



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DIFERENCIA EN LAS CIFRAS DE ESCLEROSTINA SÉRICA EN PACIENTES CON ÍNDICE DE MASA CORPORAL MAYOR DE 40 E ÍNDICE DE MASA CORPORAL MENOR DE 25

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA:

ALDO IVÁN GARCÍA CONTRERAS

Director de Tesis:

**Dr. Juan Carlos López Alvarenga
Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga"**

Comité tutorial:

**Dra. Gloria Eugenia Queipo García
Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga"**

**Dr. Miguel Klünder Klünder
Hospital Infantil de México "Federico Gómez"**

**Dra. Victoria Mendoza Zubieta
IMSS, Siglo XXI**

**Dr. Alfredo Adolfo Reza Albarrán
Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán"**

Ciudad Universitaria, Cd Mx.

Diciembre 2016



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.

INDICE GENERAL

1. RESUMEN.....	2
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
3. JUSTIFICACIÓN.....	3
4. ANTECEDENTES.....	4
5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	9
6. HIPÓTESIS.....	9
7. OBJETIVO PRIMARIO.....	9
8. MATERIAL Y MÉTODOS.....	10
9. RESULTADOS.....	16
10. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....	23
11. BIBLIOGRAFÍA.....	25

1. RESUMEN

La obesidad ha sido tradicionalmente vista como benéfica en lo que respecta a la salud ósea por el efecto mecánico positivo que el peso tiene sobre el cuerpo, a pesar de ser un factor de riesgo para muchas desórdenes crónicos de salud.

El incremento en los últimos años en lo que respecta la obesidad en la población general, ha incrementado el interés por conocer los cambios fisiopatológicos que ocurren a nivel óseo, ya que algunos estudios epidemiológicos y realizados en animales han logrado documentar que el acúmulo de grasa tiene un efecto deletéreo sobre la masa ósea, e incluso la obesidad se ha sugerido ser un factor de riesgo para el incremento de fracturas por fragilidad. Esclerostina en los últimos años ha surgido como una molécula importante en lo que respecta el control de la formación del hueso, siendo un inhibidor principal de este proceso.

El objetivo de este estudio fue conocer la diferencia que existe en las cifras de esclerostina sérica en pacientes con obesidad grado III comparado con pacientes con peso normal.

Se trata de un estudio piloto, exploratorio, transversal, observacional, analítico

Un total de 40 pacientes fueron incluidos, 20 de ellos (50%) con un índice de masa corporal (IMC) menor de 25, y 20 de ellos (50%) con un IMC mayor de 40. Los pacientes con obesidad grado III, tuvieron significativamente mayor edad (33.65 ± 5.43 vs 30.4 ± 1.9 , $p < 0.01$). Existió diferencia significativa, en lo que respecta peso corporal (61.4 ± 8.8 vs 148.9 ± 35 , $p < 0001$), IMC (22.2 ± 2 vs 53.88 ± 8.5 , $p < 0.001$), porcentaje de grasa corporal (21.58 ± 6 vs 46.76 ± 4.82), $p < 0.001$), siendo más altos en el grupo con un IMC mayor de 40. Existió cifras significativamente elevadas para el grupo con obesidad grado III, en lo que respecta cifras de glucosa (97.85 ± 10.1 vs 84.95 ± 6.3 , $p < 0.001$), hemoglobina glicada (5.91 ± 0.63 vs 5.25 ± 0.23 , $p < 0.001$) y paratohormona sérica (61.41 ± 20 vs 38.1 ± 15.4 , $p < 0.001$).

La media de las cifras de esclerostina sérica en el grupo con peso normal ($n=20$) fué de 825.52 pg/ml, D.E. ± 1222.3 . Comparado con las cifras de esclerostina sérica en el grupo con obesidad grado III, el cual tuvo una media de las cifras de esclerostina sérica de 766.95 pg/ml, DE ± 1212.85 ($p=0.88$). Se realizó el cálculo del tamaño del efecto por fórmula de d de Cohen siendo este valor de -0.048 y de -0.33 al excluir cifras de esclerostina sérica menor de 250 pg/ml.

En nuestro estudio piloto a pesar de no alcanzar diferencias significativas, si existió una tendencia a presentar cifras menores de esclerostina en el grupo con IMC mayor de 40, que en grupo con un IMC menor de 25, como fue planteada en la hipótesis, además de documentar un tamaño del efecto de débil a moderado, por lo que valdría la pena incrementar la muestra para mejorar el análisis estadístico y con mayor confiabilidad encontrar o no diferencias estadísticas.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La obesidad ha sido tradicionalmente vista como benéfica en lo que respecta a la salud ósea por el efecto mecánico positivo que el peso tiene sobre el cuerpo, a pesar de ser un factor de riesgo para muchas desórdenes crónicos de salud.

El incremento en los últimos años en lo que respecta la obesidad en la población general, ha incrementado el interés por conocer los cambios fisiopatológicos que ocurren a nivel óseo, ya que algunos estudios epidemiológicos y realizados en animales han logrado documentar que el acúmulo de grasa tiene un efecto deletéreo sobre la masa ósea, e incluso la obesidad se ha sugerido ser un factor de riesgo para el incremento de fracturas por fragilidad, cambiando el concepto de que la obesidad tienen un efecto benéfico sobre el hueso.

Esclerostina en los últimos años ha surgido como una molécula importante en lo que respecta el control de la formación del hueso, siendo un inhibidor principal de este proceso.

El conocer si existe alguna diferencia en las cifras de esclerostina en pacientes con obesidad comparado con aquellas que tienen un peso normal, ayudará a un mejor entendimiento y comprensión de los cambios que ocurren en el metabolismo óseo de los pacientes con obesidad, y sus posibles consecuencias en lo que respecta la salud ósea.

3. JUSTIFICACION

La obesidad en la población general ha incrementado de manera relevante en los últimos años. Existe controversia en lo que respecta los cambios que ocurren en el metabolismo óseo de los pacientes con obesidad, e incluso se ha sugerido un efecto deletéreo sobre el hueso en la población con obesidad, e incluso incremento en fracturas por fragilidad, lo que incrementa el costo en la atención integral de estos pacientes, además de un incremento en la morbilidad y disminución en la calidad de vida asociada a una fractura por fragilidad. Por lo que conocer y contribuir a la comprensión de los procesos o cambios que ocurren en los pacientes con obesidad y salud ósea es relevante, ya que ambas condiciones son consideradas problemas prioritarios de salud.

4. ANTECEDENTES

La obesidad es vista tradicionalmente benéfica en lo que respecta la salud ósea, por el efecto positivo bien establecido, que la carga mecánica y el peso corporal tiene sobre la formación de hueso. Si la masa derivada de una condición de obesidad o la acumulación excesiva de grasa es beneficiosa para los huesos sigue siendo controvertido. La relación fisiopatológica entre obesidad y hueso es compleja y continua siendo un área activa de investigación. Información reciente de estudios epidemiológicos y en animales fuertemente soporta que la acumulación de grasa es deletérea a la masa ósea. La obesidad posiblemente afecta el metabolismo óseo a través de varios mecanismos. Ya que ambos, tanto adipocito y osteoblasto son derivados de una célula mesenquimatosa multipotencial común, la obesidad quizá incrementa la diferenciación de adipocitos y el acúmulo de grasa disminuirá la diferenciación osteoblastica y formación ósea. La obesidad es asociada con inflamación crónica. El incremento circulante de citocinas pro inflamatorias en la obesidad quizá promueve la actividad osteoclástica y resorción ósea a través de modificaciones en la vía del receptor activador de NF-kB (RANK)/ ligando RANK y osteoprotegerina. Además, la secreción excesiva de leptina y/o producción disminuida de adiponectina por adipocitos en la obesidad quizá afecta la formación ósea o indirectamente afecta la resorción ósea a través de la producción de citocinas proinflamatorias. Finalmente, la ingesta elevada de grasas quizá interfiere con la absorción intestinal de calcio y además disminuye la disponibilidad de calcio para la formación ósea. El conocer la relación entre grasa y metabolismo óseo a nivel molecular quizá nos ayude a desarrollar agentes terapéuticos para prevenir o tratar ambas entidades, obesidad y osteoporosis.

Obesidad, definida como un índice de masa corporal \geq de 30, es una condición en la cual existe un acúmulo excesivo de grasa corporal a un grado que afecta adversamente la salud. LA prevalencia de obesidad se ha duplicado de 1980 al 2007, 33% de los hombres y 35% de las mujeres en EUA son obesos. La obesidad es positivamente asociada a muchas otras alteraciones crónicas como lo es hipertensión, dislipidemia, diabetes tipo 2, enfermedad arterial coronaria y ciertos tipos de cáncer. La masa ósea y la resistencia disminuye durante la vida adulta, especialmente en mujeres después de la menopausia. Estos cambios pueden culminar en osteoporosis, una enfermedad caracterizada por masa ósea baja y deterioro en la microarquitectura resultando en un incremento de riesgo de fractura. Se estima que hay cerca de 10 millones de americanos con mpsas de 50 ños quienes tienen osteoporosis y otros 34 millones tienen el riesgo de padecer esta enfermedad. En 2001, se calcula que se gastó 17 billones de dólares en esta enfermedad.

Varias líneas de investigación sugieren que existe un conexión entre metabolismo óseo y obesidad. En primer lugar tanto osteoblastos como adipocitos son derivadas de una célula mesenquimatosa común y agentes que inhiben la adipogénesis estimulan la diferenciación osteoblástica y viceversa, en ese sentido la inhibición de la osteoblastogénesis incrementa la adipogénesis. En segundo lugar la disminución en la osteoblastogénesis con la edad es usualmente acompañado de un incremento en la adipogénesis. Tercero, el uso crónico de hormonas

esteroideas, como los glucocorticoides, resulta en obesidad acompañada de una pérdida ósea rápida, y cuarto ambos tanto obesidad y osteoporosis están asociadas con un elevado estrés oxidativo e incremento en la producción de citocinas proinflamatorias.

CITOCINAS PROINFLAMATORIAS SE ENCUENTRAN ELEVADAS EN LA OBESIDAD

La obesidad está asociada con un bajo grado de inflamación crónica. Los hallazgos de que la expresión de una citocina proinflamatoria, como lo es el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) se encuentra elevada en el tejido adiposo de ratones obesos, provee la primera evidencia de una relación entre obesidad e inflamación. Desde entonces numerosos experimentos, estudio epidemiológicos y clínicos han establecido que la obesidad se encuentra asociada con una respuesta inflamatoria crónica, producción anormal de citocinas incremento de reactantes de fase aguda, y activación de vías de señalización proinflamatorias, y que el incremento de estos procesos están involucrados y son responsables de las enfermedades relacionadas con la obesidad. Los obesos humanos expresan mayores cantidades de TNF-alfa en tejido adiposo que individuos delgados, así como otras citocinas pro inflamatorias como IL-6 y proteína C reactiva (PCR). La obesidad ha sido implicada en el desarrollo de o progresión de enfermedades musculoesqueléticas como osteoartritis.

Los individuos obesos muestran niveles circulantes más elevados de TNF-alfa, IL-6, PCR, adiponectina y leptina. Adiponectina y leptina las cuales median la inflamación crónica, son adipocinas producidas por el tejido adiposo. Leptina tiene efectos pleiotrópicos que modulan la energía, apetito, y funciones neuroendocrinas, además de que en paciente obeso estimula la respuesta inflamatoria. En contraste la adiponectina actúa como una citocina anti-inflamatoria lo cual suprime la expresión de TNF alfa inducida por la activación de NF-kB. Se ha encontrado que las concentraciones plasmáticas de adiponectina son más bajas en sujetos obesos comparados con individuos no obesos.

CITOCINAS PROINFLAMATORIAS INCREMENTAN LA RESORCIÓN DEL HUESO

El hueso es un órgano dinámico que continuamente se encuentra en recambio, un proceso denominado modelamiento/remodelamiento el cual involucra resorción ósea por los osteoclastos y formación ósea por los osteoblastos. La masa ósea refleja el balance entre la formación ósea y la resorción. A nivel celular, los números de osteoblastos y la actividad disminuye mientras el número de osteoclastos y su actividad incrementa con el envejecimiento. Se ha establecido que los osteoblastos regulan el reclutamiento y la expresión de los receptores activadores del ligando NF-kB(RANKL) y osteoprotegerina (OPG). RANKL es expresado en la superficie de los osteoblastos/células estromales y se une a su receptor RANK, el cual se encuentra en la superficie de precursores de células hematopoyéticas para estimular la diferenciación osteoclástica y su maduración, en la presencia de factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF). Se ha demostrado que el incremento en la actividad osteoclástica y el incremento en la resorción ósea en mujeres postmenopausicas es positivamente correlacionada con una supregulación de RANKL.

Citocinas proinflamatorias como TNF-alfa, IL-1 e IL-6 son capaces de estimular la actividad osteoclástica a través de la regulación de el RANKL/RANK/OPG.

LA OBESIDAD AFECTA EL RECAMBIO ÓSEO

La obesidad tradicionalmente ha sido percibida como benéfica para el hueso, incluso protectora de osteoporosis. La carga mecánica estimula la formación de hueso al disminuir apoptosis e incrementar la proliferación y diferenciación del osteoblasto y osteocito, a través de la vía de señalización de Wnt/B-catenina. La carga mecánica conferida por el peso corporal ha sido un factor que se sugiere como protector de pérdida ósea y osteoporosis.

Sin embargo recientes reportes han demostrado que el exceso de masa grasa no protege a los humanos de osteoporosis, de hecho el incremento en la masa grasa se ha asociado con una densidad mineral ósea y contenido mineral óseo menor. El incremento en la adiposidad quizá se relacione a un riesgo incrementado de fracturas, por ejemplo en estudio de casos-controles de 100 pacientes con fracturas de 3-19 años de edad, la alta adiposidad fue asociada con un incremento en el riesgo de fracturas de antebrazo distal. En otro estudio con cerca de 13,000 adultos hombres, mujeres pre y post menopáusicas, el porcentaje de grasa corporal fue asociada positivamente con osteopenia y fracturas no vertebrales.

En modelos de ratones deficientes de leptina (*ob/ob*) para obesidad, los ratones pesaban dos veces más que los ratones delgados, pero tenían una densidad mineral ósea femoral más baja, así como su volumen óseo trabecular y grosor cortical. Obviamente el efecto positivo de la carga mecánica del aumento de peso corporal no podía superar el efecto perjudicial de la deficiencia de leptina en el hueso en estos ratones. La relación entre adiposidad y carga mecánica sobre el metabolismo óseo permanece como un área activa de investigación. Varios autores coinciden en que otros factores que el peso corporal están involucrados en el resultado final de obesidad y salud ósea. Sin embargo ya que varios estudios han sido llevados en animales de investigación, los resultados en humanos ha sido controversial.

La obesidad en humanos es un tema complejo en el cual en general involucra un exceso en el consumo de otros nutrientes, como proteínas y minerales, los cuales se conocen que influyen en el metabolismo óseo. Los hallazgos de la obesidad sobre la salud ósea en humanos ha sido basada sobre correlaciones estadísticas o modelos más que estudios controlados.

Cao y colaboradores demostraron que una dieta alta en grasa (45%) por 14 semanas disminuye el volumen del hueso trabecular y el número de trabéculas en la tibia proximal a pesar de un incremento substancial en el peso corporal. Estos cambios fueron acompañados por un incremento en los niveles de leptina sérica y TRAP, la expresión de RANKL/OPG. Kyung ha demostrado un incremento en la actividad osteoclástica y disminución de la expresión de IL-10, una citocina anti-inflamatoria.

La obesidad quizá afecta el metabolismo óseo directa o indirectamente, a través de citocinas derivadas del adipocito, como la leptina y adiponectina. La obesidad es asociada a un incremento significativo de leptina sérica, y disminución en adiponectina. La acción de la leptina sobre el hueso parece ser compleja y tener efectos tanto positivos como negativos. Parece que su acción depende sobre el estado actual de la leptina y el modo de acción (efectos centrales o periféricos),

la sobreproducción de leptina, como es vista en modelos animales obesos, quizá tenga efectos negativos sobre el metabolismo óseo. Los niveles incrementados de leptina se han encontrado ser reguladores negativos de la masa ósea en modelos animales. La adiponectina en modelos animales ha demostrado tener un efecto inhibitorio sobre la osteoclastogénesis, ya que reduce la resorción ósea e incrementa masa ósea. Los pacientes obesos cursan con cifras séricas bajas de adiponectina comparada con sujetos normales.

Basados sobre la literatura disponible, la obesidad parece afectar el metabolismo óseo a través de varios mecanismo. La obesidad quizá disminuye la formación ósea (osteoblastogénesis) mientras que incrementa la adipogénesis ya que el adipocito y osteoblasto comparten un precursor celular multi-potencial común. Por ejemplo la carga mecánica promueve la diferenciación osteoblástica e inhibe la adipogénesis por regulación a la baja de PPAR gamma.

PAPEL DE REGULADORES CLAVE WNT Y PPAR-GAMMA. SU PAPEL PARA LLEGAR A SER ADIPOCITO U OSTEOLASTO

La relevancia de la vía de señalización canónica en el hueso es conocida, y varios reportes han establecido que la actividad de la vía Wnt/B-catenina es esencial para el desarrollo óseo. Wnts son un grupo de proteínas fuertemente conservadas que pueden operar a través de dos diferentes vías de señalización. En la vía canónica cuando la vía de señalización Wnt está ausente, un complejo de varias proteínas, incluyendo la proteína poliposis adenomatosa coli (APC), glucógeno kinasa sintasa 3 (GSK3) y Axina, inducen la degradación de B-catenina, lo que reduce la cantidad citoplásmica libre de B-catenina. Cuando la señal Wnt es activa a través del receptor Frizzled (FZD) y el co-receptor relacionado a proteína de baja densidad 5 y 6 (LRP5/6), esto inactiva GSK3 y causa su disociación de la Axina evitando la fosforilación de B-catenina, por lo que la cantidad de B-catenina incrementa a nivel citoplasmático, translocándose al núcleo donde se une a miembros de la familia LEF/TCF los cuales son factores de transcripción para promover la transcripción de sus genes blanco. En la vía no canónica la señalización de Wnt es inducida a través de independientemente de LRP5/6, esta vía causa cambios citoesqueléticos a través de la de activación de las pequeñas GTPasas Rho y Rac.

Wnt 10 b, una de los miembros de la familia Wnt, juega un papel clave en la formación ósea, esta es expresada por progenitores osteoblásticos en el hueso, promoviendo la osteoblastogénesis e incrementando la densidad ósea. En ratones la deficiencia de Wnt 10b disminuye hueso trabecular y del volumen óseo de la tibia proximal.

En lo que respecta la vía no canónica, Wnt 5, parece ser el más importante factor el cual actúa sobre esta vía, que es expresado durante la diferenciación osteoblástica.

Respecto a las funciones de Wnts en la adipogénesis, estudios realizados por Moldes y colaboradores, demostraron que la expresión transgénica de Wnt1 es líneas celulares de preadipocitos fuertemente suprimen la adipogénesis.

TEORÍA DEL MECANOSTATO

La carga mecánica del hueso, tiene un papel relevante en determinar la masa ósea. Es aceptado considerar que el remodelamiento óseo sirve tanto para reparar micro-fracturas y por otra parte

adaptar al hueso al estrés mecánico. La orientación y dimensión trabecular depende de las fuerzas aplicadas al esqueleto: ley de Wolff. Frost propuso un mecanismo para explicar la ley de Wolff, en la cual la carga mecánica a un hueso resulta en la deformación del hueso, por un remodelamiento localizado. Diferentes estudios han demostrado que el mecanismo celular de esta respuesta se lleva a cabo en el osteocito, dicha célula funciona como un “mecanostato”. Se ha propuesto que la responsable de estos cambios sobre el osteocito es una molécula producida por el osteocito llamada esclerostina, un producto del gen SOST. La carga mecánica sensada por el osteocito inhibe la producción de RNAm del gen SOST, lo cual resulta en disminución de la producción de esclerostina. Por lo contrario cuando existe una menor carga mecánica, esto resulta en una mayor pérdida de DMO al disminuir la función del osteoblasto y la formación ósea. Por lo que la esclerostina parece ser un buen marcador para monitorizar la actividad del “mecanostato” en el osteocito y además puede ser útil para poder explicar la asociación entre carga mecánica y pérdida ósea en pacientes post operados de cirugía bariátrica, además esta molécula es un blanco atractivo para manipulación farmacológica, en el sentido de que su manipulación podrá mejorar la DMO en esta población.

Día a día se conoce más acerca de la relación de obesidad, leptina, factores pro-inflamatorios y osteoporosis, sin embargo pocos autores han estudiado el comportamiento de las cifras de esclerostina en pacientes con algún grado de obesidad. Grethen y colaboradores en 2012 describieron un estudio en el cual investigaban cifras de esclerostina sérica en pacientes con obesidad grado II y III (n=20) en comparación de pacientes con un peso normal (n=20), sin encontrar una diferencia significativa siendo las cifras de esclerostina en los pacientes con obesidad de 0.802 ng/ml +/- 0.34 (0.143 – 1.524) y de 0.668 ng/ml +/- 0.15 (0.470-1.024) en los pacientes control, resultando en una p de 0.12, con un tamaño del efecto por D de Cohen de 0.25, sin embargo la media de la edad en el grupo con obesidad fué de 44.4 años +/-8.9 y de 41.3 años +/- 6.9 en el grupo control, lo cual resulta relevante, ya que el estado de postmenopausia o la edad mayor de 50 años influye en que existan cambios en las cifras de esclerostina. Además de que el 10 % de su población se encontraban recibiendo algún tipo de terapia de remplazo de con esteroides sexuales. Dentro de otros resultados efectuados en este estudio fué que se realizó la determinación de leptina sérica, siendo está significativamente mayor ($p < 0.0001$) en el grupo obeso comparado con el grupo control, con valores de leptina sérica de 74.7 +/- 19.3 ng/ml y de 25.2 +/- 18.2 ng/ml respectivamente, con un efecto de tamaño calculado por D de Cohen de 2.64, siendo además el principal predictor para los niveles de PTH.

5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe diferencia en las cifras de esclerostina sérica en pacientes con obesidad grado III comparado con las cifras de esclerostina sérica de pacientes con peso normal?

6. HIPÓTESIS

Sí la obesidad incrementa el peso corporal, y este incrementa la carga mecánica sobre el hueso, llevando a un incremento en la formación ósea ya que disminuye las cifras de esclerostina sérica y esto provoca una disminución en las cifras de esclerostina sérica... entonces en un estudio transversal en el cual se compare las cifras de esclerostina sérica en un grupo de pacientes con obesidad grado III con respecto a un grupo control (peso normal), existirá una disminución de 50% en las cifras de esclerostina sérica en el grupo con obesidad grado III comparado con el control.

7. OBJETIVO PRIMARIO

- **Conocer la diferencia que existe en las cifras de esclerostina sérica en pacientes con obesidad grado III comparado con pacientes con peso normal.**

OBJETIVO SECUNDARIO

- **Conocer la correlación entre el peso corporal y las cifras de esclerostina sérica**
- **Conocer la correlación existente entre las cifras de esclerostina y paratohormona sérica**
- **Conocer la correlación existente entre las cifras de esclerostina y vitamina D**

8. MATERIAL Y MÉTODOS

- **TIPO DE ESTUDIO**

Observacional, transversal, comparativo, analítico

- **POBLACIÓN DE ESTUDIO**

Se incluirá pacientes que tengan carnet y expediente actualizado en el Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga” que acudan a consulta en el servicio de Endocrinología y/o la clínica de Obesidad y que cumplan los criterios de inclusión y exclusión de este protocolo.

- **CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- **Firma de consentimiento informado.**
- **Pacientes entre 25-45 años de edad.**
- **Índice de masa corporal igual o mayor de 40**
- **Índice de masa corporal menor de 24.9 (grupo control)**

- **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

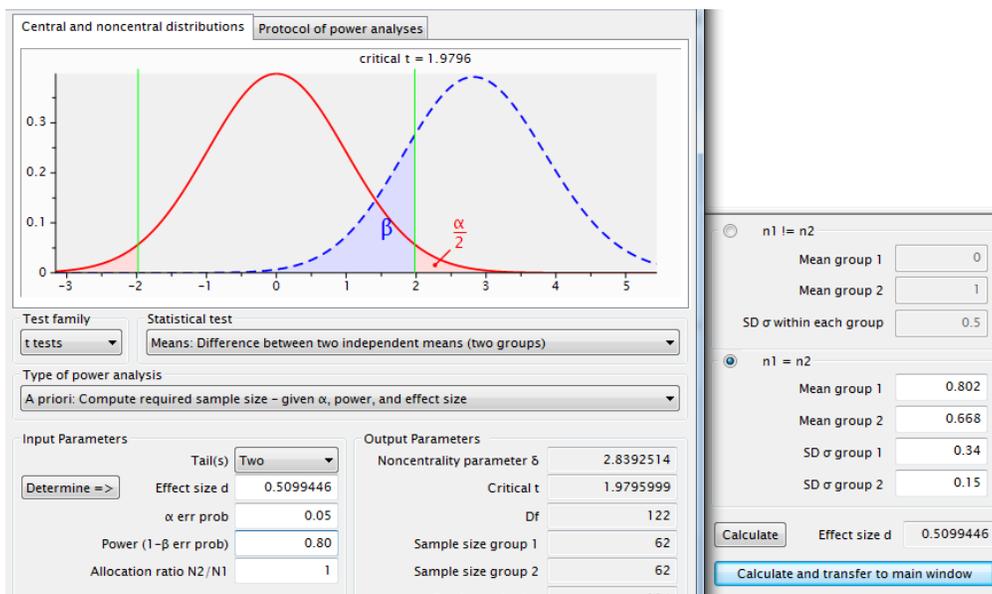
- **Uso de glucocorticoides (tópico, oral ó intravenoso) en los últimos tres meses previo a la cirugía**
- **Hipercortisolismo endógeno**
- **Hiperparatiroidismo primario**
- **Diabetes mellitus descontrolada (HbA1c mayor de 7%)**
- **Uso de anticonceptivos ó terapia de remplazo hormonal**
- **Uso de tiazolidinedionas ó GLP-1miméticos**

- **CRITERIOS DE ELIMINACIÓN**
 - Deseo del paciente de abandonar el estudio
 - Quien no acude a realizarse los estudios correspondientes
- **TAMAÑO DE LA MUESTRA**

El cálculo de tamaño de la muestra será por conveniencia ya que se trata de un estudio piloto, por lo que se determinó una población a recabar de 40 pacientes.

Sin embargo se realizó el ejercicio de estimar el tamaño de muestra con el programa G-Power para estimar diferencias de medias entre dos grupos independientes, a dos colas, con un valor de α de 0.05, una β de 0.2, una potencia de 0.8 y un tamaño del efecto de 0.5, el cual sugiere una n de 62 pacientes en cada grupo a estudiar, por lo que la muestra total sugerida es de 124 pacientes.

```
[7] -- Monday, October 10, 2016 -- 09:08:13
t tests - Means: Difference between two independent means (two groups)
Analysis: A priori: Compute required sample size
Input: Tail(s) = Two
      Effect size d = 0.5099446
      alpha err prob = 0.05
      Power (1-beta err prob) = 0.80
      Allocation ratio N2/N1 = 1
Output: Noncentrality parameter delta = 2.8392514
       Critical t = 1.9795999
       Df = 122
       Sample size group 1 = 62
       Sample size group 2 = 62
       Total sample size = 124
```



- **MÉTODOS**

A los pacientes que cumplan criterios de inclusión y exclusión, se les citará en la mañana en ayuno, para realizar su historia clínica, además de hacer mediciones antropométricas, como lo es peso, talla, e índice de masa corporal. En este momento además se realizará la determinación de porcentaje de masa grasa por medio de bioimpedancia con sensores para las manos.

Se realizará ese mismo día la toma de estudios de laboratorio, la punción al paciente la realizará el personal de laboratorio (Química Neyla Baltazar), para la determinación de glucosa, Hemoglobina glicada, creatinina, calcio, fósforo, magnesio, sodio, albúmina, paratohormona intacta, colesterol, total, triglicéridos, colesterol de alta densidad y de baja densidad los cuales se procesarán en el laboratorio del Hospital General de México "Dr Eduardo Liceaga". En un laboratorio externo se realizará la determinación de 25 hidroxivitamina D, por medio del laboratorio Carpermor, por medio de electroquimioluminiscencia. La determinación de esclerostina sérica se realizará en la Unidad de Medicina Experimental de la Universidad Nacional Autónoma de México ubicada en el Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga" por medio de la técnica de ELISA, las muestras serán resguardadas a -80 °C hasta su procesamiento y a cada paciente se le realizará la determinación de la misma en dos ocasiones. El grupo control (aquellos pacientes con un IMC menor de 24.9), se les realizará el mismo procedimiento.

• **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se usará medidas de tendencia central y de dispersión

Uso de T de Student para comparación de medias independientes en caso de variables cuantitativas que cumplan criterio de normalidad, o bien en caso de no cumplir este criterio se usará prueba de U de Mann-Whitney-Wilcoxon.

Uso de χ^2 para comparación de proporciones para variables cualitativas (nominales y ordinales).

Se considera un valor de p menor de 0.05 como significativo

Coefficiente de correlación de Spearman como herramienta de asociación entre dos variables aleatorias continuas, en caso de existir diferencia significativa se realizará regresión lineal múltiple

- VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	UNIDAD DE MEDICIÓN	TIPO DE ESCALA DE LA VARIABLE	ANÁLISIS ESTADÍSTICO
EDAD	Tiempo de vida desde el nacimiento	Años	Cuantitativa discreta	T-Student U de Mann-Whitney-Wilcoxon
SEXO	Se considera femenino o masculino de acuerdo a las características fenotípicas del paciente	Masculino Femenino	Cualitativa nominal	Chi ²
ESCLEROSTINA	Hormona sintetizada en el osteocito que disminuye el remodelamiento óseo	ng/ml	Cuantitativa continua (Dependiente)	T- Student U de Mann-Whitney-Wilcoxon
PESO CORPORAL	Masa del cuerpo medida en kilogramos	Kilogramos	Cuantitativa continua (Independiente)	T-Student U de Mann-Whitney-Wilcoxon
INDICE DE MASA CORPORAL	Medida de asociación entre la masa y la talla de un individuo	Normal: 18.5-24.9 Grado III: 40 ó más	Cualitativa ordinal Cuantitativa continua	Xi ² T-Student
EDAD	Tiempo de vida desde el nacimiento	Años	Cuantitativa discreta	T-Student U de Mann-Whitney-Wilcoxon
DEFICIENCIA DE VITAMINA D	Cantidades séricas bajas de 25 hidroxivitamina D en un individuo	Menos de 30 ng/ml	Cuantitativa continua	T-Student U de Mann-Whitney-Wilcoxon
INSUFICIENCIA DE VITAMINA D	Cantidades séricas bajas de 25 hidroxivitamina D en un individuo	Menos de 20 ng/ml	Cuantitativa continua	T-Student

				U de Mann-Whitney-Wilcoxon
PARATOHORMONA SÉRICA	Hormona polipeptídica sintetizada en la glándula paratiroides, involucrada en el control del calcio sérico	pg/ml	Cuantitativa continua	T-Student U de Mann-Whitney-Wilcoxon

ASPECTOS ETICOS Y DE BIOSEGURIDAD

Se solicitará el consentimiento informado de todos los participantes en el estudio, donde se especifican: la participación del paciente, los riesgos a los que serán sometidos y los beneficios que obtendrán. El estudio fue sometido a los comités de investigación y ética de las instituciones participantes, recibiendo su aprobación.

Este estudio se conduce de acuerdo a las normas de ética sobre investigación en sujetos humanos de la declaración de Helsinki, la Ley General de Salud y el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de la investigación para la salud.

RECURSOS DISPONIBLES

Se cuenta con recursos humanos necesarios para la realización del protocolo, las funciones que cada investigador desarrollara se describen a continuación:

Dr. Aldo Iván García Contreras. Investigador Principal

Funciones: Reclutamiento de pacientes, toma de muestra de sangre, análisis estadístico, elaboración de reporte final

Dr. Juan Carlos López Alvarenga. Investigador Asociado

Función: Diseño del protocolo, Coordinador de actividades, análisis de resultados, asesoría.

Dra. Claudia Angélica Aguilar Serralde. Investigador Asociado

Función: Apoyo en el reclutamiento de pacientes en la Clínica de Atención Integral a Pacientes con Diabetes y Obesidad

Dr. Julio César Chávez Mejía. Investigador Asociado

Funciones: Reclutamiento de pacientes, toma de muestra de sangre, procesamiento de muestras

RECURSOS NECESARIOS

La toma de muestras y procesamiento de las mismas será realizada por la Química:

Neyla Baltazar López

Funciones: Toma y procesamiento de muestras de sangre en el área de Laboratorio Central del Hospital General de México del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”.

Se solicitara la realización de estudios de laboratorio realizados en el Laboratorio central del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”. Como se comentó previamente la determinación de 25 hidroxivitamina D será realizada por Laboratorios Carpermor. El kit de esclerostina fue donado por la UNAM, y el procesamiento de las muestras será llevado en la Unidad de Medicina Experimental de la UNAM.

Los estudios solicitados en el Hospital General de México serán:

Estudio de laboratorio	Prueba que incluye
Química sanguínea	Glucosa, creatinina, colesterol, triglicéridos, Colesterol total, HDL, LDL, triglicéridos
Hemoglobina glicada	
Pruebas de función hepática	ALT, AST, GGTP, FA, BI, BD, BI
Paratohormona sérica	
Electrolitos séricos	Na, K, Ca, P, Mg

9. RESULTADOS

Un total de 40 pacientes fueron incluidos en el protocolo, de los cuales 20 de ellos (50%) contaron con un IMC menor de 25, y 20 de ellos (50%) un IMC mayor de 40. En el grupo de pacientes con un IMC menor de 25 (n=20), 10 de ellos fueron mujeres y 10 de ellos fueron hombres. En el grupo con un IMC mayor de 40, 10 pacientes fueron hombres y 10 pacientes fueron mujeres.

VARIABLES ANTROPOMÉTRICAS Y BIOQUÍMICAS

Los pacientes con obesidad grado III, tuvieron significativamente mayor edad (33.65 ± 5.43 vs 30.4 ± 1.9 , p 0.01), mayor diagnóstico de prediabetes (0% vs 20%, p 0.03), mayor diagnóstico de hipertensión arterial sistémica (0% vs 20%, p 0.03) y de SAOS (5% vs 35%, p 0.01). en el grupo con peso menor de 25 existió un mayor consumo de alcohol (40% vs 10%, p 0.02) y mayor realización de ejercicio (50% vs 20%, p 0.04). Sin existir diferencias en lo que respecta el sexo de los grupos y el antecedente de tabaquismo. En la tabla 1 se describen las características demográficas de los grupos.

TABLA 2. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS			
(N=40)			
	PESO NORMAL (n=20)	OBESIDAD GRADO III (n=20)	
EDAD (años) / D.E.	30.4 ± 1.9	33.65 ± 5.43	0.01
GENERO (%)	10 (50)	10 (50)	1
- Hombre	10 (50)	10 (50)	
- Mujer			

TABAQUISMO (%)	2 (10)	4 (20)	0.37
ALCOHOLISMO (%)	8 (40)	2 (10)	0.02
EJERCICIO (%)	10 (50)	4 (20)	0.04
PRE DIABETES (%)	0	4 (20)	0.03
HAS (%)	0	4 (20)	0.03
SAOS (%)	1 (5%)	7 (35)	0.01

En lo que respecta las características antropométricas de los pacientes, existió diferencia significativa, en lo que respecta peso corporal (61.4 ± 8.8 vs 148.9 ± 35 , $p < 0001$), IMC (22.2 ± 2 vs 53.88 ± 8.5 , $p < 0.001$), porcentaje de grasa corporal (21.58 ± 6 vs 46.76 ± 4.82), $p < 0.001$), siendo más altos en el grupo con un IMC mayor de 40. No existió diferencias significativas en la talla de los grupos. En la tabla 2 se describen las características antropométricas de los pacientes.

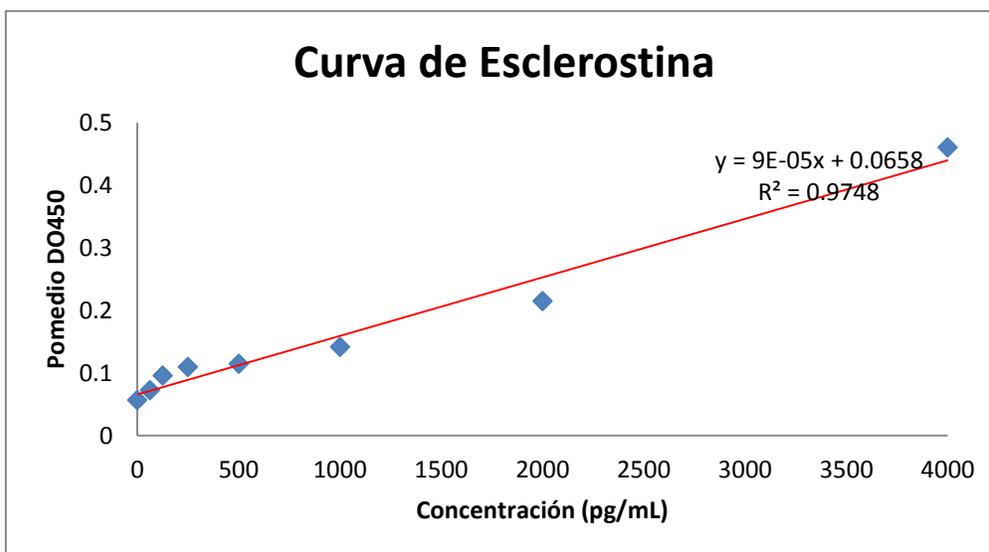
Dentro de los valores bioquímicos de ambos grupos, existió cifras significativamente elevadas para el grupo con obesidad grado III, en lo que respecta cifras de glucosa (97.85 ± 10.1 vs 84.95 ± 6.3 , p menor de 0.001), hemoglobina glicada (5.91 ± 0.63 vs 5.25 ± 0.23 , p menor de 0.001) y paratohormona sérica (61.41 ± 20 vs 38.1 ± 15.4 , $p < 0.001$). Las cifras de colesterol total fueron significativamente más altas en el grupo con IMC menor de 25 (187 ± 34.4 vs 160.95 ± 39 , $p 0.03$), colesterol HDL (54 ± 11.21 vs 34.6 , $p < 0.001$). No existió diferencia en lo que respecta cifras de creatinina, colesterol LDL, triglicéridos, calcio corregido, fósforo, magnesio y 25 hidroxivitamina D. En la tabla 3 se muestran las características bioquímicas de ambos grupos.

TABLA 3. CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS
(N=40)

	PESO NORMAL (n=20)	OBESIDAD GRADO III (n=20)	
GLUCOSA (mg/dl)	84.95 ± 6.3	97.85 ± 10.1	< 0.001
CREATININA (mg/dl)	0.89 ± 0.15	0.82 ± 0.18	0.23
COLESTEROL TOTAL (mg/dl)	187.1 ± 34.4	160.95 ± 39.1	0.031
COLESTEROL HDL (mg/dl)	54 ± 11.21	34 ± 6.64	< 0.001
COLESTEROL LDL (mg/dl)	106.15 ± 29.9	97.95 ± 34.37	0.42
TRIGLICÉRIDOS (mg/dl)	99.9 ± 61.72	142 ± 57.95	0.32
CALCIO (mg/dl)	9.52 ± 0.28	9.16 ± 0.36	0.001
CALCIO CORREGIDO (mg/dl)	9.21 ± 0.28	9.35 ± 0.29	0.139
FÓSFORO (mg/dl)	3.99 ± 0.56	3.88 ± 0.56	0.52
MAGNESIO (mg/dl)	2 ± 0.12	1.93 ± 0.18	0.21
PARATHORMONA (pg/ml)	38.1 ± 15.4	61.41 ± 20.8	< 0.001
25 HIDROXIVITAMINA D (ng/dl)	19.77 ± 6.32	19.74 ± 8.45	0.989
HEMOGLOBINA GLICADA (%)	5.25 ± 0.23	5.91 ± 0.63	< 0.001

ESCLEROSTINA SÉRICA

Se realizó la determinación de esclerostina sérica en todos los pacientes, en cada paciente se realizó en dos ocasiones su determinación. A continuación se muestra la curva de esclerostina, la cual sirvió de referencia para la determinación de nuestros valores, dependiendo de los valores de promedio de la Densidad óptica (DO) en un rango de los 450 nm.



Estándar (pg/mL)	Promedio DO450
0	0.057
62.5	0.073
125	0.096
250	0.11
500	0.115
1000	0.142
2000	0.215
4000	0.461

La media de las cifras de esclerostina sérica en el grupo con peso normal (n=20) fué de 825.52 pg/ml, con una mediana de 114.57 pg/ml, una desviación estándar de 1222.3. Comparado con las cifras de esclerostina sérica en el grupo con obesidad grado III, el cual tuvo una media de las cifras

de esclerostina sérica de 766.95 pg/ml, mediana 121.63 pg/ml, desviación estándar de 1212.85. en la tabla 4 se presenta estos datos.

TABLA 4. ESCLEROSTINA SÉRICA (pg/ml) (N=40)		
	PESO NORMAL (n=20)	OBESIDAD GRADO III (n=20)
MEDIA	825.52	766.95
MEDIANA	114.57	121.63
DESVIACIÓN ESTANDAR	1222.30	1212.85
VALOR MAXIMO	3618.22	3947
VALOR MINIMO	0	0
ASIMETRIA	1.30	1.73
CURTOSIS	.162	1.79

Estas cifras de esclerostina sérica tuvieron una distribución anormal al momento de graficarse, y de manera más objetiva al realizar el estadístico de Shapiro – Wilk, por tratarse de una muestra con una N menor de 50, alcanzando significancia estadística con lo cual se descarta normalidad de la muestra. Se intentó normalizar la muestra, transformando los datos a logaritmo, sin embargo esta maniobra no logró normalizar la muestra. Se utilizó la prueba se T.Student para realizar la diferencia de medias de dos muestras independientes, para comparar las cifras de esclerostina sérica en la variable dicotómica IMC (menor de 25 y mayor de 40), sin lograr diferencia estadística entre ambos grupos, con un valor de $p=0.88$. Se realizó el mismo ejercicio, pero utilizando la variable logarítmica de esclerostina, comparándola con la misma variable dicotómica, sin lograr diferencia significativa entre ambos grupos, por un valor de p de .565. Se utilizó prueba no paramétrica U de Mann-Whitney, para los mismos grupos, sin encontrar tampoco diferencias significativas entre ambos grupos ($p =0.86$). En base a la media de ambos grupos y de sus

desviaciones estándar se realizó el cálculo del tamaño del efecto por fórmula de d de Cohen siendo este valor de -0.048.

Al revalorar la curva de esclerostina se consideró que valores por debajo de 250 pg/ml, difícilmente pueden discernir entre cada punto, ya que los valores son muy estrechos para la densidad óptica de referencia. Por lo que se decidió excluir a los pacientes con cifras de esclerostina sérica menor de 250 pg/ml, y realizar un nuevo análisis de la muestra. De este modo se reanalizaron 15 pacientes, 7 de los cuales con IMC menor de 25 y 8 de ellos con obesidad grado III. En este re análisis el grupo con un IMC menor de 25 tuvo una media de esclerostina de 2230.42 pg/ml, mediana de 2353.48 pg/ml con una desviación estándar de 1085, comparado con el grupo con IMC mayor de 40 el cual tuvo una media de esclerostina sérica de 1811.92 pg/ml, mediana 1497.73 pg/ml y una desviación estándar de 1380 (tabla 5).

TABLA 5. ESCLEROSTINA SÉRICA (pg/ml) (N=15)		
	PESO NORMAL (n=7)	OBESIDAD GRADO III (n=8)
MEDIA	2230.42	1811.92
MEDIANA	2353.48	1497.73
DESVIACIÓN ESTANDAR	1085	1380.47
VALOR MAXIMO	3618.22	3947.93
VALOR MINIMO	552	486.95
ASIMETRIA	-0.48	0.438
CURTOSIS	-.801	-1.647

Se realizó de nueva cuenta prueba estadística para corroborar normalidad con Shapiro Wilk, siendo esta no significativa, lo que sugiere distribución normal de la muestra. Se realizó de nueva cuenta prueba de T de Student para la comparación de medias independientes de las cifras de esclerostina sérica, comparada con la variable dicotómica IMC, sin encontrar diferencias significativas en las cifras de esclerostina entre los grupos con un IMC menor de 25 y un IMC mayor de 40 ($p=0.53$), tampoco se encontró diferencia significativa al usar la variable logarítmica de

esclerostina ($p=0.38$). De la misma manera se realizó el cálculo del tamaño del efecto de d de Cohen entre ambos grupos siendo de -0.33 .

Se realizó correlación de Pearson entre esclerostina sérica y peso corporal, índice de masa corporal, porcentaje de grasa, edad del paciente, 25 hidroxivitamina D, paratohormona, calcio corregido, fósforo, magnesio, glucosa y hemoglobina glucosilada, en la tabla 6 se muestran los resultados.

TABLA 6. CORRELACIÓN DE ESCLEROSTINA CON DIFERENTES VARIABLES DEL METABOLISMO ÓSEO		
VARIABLES	CORRELACION DE PEARSON	Valor p
PESO	- 2.34	0.40
IMC	- 2.20	0.43
% GRASA	- 0.16	0.56
EDAD	0.23	0.40
25 OHD	- 0.23	0.39
PTH	- 0.13	0.96
CA CORREGIDO	0.10	0.70
P	0.070	0.80
Mg	0.012	0.96
GLUCOSA	0.05	1
HbA1c	-0.70	0.85

10. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

No se encontró diferencias significativas en las cifras de esclerostina sérica entre los grupos con un índice de masa corporal menor de 25 y el grupo con un IMC mayor de 40, además de encontrar un tamaño del efecto de primer instancia insignificante (d de Cohen -0.048).

Varios factores influyen para esto siendo uno de los más importantes el tamaño de la muestra, que si bien se trata de un estudio exploratorio, resultó ser insuficiente, por la dispersión que llegó a presentar las cifras de esclerostina, en donde incluso las desviaciones estándar tanto del grupo con un IMC menor de 25 e IMC mayor de 40, fueron mayores a la media de esclerostina de estos grupos, lo cual seguramente mejoraría al aumentar el tamaño de la muestra.

Otro punto muy importante a considerar, y que arroja aprendizaje para futuros estudios con el uso de esclerostina, son las densidades ópticas menores a 0.11 (equivalente a 250 pg/ml de esclerostina), en las cuales existe una diferencia mínima. Idealmente se debió realizar una nueva curva, y realizar diluciones en la misma para lograr discernir de una manera entre los diferentes puntos. No se logró realizar esta curva ya que sólo se contaba con un kit de esclerostina, sin embargo llama la atención que al excluir a los pacientes con cifras de esclerostina menores de 250 pg/ml, el comportamiento de los grupos (IMC <25 vs IMC >40) fue diferente, incluso observándose cifras más bajas en el grupo con IMC mayor de 40, comparándolo con el grupo con un IMC menor de 25, como se sugirió en la hipótesis de nuestro estudio, además mejoró la desviación estándar, e incluso incrementó el tamaño del efecto, de insignificante a por lo menos débil – moderado (d de Cohen -0.33 a -0.55). Estos hallazgos al realizar la exclusión de pacientes con esclerostina menor de 250 pg/ml, son muy importantes ya que justifican la realización de este mismo estudio, con una mayor muestra, justificando recursos económicos del estudio. Por otra parte estos hallazgos también le dan un sentido a la teoría del mecanostato, en la cual a mayor carga mecánica existe una mayor síntesis de tejido óseo y por ende una disminución en las moléculas inhibitorias de la osteoblastogénesis como lo es esclerostina.

Grethen y colaboradores, realizaron un estudio en el año 2012, en el cual evaluaron las cifras de esclerostina sérica también en pacientes con IMC normal (menor de 25) y un IMC mayor de 40, sin que tampoco encontraran diferencias significativas entre ambos grupos, sin embargo este grupo en sus hallazgos describió cifras más elevadas de esclerostina sérica en el grupo con IMC mayor de 40, comparado con el grupo control (802 pg/ml \pm 34 vs 668 pg/ml \pm 150), sin que tampoco encontrarán una diferencia estadísticamente significativa, sin embargo es de resaltar que en estudio existieron factores que influyen en las cifras de esclerostina como lo fue que en el grupo con IMC normal fue conformado por 20 pacientes del sexo femenino postmenopáusicas y 7 en el grupo con IMC mayor de 40, e incluso uso de terapia de reemplazo hormonal, además de que los límites de edad llegaron a ser de hasta los 63 años. A diferencia de nuestro estudio, en el que se excluyeron pacientes post menopausicas y con terapia de reemplazo hormonal, y se puso un límite de edad de 45 años.

Existió diferencias significativas en varias variables demográficas, bioquímicas y obviamente antropométricas entre nuestros principales grupos (IMC menor de 25 vs IMC mayor de 40), esto debido a las características metabólicas de los pacientes con obesidad, que a pesar de encontrarse en “parámetros de normales” de alguna variable, lograron significancia estadística al compararlo con paciente con peso normal. Situación que es difícil controlar en próximos estudios.

Al realizar correlaciones entre esclerostina y diferentes variables, las variables que tuvieron mayor correlación, aunque bien esta fue débil, fue precisamente aquellas relacionadas con el peso corporal, IMC y porcentaje de grasa corporal, presentando todas ellas una correlación negativa débil, no significativa (la cual pudiera mejorar con el incremento de la muestra) siendo el más importante el peso del paciente., seguida por la del IMC, lo que apoya que la carga mecánica es de los principales factores que pudieran explicar los niveles de esclerostina sérica.

Dentro de las limitantes de nuestro estudio como ya se comentó fue el tamaño de la muestra, además del diseño del mismo, ya que al ser un estudio transversal difícilmente podremos hablar de causalidad, por lo que en un futuro se podrán plantear estudios de cohorte o ensayos clínicos. Otra limitante de nuestro estudio fue el nulo control del peso o la información obtenida del algún cambio en las cifras de peso corporal, días previos a la toma de la muestra, tomando en cuenta que la gran mayoría de nuestros pacientes con obesidad grado III, provenían de la clínica de obesidad, en la cual cabría la posibilidad de que los pacientes ya hubieran iniciado algún régimen para el descenso de peso.

En conclusión, existen en la literatura muy pocos estudios que traten de buscar diferencias en las cifras de esclerostina sérica y diferentes grado de obesidad. En nuestro estudio piloto a pesar de no alcanzar diferencias significativas, si existió una tendencia a presentar cifras menores de esclerostina en el grupo con IMC mayor de 40, que en grupo con un IMC menor de 25, como fue planteada en la hipótesis, además de documentar un tamaño del efecto de débil a moderado, por lo que valdría la pena incrementar la muestra para mejorar el análisis estadístico y con mayor confiabilidad encontrar o no diferencias estadísticas.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Grethen E, Kathleen M, Jones RM, et al. Serum leptin, parathyroid hormone, 1,25-dihydroxyvitamin D, fibroblast growth factor 23, bone alkaline phosphatase, and sclerostin relationship in obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 97: 1655-1662, 2012
2. Eriksen E. Commentary on sclerostin deficiency is linked to altered bone composition. *J Bone Miner Res* 2014;29:2141-2143.
3. Zhao L, Jiang H, Papanicolaou Ch, et al. Correlation of obesity and osteoporosis: Effect of fat mass on the determination of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2008;23:17-29.
4. Colaianni G, Brunetti G, Faienza M, et al. Osteoporosis and obesity: Role of Wnt pathway in human and murine models. *World J Orthop* 2014;18 :242-246.
5. Cao J. Effects of obesity on bone metabolism. *Journal of Orthopedic Surgery and research* 2011; 6: 30
6. Yu E. Bone metabolism after bariatric surgery. *J Bone Miner Res.* 2014; 29(7): 1507-1518
7. Pories W. Bariatric surgery: risk and rewards. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(11):S89-S96
8. Lalmohamed A, Vries Frank, et al. Risk of fracture after bariatric surgery in the United Kingdom: population based, retrospective cohort study. *BMJ.* 2012; 345: e5085-
9. Nakamura KM, Haglund GC, Clowes Ja, et al. Fracture risk following bariatric surgery: a population –based study. *Osteoporosis Int* 2014;25:151-158
10. Folli F, Sabowitz BN, Schwesinger W, et al. Bariatric surgery and bone disease: from clinical perspective to molecular insight 2012;36:1373-1379
11. M, Simha V, Garg A. review: Long-term impact of bariatric surgery on body weight, comorbidities, and nutritional status. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(11):4223-4231