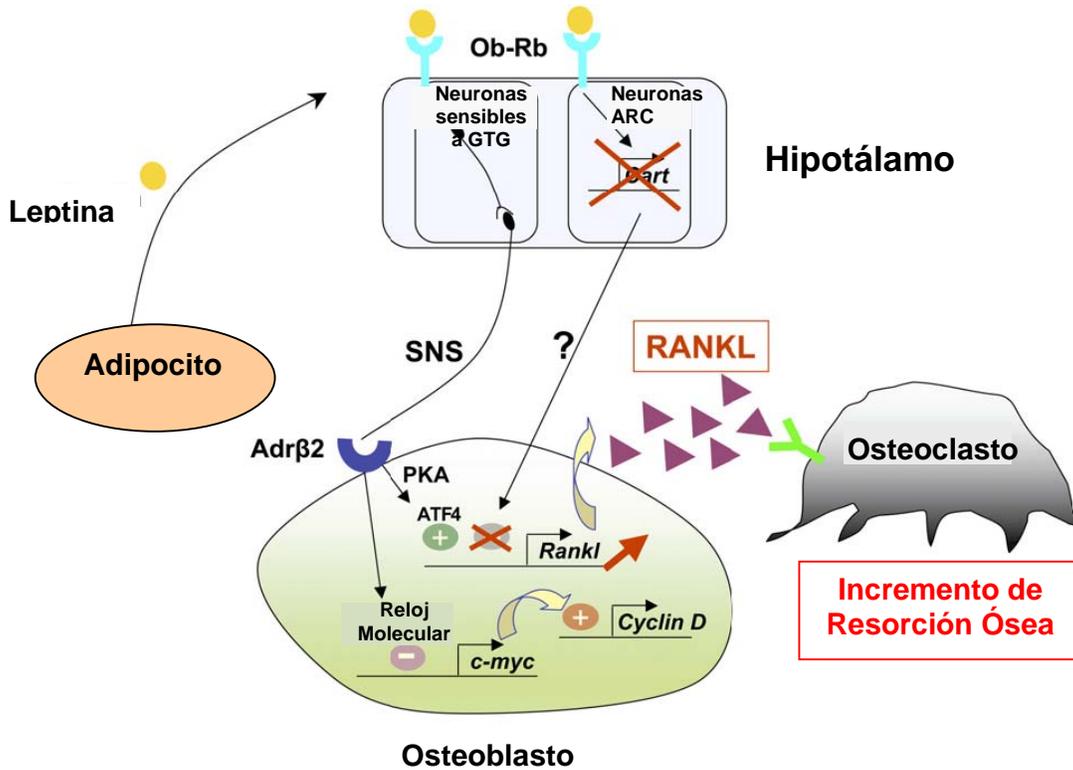


Figura 8. Representación esquemática de las modificaciones causadas por la inactivación de *Cart* sobre la regulación de la masa ósea dependiente de leptina. Tomado de Karsenty, 2006.⁴⁵

De ahí la importancia de determinar la relación entre la leptina con la densidad mineral ósea, ya que se ha observado que ésta puede tener los dos efectos tanto el de resorción que conlleva a una disminución de la densidad mineral ósea y el de formación que aumenta la actividad osteoblástica favoreciendo un incremento en la masa ósea, pero aún no se sabe del todo la relación exacta entre ambas.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La osteoporosis es una enfermedad crónico-degenerativa, caracterizada por fragilidad y disminución de la densidad mineral ósea que trae consigo problemas severos, principalmente fracturas de cadera y columna. Son diversos los factores que participan en la disminución de la misma, entre ellos un desequilibrio en el metabolismo óseo, que incluye principalmente la falta de secreción de hormonas, deficiencia en vitamina D, calcio y fósforo, entre otros. En este sentido, es importante evaluar los niveles de cada uno de los parámetros en el estudio, comenzando con los marcadores de remodelación ósea como son la fosfatasa alcalina y osteocalcina, además de fósforo y calcio, ya que son los elementos que conforman la matriz ósea y permiten saber el estado en que se encuentra el hueso, en combinación con la medición de la densitometría central de columna y el IMC, los cuales son importantes en la fisiopatología de la osteoporosis. Por otro lado, en cuanto a la leptina, actualmente se le ha relacionado de forma importante con la densidad mineral ósea, ya que hay reportes en los que se le ha asociado con la disminución de la densidad mineral ósea y proponiéndosele como un factor inhibidor del hueso a nivel del Sistema Nervioso Simpático. Sin embargo, en otros estudios recientes reportan que la leptina administrada de forma sistémica da como resultado un incremento en el crecimiento del hueso, un incremento en la masa esquelética así como un incremento en la dureza ósea. Aunque también se plantea que la leptina puede ejercer los dos efectos tanto el de formación así como el de resorción a través de vías diferentes de señalización sobre las células óseas, dependiendo de la forma mediante la cual actúe la leptina a nivel de SNS.

Como se puede observar la información científica sobre la temática no es del todo consistente, de ahí que nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la relación de la Densidad Mineral Ósea con los niveles séricos de leptina en adultos mayores de 50 años con osteoporosis?

V. HIPÓTESIS

De acuerdo con la información teórica disponible respecto al efecto osteogénico de la leptina, suponemos que las personas con osteoporosis mostrarán niveles séricos de leptina significativamente más bajos en comparación con los sanos.

VI. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar la relación de la densidad mineral ósea con los niveles séricos de leptina en una población de personas mayores de 50 años sanos y con osteoporosis.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ◆ Evaluar la relación de la densidad mineral ósea con el IMC en la población de estudio.
- ◆ Evaluar el grado de asociación de la densidad mineral ósea con los niveles séricos de leptina.
- ◆ Determinar el grado de asociación de la densidad mineral ósea con la concentración de calcio, fósforo, proteína C reactiva, fosfatasa alcalina y osteocalcina.
- ◆ Determinar la relación la densidad mineral ósea con el colesterol, triglicéridos y HDL.

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

1. TIPO DE ESTUDIO

Se llevó a cabo un estudio de tipo observacional, prolectivo, transversal y comparativo.

2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

El estudio se llevó a cabo en una muestra por cuotas de 118 personas mayores de 50 años, ambos sexos, estudiados durante el año 2006.

3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Criterios de inclusión:

- Mayores de 50 años sin importar sexo.

Criterios de exclusión:

- Padecimientos endócrinos
- Ingesta de corticosteroides

4. VARIABLES

Variables independientes

- Concentración de leptina.
- Índice de Masa Corporal (IMC)
- Perfil lipídico (colesterol, HDL y triglicéridos)
- Sexo
- Edad

Variable dependiente

- Osteoporosis (Densidad Mineral Ósea central)

Variables intervinientes

- Fósforo, calcio y proteína C reactiva
- Marcadores de remodelación ósea (fosfatasa alcalina específica de hueso y osteocalcina).

4.1 Operacionalización de variables

Variables	Definición	Nivel de medición	Categoría
Leptina	Hormona de naturaleza proteica sintetizada en adipocitos, conocida como la hormona de la saciedad y control del gasto energético.	Cuantitativa continua	(ng/mL) Mujeres: (9.8-20.3) Hombres: (1.7-3.6)
Colesterol	Principal esteroide del organismo humano y precursor de todos los demás esteroides.	Cuantitativa continua	(mg/dL) Normal: <200 Alto: ≥ 240
HDL	Lipoproteína de alta densidad basada en su movimiento relativo bajo la influencia de la fuerza centrífuga.	Cuantitativa continua	(mg/dL) Sin riesgo Hombres: >55 Mujeres: >65 Riesgo alto Hombres: <35 Mujeres: <45
Triglicéridos	Son verdaderas grasas, importantes en el estudio de trastornos que implican el metabolismo graso.	Cuantitativa continua	(mg/dL) Normal: 150 Alto: 200
Fósforo	Mineral esencial que interviene en la formación y el mantenimiento de los huesos, metabolismo celular, etc.	Cuantitativa continua	(mg/dL) Valores normales 2.68 - 4.5
Calcio	Mineral esencial para la preservación del esqueleto humano.	Cuantitativa continua	(mg/dL) Valores normales 8.10 - 10.4
Fosfatasa alcalina	Glucoproteína tetrámera que se encuentra en la superficie celular de los osteoblastos.	Cuantitativa continua	(U/L) Mujeres ≥45 años (14.2-42.7) Hombres ≥25 años (15.0-41.3)

Osteocalcina	Proteína sintetizada por osteoblastos maduros, considerada como un marcador de la actividad osteoblástica.	Cuantitativa continua	(ng/mL) Adultos ≥ 25 años (3.7-10)
PCR	Glicoproteína anormal producida en el hígado en respuesta a la inflamación.	Cualitativa nominal	Positivo Negativo
IMC	Medida antropométrica que se obtiene a través de la razón peso dividido entre la estatura al cuadrado.	Cuantitativa continua	(Kg/m ²) Mujeres: 28 \pm 4 Hombres: 26 \pm 3
Densitometría	Método que permite diagnosticar o confirmar la osteoporosis en pacientes sin fracturas.	Cualitativa nominal	(T-score) Sanos: > -1 Osteoporosis: < -2.5
Edad	Edad que refiere el sujeto en el momento del estudio.	Cuantitativa continua	Años cumplidos
Sexo	Diferencia física y de conducta que distingue a los organismos individuales.	Cualitativa nominal	Hombre Mujer

5. MATERIALES

Material	Equipo	Instrumentos
Placas de porcelana para PCR	Baño María (RIOSSA)	Centrifuga 5804 Eppendorf®
Puntas amarillas (100µL)	Pipetas mecánicas: 0.5-10µL, 5-40µL, 10-100µL, 20-200µL, 1000µL	Centrifuga DYNAC®
Puntas azules (1000µL)		Lector de ELISA Biorad microplate reader Benchmark ®
Gradillas metálicas/plástico	Vórtex	Balanza analítica OHAUS®
Tubos de ensaye (5mL)		Espectrofotómetro UV/Visible SHIMADZU®
Tubos para microcentrífuga (1.7mL)		Espectrofotómetro Vitalab-Eclipse MERCK®
Pipetas graduadas (5 y 10mL)		Micropipeta automática de 300µL Thermo Labsystems®
Vasos de precipitados (1000mL)		Centrifuga 5415C Eppendorf®
Probetas (100 y 500mL)		Densitómetro Hologic Modelo QDR4000®
Agujas estériles para toma múltiple 21Gx38mm (0.8x38mm) VACUTAINER		Contador gamma Cobra II Auto-Gamma, Packard Canberra Company®
Equipo de adaptación al vacío para extracción de sangre 23G 3/4" (0.6X19mmX178mm) VACUTAINER		
Adaptador VACUTAINER		
Tubos para toma de muestra al vacío VACUTAINER con K ₃ EDTA 4mL (tapón morado)		
Tubos para toma de muestra al vacío VACUTAINER con Heparina sódica 6mL (tapón verde)		
Tubos para toma de muestra al vacío VACUTAINER para químicas sanguíneas con gel separador 8.5mL (tapón rojo/gris)		
Tubos de vidrio de borosilicato 12x75 mm		
Tubos de vidrio de polipropileno 12x75 mm		

Material biológico	Reactivos (estuches)
Plasma sanguíneo	Estuche para la determinación de Leptina (Método Inmunoradiométrico, RIA) (Human Leptin RIA Kit, Cat. # HL-81K)®.
Suero sanguíneo	
Orina	Estuche para la determinación de Proteína C Reactiva, kit (Randox Laboratorios Ltd, UK, CP2488)®.
	Estuche para la determinación de Colesterol (método enzimático de punto final), kit CHOD-PAP (Randox Laboratorios Ltd; UK, CH 201)®.
	Estuche para la determinación de Triglicéridos, kit Randox GPO-PAP (Randox Laboratorios Ltd; UK, TR212)®.
	Estuche para la determinación de HDL-colesterol, reactivo precipitante HDL- colesterol catálogo Ch204 (paquete suplementario para colesterol CHOD-PAP) (Randox Laboratorios Ltd; UK)®.
	Estuche para la determinación de Fósforo inorgánico, kit Randox (Randox Laboratorios Ltd; UK, PH1016)®.
	Estuche para la determinación de Calcio, kit Randox (Randox Laboratorios Ltd; UK, CA590)®.
	Estuche para la determinación de Fosfatasa alcalina específica de hueso, kit Metra BAP EIA®.
	Estuche para la determinación de Osteocalcina, kit Metra Osteocalcin EIA®.

6. TÉCNICAS

A la población en estudio se le realizó la determinación de la densidad mineral ósea (densitometría central de columna) y se tomaron muestras sanguíneas en tubos al vacío con y sin anticoagulante para realizar la cuantificación de los niveles séricos de leptina mediante el método de Radio Inmuno Ensayo (RIA), además del perfil lipídico (colesterol, triglicéridos y HDL) así como fósforo, calcio, proteína C reactiva y los marcadores de remodelación ósea: osteocalcina y fosfatasa alcalina, empleando el método de Ensayo Inmuno Enzimático (ELISA).

Densitometría central

La densitometría central se midió en la región de la columna con un densitómetro Hologic Modelo QDR4000, tomando como criterio de osteoporosis un valor por debajo de -2.5 desviaciones estándar, en la escala de T-score, de los parámetros obtenidos para adultos jóvenes. La técnica para evaluar la densitometría se ajustó a lo establecido por el fabricante y la medición la llevó a cabo un técnico capacitado de una empresa privada reconocida. Los resultados se reportaron en T-score y g/cm^2 .

Técnicas bioquímicas

Se les tomaron muestras sanguíneas a la población en estudio, en tubos al vacío entre las 8-9 de la mañana con ayuno mínimo de ocho horas. Sin anticoagulante para las determinaciones bioquímicas: (leptina, perfil lipídico, PCR, calcio, y fósforo. Así como los marcadores de remodelación ósea: osteocalcina y fosfatasa alcalina.

Para la determinación de los parámetros bioquímicos se centrifugaron las muestras a 3500 rpm durante 10 minutos y se separó el suero en microtubos para cada prueba.

Proteína C Reactiva (PCR)

Se utilizó el estuche comercial de (Randox Laboratorios Ltd, UK, CP2488). ®

El reactivo PCR contiene partículas de látex recubiertas con anticuerpos que reconocen la PCR humana. Cuando el reactivo se mezcla con suero que contiene PCR a un nivel mayor de 6 mg/L, las partículas se aglutinan. Esto se interpreta como prueba positiva. El reactivo puede ser utilizado también en la semicuantificación de PCR. Para este fin, la muestra se somete a diluciones seriadas y cada una se analiza cualitativamente. El nivel de PCR puede estimarse a partir de la última dilución con aglutinación visible.

Procedimiento:

1. Colocar una gota de látex (50 μ L) sobre una placa oscura, y a un lado colocar 50 μ L de la muestra y mezclar en forma circular.
2. Leer si hay o no aglutinación la cual debería ocurrir en 2 minutos.
3. En caso de que sea positivo con una aglutinación marcada indica una concentración de PCR superior a 6 mg/L, se realizan diluciones, (1+1, 1+2,...,1+n), con amortiguador, hasta que no haya más aglutinación.

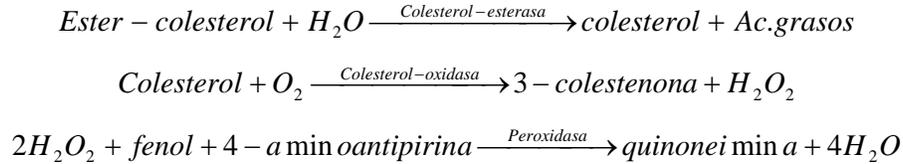
Reportar en múltiplos de 6 mg/L. Se considera valores altos los superiores a 6 mg/L.

Perfil lipídico

Colesterol Total (Método Enzimático de punto final)

Se empleó el estuche comercial de Randox CHOD-PAP (Randox Laboratorios Ltd; UK, CH 201)®

El colesterol se determina colorimétricamente después de hidrólisis enzimática y oxidación. El indicador quinoneimina es formado del peróxido de hidrógeno con el 4-aminoantipirina en presencia de fenol y peroxidasa.



Procedimiento:

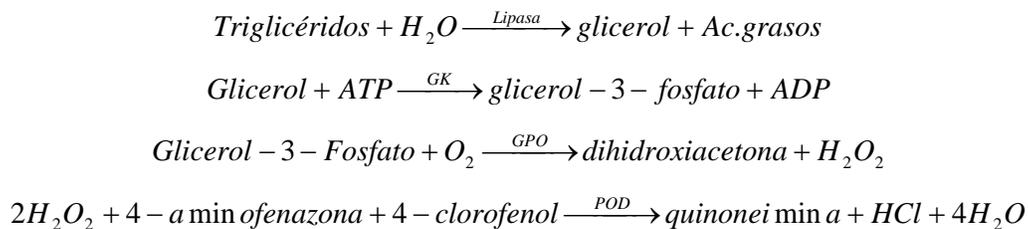
El blanco, patrón y muestra se agitan e incuban con el reactivo de color 10 minutos de 20 a 25 °C o 5 minutos a 37 °C, y se mide la absorbancia a 546 nm antes de 60 minutos.

La concentración de colesterol en la muestra es: $\frac{\Delta A_{\text{Muestra}}}{\Delta A_{\text{Patron}}} \times \text{Conc. Es tan dar}$

Triglicéridos (Método colorimétrico)

Se empleó el estuche comercial Randox GPO-PAP (Randox Laboratorios Ltd; UK, TR212)®

Los triglicéridos se determinan a partir de la hidrólisis enzimática con lipasas. El indicador es una quinoneimina formada por peróxido de hidrógeno, 4-aminofenazona y 4-clorofenol, bajo la influencia catalítica de peroxidasa.



Procedimiento:

El blanco, patrón y muestra se agitan e incuban con el reactivo de color de 10 a 15 minutos a 20-25 °C o 5 minutos a 37 °C, y se mide la absorbancia a 500 nm antes de 60 minutos.

Concentración de Triglicéridos: $\frac{A_{Muestra}}{A_{Patrón}} \times 200 = mg / dL$

HDL-Colesterol

Se utilizó el estuche comercial Randoxp, paquete suplementario para colesterol CHOD-PAP, (Randox Laboratorios Ltd; UK)®

La determinación se fundamenta en que las lipoproteínas de baja densidad (LDL), muy baja densidad (VLDL) y las fracciones de quilomicrones precipitan cuantitativamente al añadir ácido fosfotúngstico en presencia de Mg^{2+} .

Procedimiento:

Después de centrifugar tomar el sobrenadante y de éste determinar la fracción de HDL posteriormente por el método enzimático de punto final para colesterol total.

Concentración de HDL-Colesterol (mg/dL): $\frac{A_{Muestra}}{A_{Patron}} \times Conc.patron$

Fósforo

Fósforo inorgánico (Método Fosfomolibdato)

Se empleó el estuche comercial Randox, (Randox Laboratorios Ltd; UK, PH1016)®

El fósforo inorgánico reacciona con molibdato amónico en presencia de ácido sulfúrico para formar un complejo fosfomolibdato que se mide a 340 nm.

Procedimiento:

1. Emplear una muestra de suero o plasma (con EDTA o fluoruro) u orina.
2. Mezclar e incubar durante 10 min a 20-25 °C o 5 min a 37 °C.
3. Leer la absorbancia de la muestra y el patrón frente al reactivo.

Calcio

Calcio (Método Orto Cresoftaleína)

Se empleó el estuche comercial Randox, (Randox Laboratorios Ltd; UK, CA590)®

Es un método colorimétrico con O-cresoftaleína sin desproteinización. Los iones calcio forman un complejo violeta con la o- cresoftaleína complexota en medio alcalino.

Procedimiento:

1. Emplear una muestra de suero, plasma heparinizado u orina.
2. Mezclar y leer la absorbancia de la muestra y del patrón frente al reactivo blanco al cabo de 5 a 50 minutos.

Marcadores de remodelación ósea

Fosfatasa alcalina específica de hueso (BAP)

Se empleó un estuche comercial Metra BAP (EIA)®

El inmuno ensayo Metra BAP proporciona una medición cuantitativa de la actividad de la fosfatasa alcalina específica de los huesos (BAP) en el suero como indicador de la actividad osteoblástica. La medición de la BAP está concebida para su uso como ayuda en:

- ✓ El tratamiento de la osteoporosis posmenopáusica y de la enfermedad de Paget.
- ✓ El control de mujeres posmenopáusicas en tratamiento hormonal o con bifosfonatos.
- ✓ La predicción de la respuesta esquelética a la terapia hormonal en mujeres posmenopáusicas

Metra BAP es un inmunoanálisis en formato de tira de microtitulación en el que se utiliza un anticuerpo monoclonal anti-BAP recubierto en la tira para capturar la BAP de la muestra. La actividad enzimática de la BAP capturada se detecta con el sustrato de p-Nitrofenilfosfato (pNPP).

Procedimiento:

Incubación de las muestras

1. Extraer la estructura de pocillos de tiras y el número necesario de tiras recubiertas de la bolsa antes de usarlos.
2. Introducir el número deseado de tiras recubiertas en la estructura de pocillos en tiras. Etiquetar las tiras para evitar la mezcla en caso de extracción accidental de la estructura de pocillos.
3. Añadir 125 μ L de amortiguador de análisis a cada pocillo.
4. Añadir 20 μ L de patrón, control o muestra a cada pocillo. No mezclar con el amortiguador de análisis volviendo a pipetear. Este paso debe completarse en 30 minutos. Remover suavemente las tiras para garantizar la mezcla de la muestra y el amortiguador.
5. Incubar durante 3 horas (\pm 10 minutos) a 20-28 °C.
6. Preparar la solución de sustrato de trabajo como máximo 1 hora antes de su uso. Introducir una pastilla de sustrato en cada frasco necesario de amortiguador de sustrato a 20-28 °C. Dejar disolver las pastillas durante 30 y 60 minutos. Agitar vigorosamente las botellas para mezclar completamente.

Paso de lavado

7. Preparar la cantidad necesaria de amortiguador de lavado 1X diluyendo del amortiguador de lavado 10X con agua desionizada en una proporción 1:10, guardarlo a 20-28 °C.
8. Invertir/vaciar manualmente las tiras. Añadir como mínimo 250 μ L de amortiguador de lavado 1X a cada pocillo e invertir manualmente las tiras. Repetir tres veces más hasta un total de cuatro lavados. Secar vigorosamente las tiras sobre toallitas de papel después del último lavado.

Incubación del sustrato

9. Añadir 150 µL de solución sustrato de trabajo a cada pocillo.
10. Incubar durante 30 minutos (\pm 5 minutos) a 20-28 °C.

Detención de la reacción/lectura

11. Añadir 100 µL de solución de NaOH 0.5N para detener la reacción a cada pocillo. Añadir solución de NaOH 0.5N de la misma forma y en los mismos intervalos de tiempo que en el caso de la solución de sustrato.
12. Leer la densidad óptica a 405 nm en un lector de ELISA. Asegurarse de que no haya burbujas grandes en los pocillos y que el fondo de las tiras esté limpio. Las tiras deben leerse en los 15 minutos siguientes a la adición de la solución de NaOH 0.5N.
13. Debe utilizarse software de cuantificación con una ecuación de ajuste de curva de calibración cuadrática para analizar los resultados del análisis.

$$\text{Ecuación: } y = A + Bx + Cx^2$$

Los resultados de las muestras se expresan como U/L y no tienen que corregirse por dilución. En el análisis Metra BAP, 1 unidad representa 1 µmol de pNPP hidrolizado por minuto a 25 °C en amortiguador 2-amino-2-metil-1-propanol.

Osteocalcina

Se empleó un estuche comercial Metra Osteocalcin (EIA)®

El ensayo de inmunoensayo Metra Osteocalcin, mide cuantitativamente la osteocalcina intacta (*de novo*) en suero. La osteocalcina intacta puede resultar útil como indicador bioquímico de la renovación de las células óseas.

El ensayo Metra Osteocalcin es un ensayo competitivo. Utiliza tiras recubiertas con osteocalcina, un anticuerpo anti-osteocalcina de ratón, un conjugado de IgG-fosfatasa alcalina anti-ratón y un sustrato pNPP para cuantificar la osteocalcina en suero.

Procedimiento:

Incubación de la muestra/anti-osteocalcina

1. Preparar la cantidad necesaria de amortiguador de lavado 1X del amortiguador de lavado 10X con agua desionizada en una proporción de 1:10.
2. Dentro de una hora de su uso, reconstituir los patrones y controles con 0.5 mL de amortiguador de lavado 1X, esperar al menos 15 minutos para que la pastilla se disuelva completamente. Los patrones y controles reconstituidos no deben permanecer a 20-25 °C por más de 2 horas.
3. Retirar la estructura de tiras de pocillos y el número necesario de tiras recubiertas de la bolsa.
4. Introducir el número deseado tiras recubiertas en la estructura de tiras de pocillos. Etiquetar las tiras para evitar confusiones en caso de retirarlas accidentalmente de la estructura.
5. Añadir 25 µL de control, patrón o muestra a cada pocillo de las tiras recubiertas. Este paso debe completarse en 30 minutos como máximo.
6. Añadir 125 µL de anti-osteocalcina a cada pocillo e incubar durante 2 horas (\pm 10 minutos) a 20-25 °C.
7. Mientras se incuba, preparar el conjugado enzimático. Reconstituir cada vial necesario de conjugado enzimático con 10 mL de amortiguador de lavado 1X. Dejar que la pastilla se disuelva completamente. Utilizar dentro de las 2 horas.

Paso de lavado 1

8. Invertir/vaciar manualmente las tiras. Añadir como mínimo 300 µL de amortiguador de lavado 1X a cada pocillo e invertir manualmente las tiras. Repetir dos veces más hasta un total de tres lavados. Secar vigorosamente las tiras sobre toallitas de papel después del último lavado.

Incubación del conjugado enzimático

9. Añadir 150 µL de conjugado enzimático reconstituido a cada pocillo
10. Incubar durante 60 minutos (\pm 5 minutos) a 20-25 °C.
11. Mientras se incuba, preparar la solución de sustrato de trabajo. Introducir una pastilla de sustrato en cada frasco necesario de amortiguador de sustrato. Dejar disolver las pastillas durante 30-60 minutos. Agitar vigorosamente los frascos para mezclas completamente. Utilizar dentro de 1 hora de su preparación.

Paso de lavado 2

12. Invertir manualmente las tiras. Añadir como mínimo 300 µL de amortiguador de lavado 1X a cada pocillo e invierta manualmente las tiras. Repetir dos veces más hasta un total de tres lavados. Secar vigorosamente las tiras sobre toallitas de papel después del último lavado.

Incubación del sustrato

13. Añadir 150 µL de solución de sustrato de trabajo a cada pocillo.
14. Incubar durante 35-45 minutos a 20-25 °C.

Detención de la reacción/lectura

15. Añadir 50 µL de solución de NaOH 0.5N a cada pocillo para detener la reacción.
16. Leer la densidad óptica a 405 nm en un lector de ELISA. Asegurarse de que no haya burbujas grandes en los pocillos y que el fondo de las tiras esté limpio. Las tiras deben leerse dentro de los 15 minutos de incorporada la solución de NaOH 0.5N.
17. Utilizar software de cuantificación con una ecuación de ajuste de curva de calibrado de 4 parámetros para analizar los resultados del ensayo.

$$\text{Ecuación: } y = (A - D) / (1 + (x / C)^B) + D$$

18. Determinar la concentración de las muestras y los controles a partir de la curva estándar.
19. Los valores de control deberán estar dentro del intervalo especificado en el certificado de análisis suministrado con el estuche.

Los resultados de las muestras se expresan como ng/mL y no es necesario corregirlos por dilución.

Leptina (RIA)

Se empleó el estuche comercial (Human Leptin RIA Kit, Cat. # HL-81K)®

En un radioinmunoensayo, una concentración fija de antígeno marcado es incubado con una dilución constante de antisuero de tal modo que la concentración de los sitios de unión del antígeno sobre el anticuerpo es limitado, por ejemplo, únicamente el 50% de la concentración total de la marca puede ser unido por el anticuerpo. Si el antígeno no marcado es adicionado a este sistema, hay competición entre el antígeno marcado y el no marcado por el número limitado y constante de sitios de unión del anticuerpo. Así, la cantidad de marca unida al anticuerpo irá disminuyendo conforme la concentración del antígeno no marcado incrementa. Esto puede ser medido después de separar el anticuerpo marcado del libre y cuantificando una fracción o la otra, o ambas. Una calibración o curva estándar es un sistema con concentraciones crecientes del antígeno estándar no marcado y de esta curva la cantidad de antígeno en muestras desconocidas puede ser calculado. De esta forma, las cuatro necesidades básicas para el sistema de radioinmunoensayo son: un antisuero específico para el antígeno a ser medido, la disponibilidad de una forma marcada radioactiva del antígeno, un método por el cual el anticuerpo se una a la marca y finalmente un instrumento para cuantificar radioactividad.

El ensayo de leptina humana Millipore utiliza leptina humana marcada con I^{125} y un antisuero de leptina humana para determinar el nivel de leptina en suero, plasma o cultivo de tejido, por la técnica de doble anticuerpo.

Procedimiento:

Día Uno

1. Etiquetar dos tubos comunes (sin anticuerpo) para las cuentas totales (1-2). Se marcan y ordenan por duplicado los tubos para unión no específica, referencia, estándares y controles.

2. Pipetear 300 μL del amortiguador de ensayo a los tubos de unión no específica (3-4), 200 μL a los tubos de referencia (5-6) y 100 μL al resto de los tubos del ensayo (7,...n).
3. Pipetear 100 μL de estándares y controles por duplicado en el fondo de los tubos.
4. Pipetear 100 μL de cada muestra en los tubos.
5. Pipetear 100 μL de leptina humana marcada con I^{125} a todos los tubos.
6. Pipetear 100 μL del anticuerpo de leptina humana a todos los tubos, excepto a los tubos de cuentas totales (1-2) y tubos de unión no específica (3-4).
7. Agitar cuidadosamente por espacio de 1 a 2 segundos en vórtex, cubrir e incubar toda la noche (20-24 horas) a 4°C .

Día dos

8. Adicionar 1.0 mL de agente precipitante frío (4°C) a todos los tubos, excepto a los tubos de cuentas totales.
9. Agitar cuidadosamente en vórtex e incubar 20 minutos a 4°C .
10. Centrifugar, a 4°C , todos los tubos, excepto los de cuentas totales (1-2), por 20 minutos a 2000-3000 xg.
11. Inmediatamente decantar el sobrenadante de todos los tubos, excepto los tubos de cuentas totales (1-2), por inversión simultánea en un recipiente para desechos radiactivos, se escurren perfectamente sobre material absorbente para facilitar un perfecto vaciado y posteriormente se dejan sobre material absorbente de 15 a 60 segundos. Invertir los tubos únicamente una vez, los botones son frágiles y puede ocurrir un desprendimiento.
12. Colocar todos los tubos en un contador gamma (Cobra II Auto-Gamma, Packard Canberra Company) para su lectura durante un minuto. Calcular los ng/mL de leptina humana en las muestras desconocidas usando un procedimiento automatizado de reducción de datos. O de forma manual.

Los niveles de leptina están directamente correlacionados con el grado de adiposidad:

Calcular el promedio de los duplicados de las cuentas totales por minuto (tubos 1-2), de los tubos de unión no específica (3-4), los tubos de referencia (5-6) y todos los tubos de los estándares y muestras del ensayo.

Al sustraer el promedio de cuentas de la unión no específica, de cada promedio contado (excepto para las cuentas totales. Esas cuentas son usadas para los siguientes cálculos:

Calcular el porcentaje de la unión de la marca:

$(\text{Cuentas de Unión Totales} / \text{Cuentas Totales}) \times 100$, esta puede ser de 35-50%

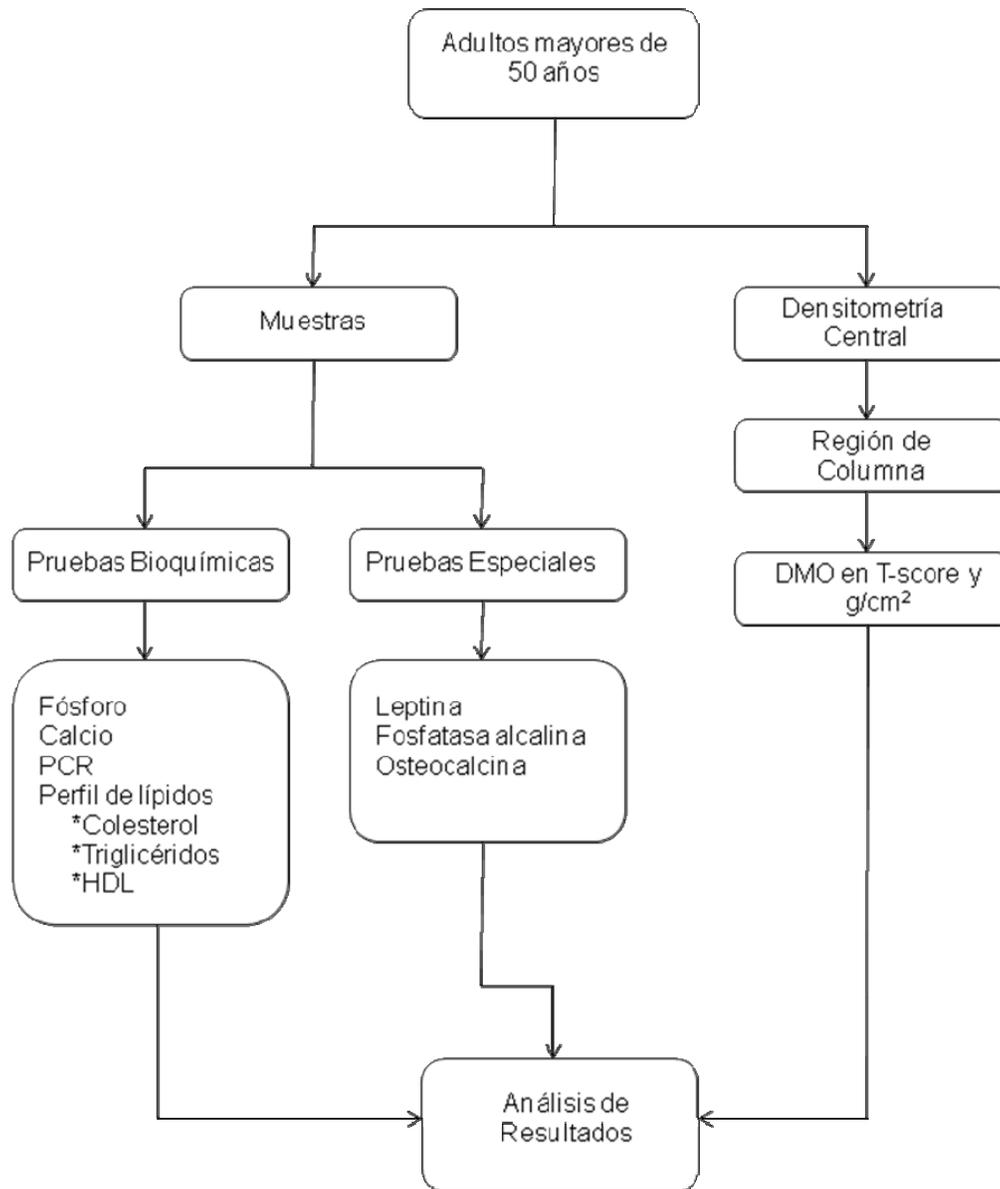
Calcular el porcentaje de unión total ($\% \text{Unión total} / \text{Referencia}$) para cada estándar y muestra como sigue:

$(\% \text{Unión total} / \text{Referencia}) = (\text{Muestra o Estándar} / \text{Unión Total}) \times 100$

Construir una curva del % de las Cuentas Totales por Minuto para cada estándar en (eje Y) contra la concentración conocida de leptina (eje X) en una gráfica log-log. En base a las Cuentas Totales por Minuto de muestras y controles se determina la concentración de leptina a partir de la curva construida por interpolación.

Se considera hiperleptinemia en los hombres cuando éstos presentan valores $> 3.6 \text{ ng/mL}$ y en las mujeres $> 20.3 \text{ ng/mL}$.

VIII. DIAGRAMA DE FLUJO



IX. DISEÑO ESTADÍSTICO

Los datos se analizaron utilizando medidas descriptivas, promedio y desviación estándar (DE). Se realizó la prueba *t* de Student como prueba de comparación con un nivel de confianza de 95%, regresión lineal múltiple y estratificada, y análisis de frecuencias y porcentajes con cálculo de χ^2 .

El análisis se realizó con ayuda del programa estadístico *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versión 15.0.

X. RESULTADOS

Se detectó una prevalencia de osteoporosis del 74%, utilizando como parámetro la medición de la densidad mineral ósea de columna: 1) 31 sanos (68.1 ± 8.9 años) y 2) 87 con osteoporosis (68.6 ± 7.4 años) respectivamente.

Por otro lado, se encontró niveles significativamente más altos ($p < 0.05$) en el grupo de sujetos con osteoporosis en la fosfatasa alcalina, osteocalcina, PCR, Colesterol y HDL (Cuadro 1). Así mismo se muestran de forma gráfica tanto los porcentajes de la actividad de fosfatasa alcalina y de osteocalcina en función de sus valores de corte, en normal y elevada de acuerdo al diagnóstico, (Figura 9 y 10).

Posteriormente, ambos grupos, se estratificaron por género conformándose cuatro grupos: 1) 18 hombres sanos (71.2 ± 7.5 años), 2) 8 hombres con osteoporosis (69.6 ± 6.9 años), 3) 13 mujeres sanas (63.7 ± 9.2 años) y 4) 79 mujeres con osteoporosis (68.4 ± 7.5 años), (Cuadro 2, Figura 11); observando que los niveles de leptina son menores en el grupo de mujeres con osteoporosis, en cambio en el grupo de los hombres estos niveles se encuentran aumentados, aunque no son estadísticamente significativos para ambos casos, (Figura 12). Con respecto a los marcadores de remodelado óseo, sólo la fosfatasa alcalina mostró un nivel significativamente más elevado en el grupo de mujeres con osteoporosis ($p < 0.01$), sin embargo con relación a la osteocalcina sus niveles no fueron estadísticamente significativos entre los grupos. En cuanto al fósforo y calcio, sólo el fósforo mostró ser significativamente menor en el grupo de hombres con osteoporosis ($p < 0.01$). Y con respecto al IMC, éste fue significativamente menor en las mujeres con osteoporosis ($p < 0.05$).

Por otra parte a través del análisis de regresión lineal múltiple se estimó el grado de asociación y dependencia de los niveles de leptina así como las demás variables, con la densidad mineral ósea. Encontrando lo siguiente: en primer lugar se observó una asociación estadísticamente significativa entre la densidad mineral ósea con la leptina ($r = 0.177$, $p < 0.05$), con la fosfatasa

alcalina ($r = -0.180$, $p < 0.05$), con la edad ($r = -0.399$, $p < 0.0001$) y con el IMC ($r = 0.201$, $p < 0.05$), con los TG ($r = 0.195$, $p < 0.05$) y con el HDL ($r = -0.176$, $p < 0.05$). Asimismo, la leptina se asoció tanto con la edad ($r = -0.246$, $p < 0.01$) así como con el IMC ($r = 0.646$, $p < 0.0001$), (Cuadro 3).

De la misma forma, tanto la leptina así como las demás variables se estratificaron con la edad en función de la DMO en tres grupos: 1) 50-59 años, 2) 60-69 años y 3) >70 años y con el género en dos grupos: 1) Hombres y 2) Mujeres, también con respecto a la densidad mineral ósea. Obteniendo lo siguiente: el IMC resultó tener una asociación positiva con respecto a la densidad mineral ósea en las mujeres en todos los grupos de edad ($p < 0.05$), (Cuadro 4, 5, 6 y 11). En el caso de la fosfatasa alcalina se observó asociación negativa con la densidad mineral ósea en mujeres, en el grupo de 50-59 años y con las mayores de 70 años ($p < 0.01$), (Cuadro 7, 9 y 12).

Cuadro 1. Comparación de parámetros bioquímicos y antropométricos de los adultos >50 años con y sin osteoporosis.

Parámetro	Sanos (n=31)	Osteoporosis (n=87)
Edad (años)	68.10±8.94	68.60±7.43
IMC (kg/m ²)	27.66±3.52	26.54±3.41
Densitometría de columna (DE)	0.17±1.20	-3.50±0.70*
Densitometría de columna (g/cm ²)	1.08±0.15	0.66±0.08*
Colesterol (mg/dL)	191.86±24.48	209.90±38.33[‡]
Triglicéridos (mg/dL)	183.79±67.65	168.78±90.29
HDL (mg/dL)	51.28±9.61	56.87±11.33[‡]
Calcio (mg/dL)	9.17±3.17	8.94±0.95
Fósforo (mg/dL)	5.07±0.58	4.80±0.75
PCR (mg/dL)	0.96±3.74	8.14±26.10[‡]
Fosfatasa alcalina (U/L)	27.88±10.69	37.49±12.55[‡]
Osteocalcina (ng/mL)	10.57±3.49	13.04±4.65[‡]
Leptina (ng/mL)	10.32±14.85	11.36±12.17

Prueba t de Student, con un IC_{95%}. *p<0.0001, †p<0.001, ‡p<0.05

Los valores corresponden a la media ± desviación estándar.

IMC: Índice de Masa Corporal, HDL: Lipoproteínas de alta densidad, PCR: Proteína C Reactiva, DE: Desviaciones estándar.

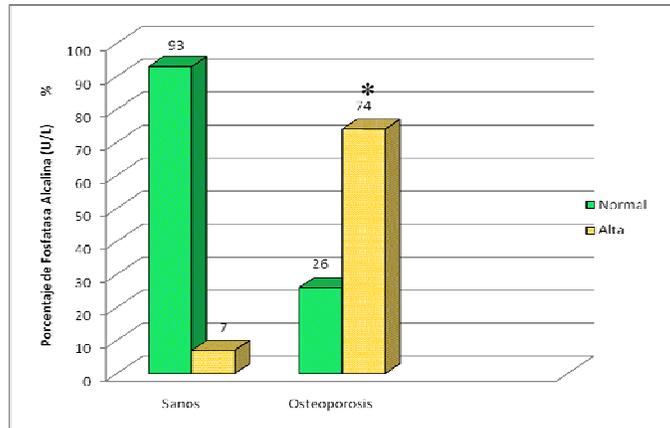


Figura 9. Porcentaje de sujetos con fosfatasa alcalina normal y elevada por diagnóstico. *Las barras muestran que los sujetos con osteoporosis son los que presentan la actividad más alta de fosfatasa alcalina, $p < 0.05$.

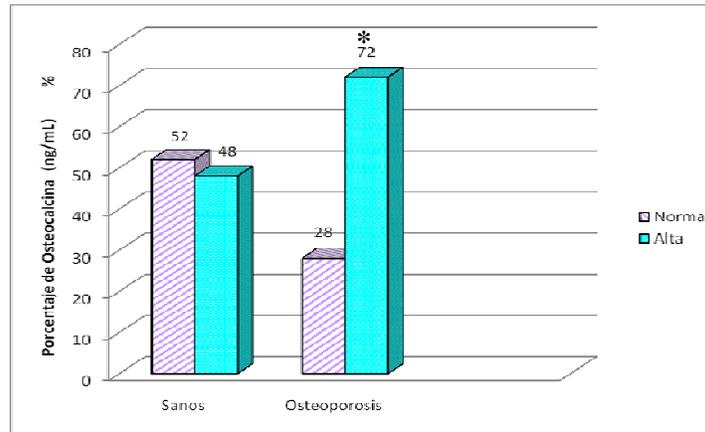


Figura 10. Porcentaje de sujetos con osteocalcina normal y elevada por diagnóstico. *La gráfica muestra que los sujetos con osteoporosis son los que contienen el nivel más alto de osteocalcina, $p < 0.05$.

Cuadro 2. Comparación de parámetros bioquímicos y antropométricos entre hombres y mujeres con y sin osteoporosis.

Parámetro	Hombres (n=26)		Mujeres (n=92)	
	Sanos (n=18)	Osteoporosis (n=8)	Sanos (n=13)	Osteoporosis (n=79)
Edad (años)	71.22±7.47	69.63±6.91	63.70±9.22	68.44±7.51[‡]
IMC (kg/m ²)	26.66±3.06	25.33±3.22	29.04±3.76	26.65±3.42[‡]
DM COL (DE)	0.39±1.38	-3.11±0.42*	-0.138±0.85	-3.54±0.71*
DM COL (g/cm ²)	1.14±0.16	0.74±0.06*	1.01±0.12	0.66±0.08*
Colesterol (mg/dL)	185.88±25.97	203.13±39.306	200.33±20.27	210.63±38.43
Triglicéridos (mg/dL)	160.18±40.88	137.50±64.06	217.25±84.47	172.12±92.35
HDL (mg/dL)	51.88±10.02	55.63±10.58	50.42±9.36	57.00±11.47
Calcio (mg/dL)	9.46±0.77	8.15±1.06	9.10±1.37	8.97±0.94
Fósforo (mg/dL)	5.20±0.10	3.95±0.21[†]	5.04±0.65	4.83±0.75
PCR (mg/dL)	000.000	7.71±20.41	2.00±5.32	8.18±26.76
F ALC (U/L)	28.01±12.67	26.73±7.99	27.75±8.59	38.53±12.46[†]
Osteocalcina (ng/mL)	10.39±3.48	12.82±4.22	10.766±3.64	13.06±4.72
Leptina (ng/mL)	3.12±1.94	9.85±12.21	18.64±18.76	11.51±12.24

Prueba t de Student, con un IC_{95%}. *p<0.0001, [†]p<0.01, [‡]p<0.05.

Los valores corresponden a la media ± desviación estándar.

DM COL: Densitometría de Columna, F ALC: Fosfatasa Alcalina

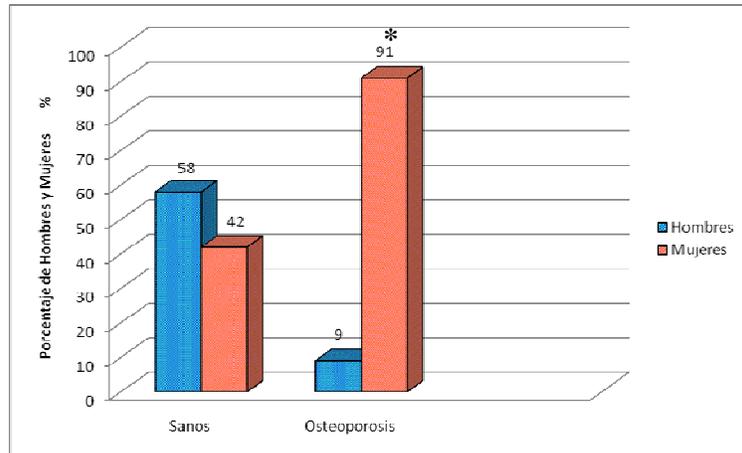


Figura 11. Porcentaje de hombres y mujeres con y sin osteoporosis. *La gráfica muestra un mayor porcentaje de mujeres con osteoporosis, $p < 0.0001$.

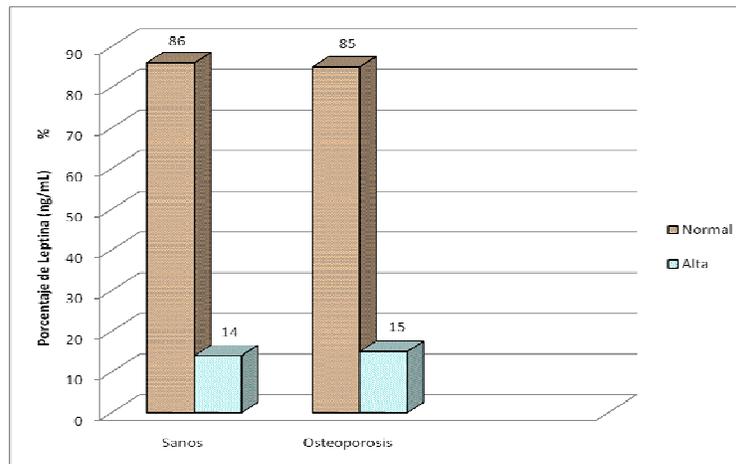


Figura 12. Porcentaje de sujetos con leptina normal y elevada por diagnóstico. La gráfica no muestra diferencia estadísticamente significativa en los niveles de leptina, tanto en sujetos sanos así como con osteoporosis.

Cuadro 3. Regresión lineal múltiple para la densitometría de columna en (g/cm²), con todas las variables de estudio.

	Parámetro	DCOL	EDAD	IMC	COL	TG	HDL	CAL	FOS	PCR	FAL	OST	LEP
Coeficiente de correlación lineal r	DCOL	1.000											
	EDAD	-0.399	1.000										
	IMC	0.201	-0.273	1.000									
	COL	0.016	-0.037	0.002	1.000								
	TG	0.195	-0.244	0.320	0.140	1.000							
	HDL	-0.176	0.276	-0.207	0.331	-0.296	1.000						
	CAL	-0.032	0.109	-0.135	0.058	-0.127	0.093	1.000					
	FOS	0.074	0.087	-0.133	-0.093	-0.098	-0.010	0.120	1.000				
	PCR	-0.149	0.036	0.054	-0.194	-0.068	0.007	0.093	0.041	1.000			
	FAL	-0.180	0.037	0.049	0.109	-0.147	0.075	0.054	0.051	-0.026	1.000		
	OST	-0.134	0.153	-0.073	0.204	-0.203	0.113	0.203	0.111	0.106	0.456	1.000	
	LEP	0.177	-0.246	0.646	0.073	0.119	-0.025	-0.021	-0.078	-0.026	0.090	-0.022	1.000
	Significancia estadística p	DCOL	.										
EDAD		0.0001	.										
IMC		0.020	0.002	.									
COL		0.434	0.355	0.491	.								
TG		0.023	0.006	0.0001	0.077	.							
HDL		0.036	0.002	0.017	0.0001	0.001	.						
CAL		0.373	0.134	0.086	0.278	0.098	0.173	.					
FOS		0.227	0.188	0.089	0.172	0.160	0.461	0.112	.				
PCR		0.065	0.358	0.293	0.024	0.247	0.474	0.173	0.338	.			
FAL		0.033	0.355	0.311	0.133	0.067	0.224	0.294	0.302	0.395	.		
OST		0.086	0.059	0.229	0.018	0.019	0.125	0.019	0.130	0.141	0.0001	.	
LEP		0.036	0.006	0.0001	0.231	0.113	0.401	0.415	0.216	0.396	0.182	0.411	.

DCOL: Densitometría de columna, COL: Colesterol, TG: triglicéridos, CAL: Calcio, FOS: Fósforo, FAL: Fosfatasa alcalina, OST: Osteocalcina, LEP: Leptina.

Cuadro 4. Regresión lineal múltiple estratificada por grupo de edad (50-59 años) con densitometría de columna (g/cm^2) para IMC, Perfil lipídico y Leptina.

	Parámetro	DCOL	IMC	COL	TG	HDL	LEP
r	DCOL	1.000					
	IMC	-0.149	1.000				
	COL	-0.011	-0.093	1.000			
	TG	-0.061	0.440	0.157	1.000		
	HDL	0.094	-0.235	0.380	-0.380	1.000	
	LEP	0.075	0.421	0.345	0.070	0.056	1.000
p	DCOL	.					
	IMC	0.216	.				
	COL	0.477	0.312	.			
	TG	0.374	0.008	0.204	.		
	HDL	0.311	0.106	0.019	0.019	.	
	LEP	0.347	0.010	0.031	0.357	0.385	.

Cuadro 5. Regresión lineal múltiple estratificada por grupo de edad (60-69 años) con densitometría de columna (g/cm^2) para IMC, Perfil lipídico y Leptina.

	Parámetro	DCOL	IMC	COL	TG	HDL	LEP
r	DCOL	1.000					
	IMC	0.316	1.000				
	COL	0.087	0.082	1.000			
	TG	0.041	0.061	0.362	1.000		
	HDL	-0.065	-0.115	0.161	-0.342	1.000	
	LEP	0.034	0.665	0.055	0.075	0.008	1.000
p	DCOL	.					
	IMC	0.004	.				
	COL	0.241	0.254	.			
	TG	0.371	0.309	0.001	.		
	HDL	0.298	0.175	0.095	0.002	.	
	LEP	0.391	0.0001	0.327	0.270	0.473	.

Cuadro 6. Regresión lineal múltiple estratificada por grupo de edad (≥ 70 años) con densitometría de columna (g/cm^2) para IMC, Perfil lipídico y Leptina.

	Parámetro	DCOL	IMC	COL	TG	HDL	LEP
	DCOL	1.000					
	IMC	0.085	1.000				
r	COL	-0.237	0.008	1.000			
	TG	0.014	0.201	0.441	1.000		
	HDL	-0.196	-0.259	0.175	-0.308	1.000	
	LEP	0.035	0.583	0.231	0.273	-0.010	1.000
	DCOL	.					
	IMC	0.264	.				
p	COL	0.036	0.475	.			
	TG	0.460	0.065	0.0001	.		
	HDL	0.070	0.025	0.095	0.009	.	
	LEP	0.396	0.0001	0.040	0.019	0.470	.

Cuadro 7. Regresión lineal múltiple estratificada por grupo de edad (50-59 años) con densitometría de columna (g/cm^2), para marcadores bioquímicos de formación ósea PCR, Fósforo y Calcio

	Parámetro	DCOL	CAL	FOS	PCR	FAL	OST
	DCOL	1.000					
	CAL	-0.134	1.000				
r	FOS	0.206	0.293	1.000			
	PCR	-0.061	-0.017	0.188	1.000		
	FAL	-0.475	-0.063	-0.137	0.054	1.000	
	OST	-0.265	0.197	-0.066	0.072	0.474	1.000
	DCOL	.					
	CAL	0.262	.				
p	FOS	0.162	0.078	.			
	PCR	0.386	0.468	0.184	.		
	FAL	0.008	0.382	0.257	0.399	.	
	OST	0.101	0.173	0.377	0.366	0.008	.

Cuadro 8. Regresión lineal múltiple estratificada por grupo de edad (60-69 años) con densitometría de columna (g/cm^2), para marcadores bioquímicos de formación ósea PCR, Fósforo y Calcio.

	Parámetro	DCOL	CAL	FOS	PCR	FAL	OST
r	DCOL	1.000					
	CAL	-0.034	1.000				
	FOS	0.154	0.097	1.000			
	PCR	-0.102	0.215	0.094	1.000		
	FAL	0.153	0.156	0.124	0.010	1.000	
	OST	-0.063	0.141	0.038	0.053	0.494	1.000
p	DCOL	.					
	CAL	0.409	.				
	FOS	0.145	0.254	.			
	PCR	0.243	0.069	0.261	.		
	FAL	0.147	0.142	0.198	0.474	.	
	OST	0.333	0.168	0.399	0.358	0.0001	.

Cuadro 9. Regresión lineal múltiple estratificada por grupo de edad (≥ 70 años) con densitometría de columna (g/cm^2), para marcadores bioquímicos de formación ósea PCR, Fósforo y Calcio

	Parámetro	DCOL	CAL	FOS	PCR	FAL	OST
r	DCOL	1.000					
	CAL	0.168	1.000				
	FOS	-0.057	-0.084	1.000			
	PCR	-0.145	0.029	-0.059	1.000		
	FAL	-0.433	0.089	0.077	-0.094	1.000	
	OST	-0.008	0.300	0.378	0.153	0.367	1.000
p	DCOL	.					
	CAL	0.172	.				
	FOS	0.375	0.318	.			
	PCR	0.206	0.435	0.371	.		
	FAL	0.005	0.309	0.333	0.298	.	
	OST	0.481	0.042	0.014	0.194	0.016	.

Cuadro 10. Regresión lineal múltiple estratificada por género (Masculino) con densitometría de columna (g/cm^2), para IMC, Perfil lipídico y Leptina.

	Parámetro	DCOL	IMC	COL	TG	HDL	LEP
r	DCOL	1.000					
	IMC	0.181	1.000				
	COL	-0.065	-0.081	1.000			
	TG	0.283	0.154	0.413	1.000		
	HDL	-0.151	-0.483	0.131	-0.269	1.000	
	LEP	-0.263	0.047	0.290	0.256	-0.088	1.000
	p	DCOL	.				
IMC		0.188	.				
COL		0.375	0.348	.			
TG		0.080	0.227	0.018	.		
HDL		0.231	0.006	0.262	0.092	.	
LEP		0.097	0.410	0.076	0.103	0.334	.

Cuadro 11. Regresión lineal múltiple estratificada por género (Femenino) con densitometría de columna (g/cm^2), para IMC, Perfil lipídico y Leptina.

	Parámetro	DCOL	IMC	COL	TG	HDL	LEP
r	DCOL	1.000					
	IMC	0.300	1.000				
	COL	0.015	0.046	1.000			
	TG	0.119	0.218	0.317	1.000		
	HDL	-0.136	-0.175	0.202	-0.389	1.000	
	LEP	0.291	0.663	0.129	0.120	-0.010	1.000
	p	DCOL	.				
IMC		0.0001	.				
COL		0.432	0.302	.			
TG		0.090	0.006	0.0001	.		
HDL		0.061	0.023	0.011	0.0001	.	
LEP		0.0001	0.0001	0.072	0.088	0.454	.

Cuadro 12. Regresión lineal múltiple estratificada por género (Femenino) con densitometría de columna (g/cm^2), para marcadores bioquímicos de formación ósea PCR, Fósforo y Calcio.

	DCOL	CAL	FOS	PCR	FAL	OST
r	DCOL	1.000				
	CAL	-0.048	1.000			
	FOS	0.056	0.119	1.000		
	PCR	-0.145	0.100	0.044	1.000	
	FAL	-0.183	0.056	0.044	-0.029	1.000
	OST	-0.112	0.219	0.109	0.096	0.458
p	DCOL	.				
	CAL	0.313	.			
	FOS	0.285	0.114	.		
	PCR	0.070	0.157	0.329	.	
	FAL	0.031	0.286	0.328	0.386	.
	OST	0.129	0.013	0.136	0.167	0.0001

XI. DISCUSIÓN

La osteoporosis es una alteración en el metabolismo óseo caracterizado por la disminución de la densidad mineral ósea, con un subsecuente incremento en la fragilidad de los huesos y susceptibilidad a fracturas.⁴⁶

Actualmente es considerada como un problema de salud pública a nivel mundial por su magnitud y trascendencia. Se calcula que 75 millones de personas en EU de América, Europa y Japón la padecen. En México los datos estadísticos son escasos, no obstante *Delezé y cols.* (1997) en un estudio multicéntrico detectó osteoporosis en un 19.5% en mujeres de 60 a 69 años y el 30% en mujeres de 70 a 79, mientras que en hombres sólo el 9.6% de 60 a 69 años y el 10% en hombres de 70 a 79 años respectivamente.⁴⁰

Así mismo, a la leptina se le han atribuido varias funciones, entre ellas la regulación de la formación y resorción ósea, además de la regulación del gasto energético, entre otras.^{35,46} Proponiendo de este modo que la leptina puede estar relacionada con el aumento y, a su vez con la disminución de la densidad mineral ósea. De tal modo que en otras investigaciones se asegura que la leptina regula la formación y resorción ósea a través del hipotálamo utilizando mediadores nerviosos: principalmente el tono simpático, que actúa sobre los osteoblastos y osteoclastos mediante la activación de diferentes receptores en dichas células, ejerciendo un mecanismo protector sobre hueso al limitar la excesiva resorción ósea y aumentando en contraste la formación ósea.^{39, 45}

Por tal motivo en este estudio se evaluó la relación entre la Densidad Mineral Ósea y los niveles séricos de leptina en los adultos mayores de 50 años.

En este estudio se detectó una frecuencia de osteoporosis del 74% (87), de los cuales 79 fueron mujeres y sólo 8 hombres. Como puede apreciarse la prevalencia en mujeres es mucho más alta que en los hombres. En este sentido, es bien sabido que los factores hormonales (disminución de

estrógenos) constituyen uno de los principales factores que afectan la densidad mineral ósea de la mujer en la menopausia.⁷

El siguiente señalamiento importante en la primera parte del análisis, es que, aunque los niveles de leptina no fueron significativamente diferentes entre los grupos de estudio, se observaron concentraciones menores en las mujeres con osteoporosis a comparación de las sanas, sugiriendo un efecto protector de la leptina para la osteoporosis. Así mismo, se observó que la leptina está asociada de forma positiva con la densidad mineral ósea y con el IMC, principalmente en mujeres. Al respecto *Blain et al.* (2002) en un estudio realizado en mujeres posmenopáusicas de 50-90 años de edad, encontró una correlación significativa entre los niveles séricos de leptina, la densidad mineral ósea y la edad ($p < 0.0001$), por lo que señalan que la leptina puede tener un efecto protector sobre el hueso actuando sobre la diferenciación osteoblástica,³⁹ mediante la interacción con el sistema nervioso simpático.^{19, 34} Al igual que *Pasco et al.* (2001) demostraron una asociación positiva entre los niveles de leptina y la masa ósea proponiendo que los niveles circulantes de leptina pueden jugar un papel en la regulación de la masa ósea.⁴⁷ Por el contrario *Sato et al.* (2001) sugieren que altos niveles de leptina reducen la formación ósea y pueden disminuir la densidad mineral ósea en adultos mayores.⁴⁸ Del mismo modo *Ducy et al.* (2000), en un estudio realizado en ratones, demostraron que la leptina inhibe la formación ósea vía un mecanismo hipotalámico, ellos encontraron un incremento masivo de masa ósea en ratones obesos ob/ob (deficientes de leptina) y db/db (deficientes del receptor de leptina), en donde la administración intracerebro-ventricular de leptina en ratones ob/ob invierten la elevada masa ósea, concluyendo que la leptina inhibe la formación ósea y mientras que en un estudio *in vitro* realizado al mismo tiempo, la leptina no actúo sobre la función osteoblástica.⁴⁹ Como puede observarse, la información científica sobre la temática es contradictoria e inconsistente, no obstante, la mayoría de estudios apoyan la propuesta de que la leptina tiene un efecto osteogénico y por lo tanto protector para la osteoporosis,^{38, 39, 43, 45, 47} lo cual fue observado en nuestro estudio.

Por lo tanto nuestros hallazgos sugieren que la leptina puede ejercer un efecto protector para la osteoporosis, no obstante es indispensable llevar a cabo estudios longitudinales con tamaño de muestras representativas para confirmar nuestros resultados.

Así mismo, se observó un efecto protector de la obesidad contra la osteoporosis, al haber encontrado que el IMC y el perfil de lípidos se incrementan conforme al tejido graso, y a su vez, éstos se asocian de manera positiva con la densidad mineral ósea. Esto puede ser debido a la conversión de andrógenos a estrógenos en el tejido adiposo, lo que presumiblemente tiene un efecto favorable sobre la densidad mineral ósea.^{48, 50} Solomon et al (2005) demostraron que los niveles séricos altos de HDL tienen un efecto protector sobre la densidad mineral ósea.²¹ Sin embargo estas evidencias científicas no han sido confirmadas en otros estudios.

Por otro lado con relación a los marcadores de formación ósea, encontramos que los niveles de fosfatasa alcalina y osteocalcina son significativamente mayores en las personas con osteoporosis, y sobre todo en mujeres de 60 a 69 años. Sin embargo, con la fosfatasa alcalina se observó de forma más clara la relación negativa con la densidad mineral ósea, ya que los niveles de fosfatasa alcalina se incrementan cuando aumenta el recambio óseo es decir cuando hay una excesiva resorción en el hueso.^{14, 20} Mismos resultados fueron obtenidos por *Shaarawy* et al (2003) en donde encuentran que los niveles de fosfatasa alcalina específica de hueso y la osteocalcina estuvieron de forma incrementada en pacientes posmenopáusicas con osteoporosis.¹⁸

Estos resultados concuerdan con lo reportado en otras investigaciones, al considerar tanto a la fosfatasa alcalina así como a la osteocalcina como marcadores bioquímicos efectivos para evaluar el grado de pérdida ósea en los huesos.¹⁶ Debido a que son proteínas no colágenas empleadas como un índice selectivo de la actividad osteoblástica, siendo su papel fisiológico actuar en la mineralización ósea al favorecer o inhibir el depósito de mineral en la matriz osteoide, y de esta forma, su función en la resorción ósea es la de regular la actividad de los osteoclastos, ya que poseen la función de

reconocimiento en la estructura de la matriz osteoide y favorecen el anclaje de las células óseas en dicha matriz, también contribuyen en la formación de su estructura además de que otras de sus funciones son el ayudar al transporte de iones, hormonas y metabolitos y el estimular o inhibir enzimas.^{1,19} Mostrando así que la medición combinada de ambos marcadores pueden predecir hasta de un 60 a 70% de la pérdida ósea.⁵¹ Mostrando de esta forma, que una baja densidad mineral ósea en los adultos mayores, implica tener niveles séricos mayores de fosfatasa alcalina específica de hueso y de osteocalcina.

Por otra parte, dentro de los resultados de esta investigación es importante mencionar al calcio y al fósforo, ya que se conoce que son los dos nutrientes más importantes en la conservación de la salud del hueso, en forma de hidroxiapatita, y que componen del 80 al 90% del contenido mineral óseo y algunos otros elementos inorgánicos como Mn^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} .^{3, 5-7, 9-10}

Y aunque los niveles de calcio encontrados no fueron estadísticamente diferentes entre el grupo de hombres y mujeres, tanto sanos y con osteoporosis, sí se observó una leve disminución en las personas con osteoporosis. Contrario al fósforo, que mostró diferencia en el grupo de los hombres, al observar niveles menores en los adultos con osteoporosis.³ Aunque se ha reportado que tanto el fósforo como el calcio séricos no están directamente relacionados con la osteoporosis.³⁹

Con respecto a la proteína C reactiva, encontramos que ésta fue significativamente mayor en las mujeres con osteoporosis en donde se mostraron los niveles más elevados de la proteína. Así mismo, se ha reportado en algunos estudios que no hay una asociación directa entre la PCR sérica y la densidad mineral ósea, aunque en otros estudios muestran que niveles altos de PCR están asociados con una reducción de la densidad mineral ósea, reportando hasta un 23% en incremento de riesgo de fractura.⁴ Por lo que nuestros resultados concuerdan con que el presentar osteoporosis es estar en un constante estado de inflamación.⁵²

Finalmente es importante resaltar la relación positiva entre la densidad mineral ósea y la leptina como el hallazgo más relevante de nuestro estudio. Asimismo, el IMC y el perfil de lípidos mostraron una correlación positiva, en contraste los marcadores de formación ósea la fosfatasa alcalina y osteocalcina mostraron una correlación negativa.

HIPÓTESIS

"De acuerdo con la información teórica disponible respecto al efecto osteogénico de la leptina, suponemos que las personas con osteoporosis mostrarán niveles séricos de leptina significativamente más bajos en comparación con los sanos"

XII. CONCLUSIONES

Los niveles séricos de leptina mostraron una correlación positiva estadísticamente significativa con la Densidad Mineral Ósea sugiriendo un efecto protector para la osteoporosis.

El IMC se asoció positivamente con la Densidad Mineral Ósea al igual que el perfil de lípidos, principalmente en mujeres.

La fosfatasa alcalina específica de hueso se asoció negativamente con la Densidad Mineral Ósea, en las mujeres.

Las variables que más se asociaron con la Densidad Mineral Ósea fueron la edad de manera negativa y el género, siendo las mujeres las más afectadas.

XIII. PROPUESTAS Y/O RECOMENDACIONES

- Realizar el estudio longitudinal en muestras representativas para confirmar nuestros hallazgos.
- Determinar el marcador de remodelación ósea deoxipiridinolina para evaluar resorción ósea.
- Realizar investigación preclínica para evaluar el posible efecto terapéutico contra la osteoporosis de la leptina.

XIV. REFERENCIAS

1. Tresguerras JAF, Benítez de Lugo EA, Cachofeiro MV, Cardinal D, Gil-Loyzaga P, Lahera JV, et al. Fisiología humana. 2ª ed. España: Mc Graw-Hill Interamericana; 1999. p. 995-1003.
2. Pacifici R. Estrogen, cytokines, and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 1996; 11: 1043-51.
3. Raisz GL. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts and prospects, *Science in medicine. J Clin Invest.* 2005; 115: 3318-25.
4. McCormick KR. Osteoporosis: integrating biomarkers and other diagnostic correlates into the management of bone fragility. *Altern Med Rev.* 2007; 12: 113-45.
5. Papapoulos SE. Osteoporosis: un enfoque general. *JCR.* 2001; 19-20: 6-11.
6. Riggs BL, Overview of osteoporosis. *West J Med.* 1991; 154: 63-77.
7. Tuck SP, Francis RM. Osteoporosis. *Postgrad Med J.* 2002; 78: 526-32.
8. Diario Oficial de la Federación. Norma Oficial Mexicana NOM-035-SSA2-2002. Prevención y control de enfermedades en la perimenopausia y postmenopausia de la mujer. Criterios para brindar la atención médica. Jueves 18 de septiembre 2003.
9. Asociación Mexicana de Metabolismo Óseo y Mineral (AMMOM). Consenso Mexicano de Osteoporosis. *Rev Invest Clin.* 2001; 53: 469-95.

10. Baluja-Conde I, Rodríguez-Chaufrau J, Baluja-Conde IB. Factores bioquímicos involucrados en el origen y desarrollo de la osteoporosis: I parte. *Bioquímica*. 1998; 23: 899-902.
11. Montgomery R, Conway WT, Spector AA, Chappell D. *Bioquímica casos y texto*. 6ª ed. Madrid: Harcourt Brace; 1998. p. 8, 20, 322-323, 332, 360-365, 570- 574.
12. Baluja-Conde I, Denis de Armas R, Martínez CO, Pérez ED, Baluja-Conde IB. Factores involucrados en el origen y desarrollo de la osteoporosis: II parte. *Bioquímica*. 1999; 24: 49-54.
13. Wark JD, Westmore A. *Studies of drugs and other measures to prevent and treat osteoporosis; a brief guide*. World Health Organization. 1995:1-8.
14. Beers HM, Berkow R. *Manual merck de geriatría*. 2ª ed. Madrid: Harcourt; 2001. p. 216, 467-480.
15. Caulin F, Kanis JA, Johnell O, Oden A. Optimal age for preventing osteoporosis after menopause depends on effects of stopping treatment. *Bone*. 2002; 30: 754-8.
16. Geller AM, Zenick H. Aging and the environment: a research framework. *Environ Health Persp*. 2005; 113: 1257- 62.
17. Delmas PD, Fraser M. Strong bones in later life: luxury or necessity? *Int Osteop Found*. 1998; 7: 416-22.
18. Shaarawy M, Abassi AF, Hassan H, Salem ME. Relationship between serum leptin concentrations and bone mineral density as well as biochemical markers of bone turnover in women with postmenopausal osteoporosis. *Fert Steril*. 2003; 79: 919-24.

19. Scariano JK, Carry PJ, Montoya GD, Chandani AK, Wilson JM, Baumgartner RN. Serum leptin levels bone mineral density and osteoblast alkaline phosphatase activity in elderly men and women. *Mech Ageing Dev.* 2003; 124: 281-6.
20. Goldstone AP, Howard JK, Lord GM, Ghatei MA, Gardiner JV, Wang ZL, et al. Leptin prevents the fall in plasma osteocalcin during starvation in male mice. *BBRC.* 2002; 295: 475-81.
21. Solomon DH, Avorn J, Canning CF. Lipid levels and bone mineral density. *Am J Med.* 2005; 118: 1414-20.
22. Harvey AR, Champe CP, Ferrier RD. *Bioquímica.* 3^a ed. México: Mc Graw-Hill; 2006. p. 251-252, 259, 261-262, 349-353, 388-389, 397, 400-402.
23. Luegmayer E, Glantschnig H, Wesolowski GA, Gentile MA, Fisher JE, Reszka AA, et al. Osteoclast formation, survival and morphology are highly dependent on exogenous cholesterol/lipoproteins. *Cell Death Dif.* 2004; 11: 108-18.
24. Martínez-Abundis E, González-Ortíz M. La leptina una hormona novedosa. *Diabetes hoy para el médico y el profesional de la salud.* 2003; 4: 1097-103.
25. Sánchez JC. Perfil fisiológico de la leptina. *Colomb Med.* 2005; 36: 50-9.
26. Unger RH. The physiology of cellular liporegulation. *Annu Rev Physiol.* 2003; 65: 333-47.

27. Zabeau L, Lavens D, Peelman F, Eyckerman S, Vandekerckhove J, Tavernier J. The ins and outs of leptin receptor activation. *FEBS Lett.* 2003; 546: 45-50.
28. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese genes and its human homologue. *Nature.* 1994; 372: 425-32.
29. Madej T, Boguski MS, Bryant SH. Threading analysis suggest that the obese gene product may be a helical cytosine. *FEBS Lett.* 1998; 373: 13-18.
30. Sinha MK, Opentanova I, Ohannesian JP, Kolaczynsky JW, Heiman ML, Hale J, et al. Evidence of free and bound leptin in human circulation. Studies in lean and obese subjects and during short-term fasting. *J Clin Invest.* 1996; 98: 1277-82.
31. Golden PI, MacCagnan TS, Partridge WM. Human blood brain barrier leptin receptor. Binding and endocytosis in isolated human brain microvessels. *J Clin Invest.* 1997; 99: 14-8.
32. Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, et al. Effects of the obese gene product on body regulation in ob/ob mice. *Science.* 1995; 269: 540-3.
33. Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and cerebral neural networks. *Science.* 1995; 269: 546-549.
34. Eikelis N, Schlaich M, Aggarwal A, Kaye D, Elser M. Interactions between leptin and the human sympathetic nervous system. *Hypertension.* 2003; 41: 1072-9.

35. La Cava A, Matarese G. The weight of leptin in immunity. *Nature Rev Immunol.* 2004; 4: 371-9.
36. Saad MF, Riad-Gabriel MG, Khan A, Sharma A, Michael R, Jinagouda SD, et al. Diurnal and ultradian rhythmicity of plasma leptin: effects of gender and adiposity. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998; 83: 453-9.
37. Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, et al. Leptin levels in human and rodent measurement of plasma leptin and Ob-Rna in obese and weight reduced subjects. *Nat Med.* 1995; 1: 1155-61.
38. Takeda S, Eleftheriou F, Levasseur R, Liu X, Zhao L, Parker LK, Karsenty G, et al. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell.* 2002; 111: 305-17.
39. Blain H, Vuillemin A, Guillemin F, Durant R, Hanesse B, De Talance N, et al. Serum leptin level is a predictor of bone mineral density in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87: 1030-5.
40. Rosado-Pérez J, Sánchez-Rodríguez M, Retana-Ugalde R, Mendoza-Núñez VM. Relación entre hiperleptinemia y osteoporosis en adultos mayores de Actopan Hgo. *Bioquímica.* 2004; 29: 120.
41. Rosado-Pérez J, Sánchez-Rodríguez M, Retana-Ugalde R, Mendoza-Núñez VM. Relación entre hiperleptinemia y osteoporosis en adultos mayores. *Archivo Geriátrico.* 2004; 6: 6-8.
42. Franco-Boruland RE, Vergara FH. Efecto osteoinductivo de leptina recombinante de rata en un modelo experimental de rata con fractura de tibia y peroné: Estudio piloto. *Acta Ortop Mex.* 2003; 17: 184-7.

43. Thomas T. Leptin: a potential mediator for protective effects of fat mass on bone tissue. *Joint Bone Spine*. 2003; 70: 18-21.
44. Sánchez-Rodríguez M, García-Sánchez A, Retana-Ugalde R, Mendoza-Núñez VM. Serum leptin levels in blood pressure in the overweight elderly. *Arch Med Res*. 2000; 31: 425-8.
45. Karsenty G. Convergence between bone and energy homeostases: Leptin regulation of bone mass. *Cell Metab*. 2006; 4: 341-8.
46. El Maghraoui A, Mouinga A, Rkain H, Mounach A. Discordance in diagnosis of osteoporosis using spine and hip bone densitometry. *J Clin Densitom*. 2007; 6: 1-4
47. Pasco JA, Henry MJ, Korowics MA, Collier GR, Ball MJ, Ugoni AM, et al. Serum leptin levels are associated with bone mass in non-obese women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86: 1884-7.
48. Sato M, Takeda N, Sarui H, Takami R, Takami K, Hayashi M, et al. Association between serum leptin concentrations and bone mineral density, and biochemical markers of bone turnover in adult men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86: 5273-6
49. Ducy P, Amling M, Takeda S, Priemel M, Schilling F, Karsenty G, *et al*. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay a central control of bone mass. *Cell*. 2000; 100: 197-207.
50. Lan-Juan Z, Yong-Jung L, Peng-Yuan L, Hamilton J, Recker RR, Hong-Wen D. Relation of obesity with osteoporosis. *J Clin Endocrin Metab*. 2007; 10: 1-19.

51. Seibel MJ. Biochemical Markers of bone turnover part II Clinical Applications in the management of osteoporosis. Clin Biochem Rev. 2006; 27: 123-31.

52. Ginaldi L, Di Benedetto C, De Martinis M. Osteoporosis, inflammation and ageing. Immunol Ageing. 2005; 2: 1-5.