

UNIVERSIDAD DE GRANADA



Facultad de Medicina
Departamento de Medicina

TESIS DOCTORAL

**EVALUACIÓN DEL PAPEL DE LA ESCLEROSTINA
EN EL METABOLISMO ÓSEO DE PACIENTES
CON DIABETES MELLITUS TIPO 2**

Antonia García Martín
Granada, 2012

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Antonia García Martín
D.L.: GR 2237-2012
ISBN: 978-84-9028-070-6

El trabajo de investigación que se expone en esta Memoria Doctoral ha sido realizado en el Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital Universitario San Cecilio, Granada, bajo la dirección del Dr. Manuel E. Muñoz Torres.

DIRECTOR:

Fdo: Dr. Manuel E. Muñoz Torres

El trabajo de investigación que se expone en esta Memoria Doctoral ha sido realizado en el Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital Universitario San Cecilio, Granada, bajo la dirección de la Dra. Rebeca Reyes García.

DIRECTOR:

Fdo: Dra. Rebeca Reyes García

El trabajo de investigación que se expone en esta Memoria Doctoral ha sido realizado en el Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital Universitario San Cecilio, Granada, bajo la dirección del Dr. Pedro Rozas Moreno.

DIRECTOR:

Fdo: Dr. Pedro Rozas Moreno

Ninguna oportunidad u obligación mayores le hubiese tocado en suerte a un ser humano que la de ser médico. Al cuidar a los que sufren necesita pericia, técnica, conocimientos científicos y comprensión humana. Quien realiza su tarea con valor, humildad y sabiduría, presta un servicio insustituible a su hermano el hombre y así elevará un edificio perdurable en lo más íntimo de su ser. El médico debe exigir a su destino que le sea asignada justamente tal tarea y no debe contentarse con menos.

Dr. Tinsley R. Harrison

I Edición Principios de Medicina Interna

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Manuel Muñoz por ser un gran maestro, médico e investigador; por sus enseñanzas, energía y estímulo para lograr superarme cada día.

A la Dra. Rebeca Reyes, que ha sido un agradable descubrimiento, por su ayuda científica. Al Dr. Pedro Rozas por su apoyo en la realización de esta tesis que supone una continuación de la suya.

Al Jefe de Servicio, médicos adjuntos, enfermeras y auxiliares del Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital San Cecilio de Granada por todo lo aprendido y especialmente, a los residentes y ex residentes, por los buenos momentos compartidos.

A. María, Inés y Mariela por haber sido las mejores compañeras durante estos años.

A Tatán por su coherencia y su visión de la vida.

A Mercedes, Pili y María José, las amigas que nunca faltan.

A Chemi y a su familia por estar siempre ahí.

Y por supuesto, a mi madre, que es la persona a la que más admiro, a mi padre, que estaría muy orgulloso, a mi hermana y al resto de mi familia.

ÍNDICE

ÍNDICE

ABREVIATURAS	v
INTRODUCCIÓN	2
1. Metabolismo óseo y esclerostina	4
1.1. Remodelado óseo	4
1.2. Vía de señalización celular Wnt	13
1.3. Osteocito	20
1.4. Esclerostina	26
2. Metabolismo óseo en la diabetes mellitus tipo 2	31
2.1. Patogenia de la fragilidad ósea en la DM2	31
2.2. Marcadores de remodelado óseo en la DM2	37
2.3. Densidad mineral ósea y fracturas en la DM2	39
2.4. Factores de riesgo de osteoporosis y fracturas en la DM2	42
3. Esclerostina en la diabetes mellitus tipo 2: Justificación del estudio	46
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	48
1. Hipótesis de trabajo	49
2. Objetivo general	49
3. Objetivos específicos	49

PACIENTES Y MÉTODOS	51
1. Pacientes	52
2. Métodos	54
2.1. Diseño del estudio	54
2.2. Variables del estudio	54
2.3. Análisis estadístico	59
RESULTADOS	62
1. Características de la población de estudio	63
1.1. Características generales	63
1.2. Metabolismo óseo	65
1.3. Control metabólico en DM2	69
2. Determinantes de los niveles séricos de esclerostina	71
2.1. Esclerostina, grupo y sexo	71
2.2. Esclerostina y edad	73
2.3. Esclerostina y función renal	75
2.4. Esclerostina e índice de masa corporal	76
2.5. Esclerostina y actividad física	77
2.6. Esclerostina y estatus menopáusico	78
3. Relación con el metabolismo óseo	79
3.1. Esclerostina, hormonas calciotropas y marcadores de remodelado óseo	79
3.2. Esclerostina y densidad mineral ósea	83

3.3. Esclerostina y osteoporosis	87
3.4. Esclerostina y fracturas vertebrales	89
4. Relación con el control metabólico en la diabetes mellitus tipo 2	91
4.1. Esclerostina y hemoglobina glicada	91
4.2. Esclerostina y duración de la DM2	92
5. Análisis multivariante	93
DISCUSIÓN	96
1. Niveles séricos de esclerostina en diabéticos y controles	97
2. Determinantes de los niveles séricos de esclerostina	98
3. Relación con el metabolismo óseo	101
4. Relación con el control metabólico en la diabetes mellitus tipo 2	106
5. Áreas de incertidumbre y perspectivas futuras	106
CONCLUSIONES	110
BIBLIOGRAFÍA	112
RESUMEN	131
ACTIVIDAD CIENTÍFICA	135

ABREVIATURAS

ADA	American Diabetes Association
ADO	Antidiabético oral
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AGE	Producto final de la glicación avanzada
AP	Antecedente personal
APC1	Adenomatous polyposis coli
ARN	Ácido ribonucleico
ASBMR	American Society for Bone and Mineral Research
BMP	Proteínas morfogenéticas óseas
BMU	Unidad básica de remodelado
CF	Cuello femoral
CKI	Caseína quinasa I
CL	Columna lumbar
CMO	Contenido mineral óseo
CT	Cadera total
CTX	Telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo 1
CV	Coeficiente de variación
DE	Desviación estándar
Dkk	Proteína Dickkopf
DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DMO	Densidad mineral ósea
Dsh	Proteína Dishevelled
DXA	Absorciometría dual por rayos X
ELISA	Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas
FA	Fosfatasa alcalina
FG	Filtrado glomerular
FSH	Hormona folículo-estimulante
FRP	Proteína relacionada con el receptor Frizzled

Fz	Receptor Frizzled
FGF23	Factor de crecimiento fibroblástico 23
GSK3 β	Enzima glucógeno-sintetasa-quinasa 3 beta
HR	Hazard ratio
HbA1c	Hemoglobina glicada
IC	Intervalo de confianza
IGF1	Factor de crecimiento insulínico tipo 1
IGFBP	Proteína transportadora del factor de crecimiento insulínico
IL	Interleucina
IMC	Índice de masa corporal
INF γ	Interferón gamma
Km	Receptor Kremen
LDLR	Receptor relacionada con lipoproteína de baja densidad
LRP	Proteína relacionada con el receptor de la lipoproteína de baja densidad
M-CSF	Factor estimulante de colonias de macrófagos
MRO	Marcador de remodelado óseo
MT1-MMP	Metaloproteina MT1
NO	Óxido nítrico
OC	Osteocalcina
OPG	Osteoprotegerina
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCP	Polaridad celular planar
PCR	Proteína C reactiva
PGE2	Prostaglandina E2
P1NP	Propéptido aminoterminal del colágeno tipo 1
PPAR γ	Receptor gamma activado por la proliferación de peroxisomas
PTH	Parathormona
RAGE	Receptor de producto final de glicación avanzada
RANK	Receptor activador del factor nuclear kappa B
RANKL	Ligando del receptor activador del factor nuclear kappa B
RR	Riesgo relativo

SHBG	Proteína transportadora de hormonas sexuales
TRAP	Fosfatasa ácida tartrato resistente
TGF β	Factor de crecimiento transformante beta
TNF	Factor de necrosis tumoral
25 OHD	25 hidroxí-vitamina D

INTRODUCCIÓN

La osteoporosis y la diabetes mellitus son dos enfermedades de alta prevalencia que se asocian a un aumento del riesgo de fracturas por fragilidad, y con un sustancial impacto sobre la morbilidad y mortalidad de la población general. Aunque diversos estudios observacionales han investigado la asociación entre ambas, el mecanismo por el que la diabetes favorece la aparición de fracturas no se encuentra adecuadamente establecido. El descubrimiento de la vía Wnt, que estimula la diferenciación de precursores osteoblásticos, ha supuesto un avance reciente en el conocimiento de la homeostasis ósea. Así, el papel de esta vía de señalización y sus antagonistas puede ser crucial en la patogenia de las alteraciones de la calidad ósea observadas en la diabetes mellitus. En la introducción describimos los mecanismos celulares y moleculares responsables del remodelado óseo con especial atención a la vía Wnt, el osteocito y la proteína esclerostina. Asimismo, repasamos los datos existentes sobre el metabolismo óseo característico de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y, por último, justificamos la importancia del estudio de la vía Wnt a través de su antagonista endógeno esclerostina en los pacientes con DM2.

1. Metabolismo óseo y esclerostina

1.1. Remodelado óseo

1.1.1. Concepto de remodelado óseo

Por remodelado óseo se entiende el fenómeno de continua renovación al que está sometido el hueso. Este proceso implica la retirada de hueso antiguo y su sustitución por una matriz proteínica sintetizada *de novo*, con posterior mineralización de la misma para formar el hueso nuevo. El proceso de remodelado tiene lugar en las unidades básicas de remodelado (BMU), formadas por un grupo acoplado de osteoclastos y osteoblastos que secuencialmente realizan la resorción y formación óseas. La vida media de las BMU es de entre seis y nueve meses. Se calcula que en un determinado momento están activas entre 1,5 y 2 millones de estas unidades, no sólo en distintos lugares, sino en distintos momentos funcionales. Éstas renuevan al cabo del año un 3-4% del hueso cortical y un 25-30% del trabecular^{1,2}.

1.1.2. Ciclo de remodelado óseo

El ciclo de remodelado consta de cuatro fases secuenciales: activación, resorción, fase reversa y formación^{1,2}.

La activación implica el reclutamiento y activación de células mononucleares para formar preosteoclastos que se unen a la matriz ósea. El osteoclasto es una célula gigante multinucleada derivada de los precursores hematopoyéticos de la línea celular de los monocitos y especializada en la resorción ósea. La resorción dura de 2 a 4 semanas y comienza cuando los osteoclastos completamente diferenciados empiezan a segregar a la laguna de resorción

(zona de sellado formada entre el borde rugoso de su membrana y la matriz ósea) protones y enzimas proteolíticas para disolver el componente mineral y la matriz orgánica respectivamente. Durante la fase reversa se lleva a cabo el fenómeno conocido como acoplamiento o adecuación temporoespacial entre la acción de los osteoclastos y osteoblastos cuyos mecanismos no son bien conocidos. La fase de formación ósea tiene una duración aproximada de 4 a 6 meses, y en ella los osteoblastos derivados de las células madre mesenquimales sintetizan una nueva matriz orgánica de colágeno y regulan su posterior mineralización, transformándose después en osteocitos o células de revestimiento.

En el hueso trabecular el fenómeno tiene lugar en la superficie y el osteoclasto se desplaza de forma errática dando lugar a un hueco con forma de laguna (pero que no es la laguna de resorción). Cuando se rellena de hueso nuevo, las láminas adoptan una disposición semilunar, paralelas unas a otras. En el caso del hueso cortical la actuación celular tiene lugar en el seno del mismo, de modo que los osteoclastos labran una cavidad cilíndrica y los osteoblastos, al cerrarla, dan lugar a un cilindro de láminas concéntricas (sistema de Havers) que constituye la llamada osteona.

1.1.3. Funciones del remodelado óseo

Las principales funciones del proceso de remodelado óseo son el mantenimiento y adecuación de las características mecánicas del hueso mediante la sustitución del tejido óseo con lesiones de fatiga por tejido nuevo. También contribuye a la homeostasis mineral del organismo al proporcionar acceso a los almacenes de calcio y fósforo del esqueleto. Más recientemente se ha insistido en su utilidad para regular el equilibrio ácido-base, a través del comportamiento del hueso como una fuente de bicarbonato³. Asimismo, durante la resorción ósea se liberan factores de crecimiento y citocinas que pueden estar al servicio del normal funcionamiento de la médula ósea. En este

sentido, actualmente se da gran importancia a la relación entre la células óseas (principalmente el osteoblasto) y el nicho de células madre hematopoyéticas⁴.

1.1.4. Regulación del remodelado óseo

La regulación del proceso de remodelado es compleja ya que integra diversos factores mecánicos, hormonales y locales. Asimismo, el conocimiento cada vez mayor de las vías de señalización celular que regulan el funcionamiento del tejido óseo dota de mayor dificultad al conocimiento exacto de este proceso.

Factores mecánicos

El ejercicio físico tiene un efecto positivo sobre la masa ósea, que se reduce con la edad por el deterioro de las células mecanosensoras del hueso. Las fuerzas mecánicas inducidas sobre el hueso son detectadas por los osteocitos lo que se explicará con detalle más adelante⁵. Además, en modelos animales la carga mecánica se ha comprobado que estimula la transformación de las células del endostio en osteoblastos⁶.

Factores hormonales

La parathormona (PTH) estimula la secreción del ligando del receptor activador del factor nuclear kappa B (RANKL), factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF1) e interleucinas (IL) 6 y 11 por los osteoblastos, lo que activa la diferenciación y función osteoclástica⁷. Su administración continuada produce un aumento de la actividad osteoclástica, mientras que su administración intermitente tiene efectos osteoformadores. Otro efecto de la PTH es el aumento de la vida media de los osteocitos por disminución de su apoptosis⁸.

El calcitriol estimula la resorción ósea a través de su acción sobre los precursores osteoclásticos. Entre sus acciones se incluye el aumento de la

absorción intestinal de calcio, la inhibición de la secreción de PTH e interviene también en la mineralización ósea⁹.

La calcitonina *in vitro* inhibe la acción de los osteoclastos tras inducir un descenso en el número de receptores, aunque se desconoce la trascendencia biológica de esta acción¹⁰.

Los estrógenos y la testosterona desempeñan un importante papel tanto en el desarrollo como en el mantenimiento de la masa ósea. En la actualidad se sabe que las células óseas expresan receptores para estrógenos y testosterona independientemente del sexo. El efecto antirresortivo de los estrógenos es más potente, y aunque ambos esteroides estimulan la formación ósea, la testosterona influye fundamentalmente sobre osteoblastos maduros, mientras que los estrógenos regulan la actividad osteoblástica en distintas fases de su desarrollo¹¹. Las gonadotrofinas parecen actuar a nivel óseo de forma directa e independiente a la acción de los estrógenos destacando la hormona folículo-estimulante (FSH) que actúa mediante receptores específicos en las células óseas^{12, 13}.

Los glucocorticoides a dosis farmacológicas disminuyen la masa ósea y probablemente deterioran la calidad del hueso, alterando la función y el número de los osteoblastos. Esta inhibición osteoblástica en parte se debe a su efecto sobre el sistema Wnt y el sistema del receptor gamma activado por la proliferación de peroxisomas (PPAR γ). En las fases iniciales estimulan la actividad osteoclástica, por facilitar el predominio del RANKL sobre la osteoprotegerina (OPG). Por otra parte, inducen hiperparatiroidismo secundario, aumentan la calciuria e inhiben la secreción de hormonas sexuales¹⁴.

Factores locales

Numerosos factores locales, paracrinos y autocrinos, influyen en el proceso de remodelado¹⁵. Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Principales factores locales y sus acciones a nivel óseo.

Factor	Acciones a nivel óseo
IGF1	Estímulo de la replicación y activación de precursores osteoblásticos. Inhibición de la apoptosis de precursores osteoblásticos. Promueve la síntesis de la matriz ósea.
IGFBP 1-6	IGF-BP 4: Inhibición de la replicación y diferenciación osteoblástica. IGF-BP 5: Estímulo de la replicación y diferenciación osteoblástica.
IL1	Estímulo de los osteoclastos maduros.
IL3	Favorece la diferenciación de los precursores osteoclasticos.
IL4, 13 y 10	Participan en la maduración osteoclastica.
IL6	Acción sobre los precursores hematopoyéticos.
IL11	Estímulo de la producción de RANKL por los osteoblastos.
IL12 y 18	Promueve la formación de osteoclastos.
TGFβ	Inhibición de la apoptosis de los osteoblastos. Estímulo de la apoptosis de los osteoclastos. Estímulo la síntesis de OPG.
INFγ	Efecto inhibitor de la formación de los osteoclastos. Aumenta de la síntesis citoquinas (IL-18)
BMP	Favorece la diferenciación osteoblástica y de las células osteoprogenitoras.
NO	Mediador efecto anabólico de estrógenos. Participa en la respuesta mecánica del hueso. Inhibición osteoclastica.

IGF1: factor de crecimiento insulínico tipo 1; IGFBP: proteínas transportadoras del factor de crecimiento insulínico tipo 1; IL: interleucina; TGFβ: factor de crecimiento transformante beta; INFγ: interferón gamma; BMP: proteínas morfogenéticas óseas; NO: óxido nítrico.

1.1.5. Osteoclastogénesis

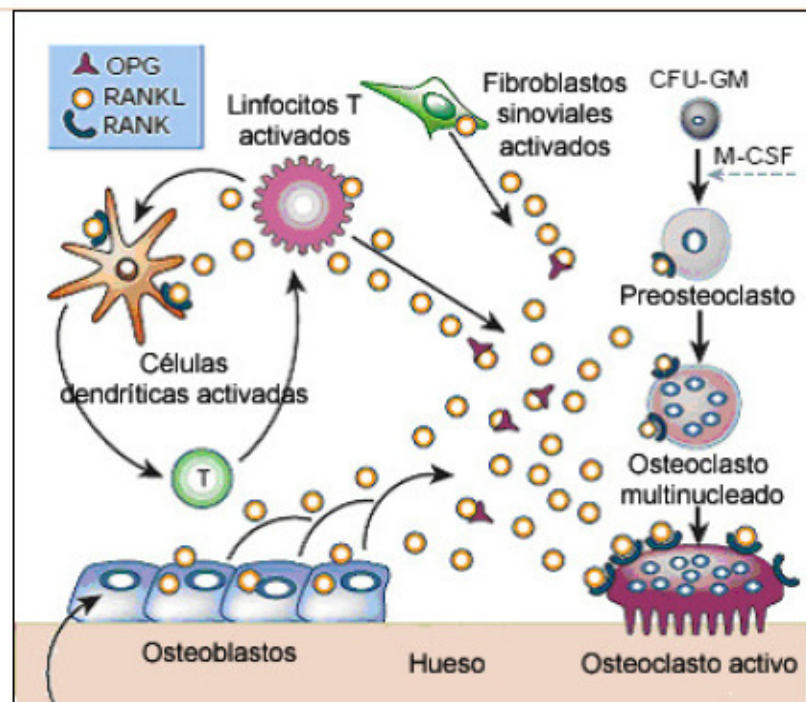
El osteoclasto es la célula que reabsorbe hueso y, como ya se ha mencionado, deriva de las células de estirpe hematopoyética. Para la osteoclastogénesis son fundamentales el factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF) y el RANKL¹⁶. Estas dos proteínas, que existen tanto en la forma que se fija a las membranas como en la soluble, son producidas por las células estromales de la médula y por los osteoblastos derivados de éstas, lo que hace que el reclutamiento fisiológico de osteoclastos a partir de sus precursores mononucleares necesite de la presencia de estas células no hematopoyéticas que residen en el hueso.

El primer paso de la osteoclastogénesis consiste en un proceso por el que los precursores de los osteoclastos se diferencian a preosteoclastos. Posteriormente, estas células adquieren el receptor c-Fms que da lugar a proliferación celular bajo el estímulo de M-CSF. Este estímulo activa las vías de señalización que inducen la supervivencia y proliferación de los precursores de los osteoclastos y determina la expresión del receptor activador del factor nuclear kappa B (RANK)¹⁶.

RANKL, que forma parte de la superfamilia de los factores de necrosis tumoral (TNF) es expresada por diversos tipos celulares, entre ellos los osteoblastos, células del estroma, células endoteliales y del sistema inmune. Su descubrimiento estuvo precedido por la identificación de su inhibidor fisiológico OPG a la que se une con gran afinidad y que está presente en distintos tejidos (sistema cardiovascular, pulmón, intestino, riñón). OPG también se expresa en varios tipos celulares (células hematopoyéticas y del sistema inmune), destacando los osteoblastos. Los efectos de RANKL son mediados por RANK, receptor de membrana altamente específico expresado por osteoclastos, células B y T¹⁷.

RANKL es el factor crítico que regula la formación, diferenciación y supervivencia de los osteoclastos. Así, si predomina la producción de RANKL por las células osteoblásticas se estimula la activación de osteoclastos y por tanto la resorción, mientras que si predominan los niveles de OPG sobre los de RANKL, OPG se une al RANKL disponible inhibiendo la resorción. La cascada de señalización que ocurre tras la unión de RANKL y RANK no se conoce en su totalidad, aunque se sabe que están implicados factores asociados al receptor de TNF y especialmente el 6¹⁷ (Figura 1.1).

Figura 1.1. Sistema OPG/RANKL/RANK (Adaptado de Boyle WJ, ref 16).



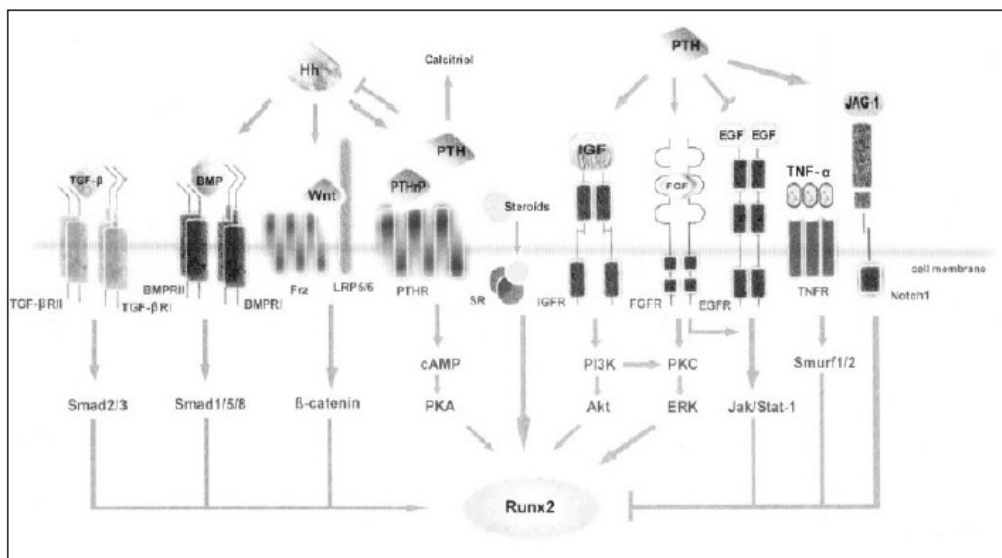
Numerosos factores influyen sobre el sistema OPG-RANKL. Asimismo se han evaluado los niveles de OPG y RANKL en distintas situaciones tanto fisiológicas como patológicas¹⁸.

1.1.6. Osteoblastogénesis

Los osteoblastos proceden de las células madres mesenquimales que tienen capacidad para diferenciarse en condrocitos, fibroblastos, adipocitos y miocitos. La diferenciación a tipos celulares específicos de algún tejido concreto está orquestada por diversas vías de señalización reguladoras de la transcripción¹⁹ (Figura 1.2).

Un punto de convergencia de la transducción de estas señales esencial para la diferenciación osteoblástica es la activación del factor de transcripción Runx2. En las etapas iniciales de la osteoblastogénesis destacan por su relevancia las proteínas morfogenéticas óseas (BMP) y las proteínas de la vía Wnt. Finalizada la proliferación, los preosteoblastos comienzan el proceso de maduración en el que sintetizan fosfatasa alcalina, colágeno I y proteínas no colágenas, convirtiéndose en osteoblastos activos. Éstos se dirigen a la superficie ósea, establecen regiones de formación de hueso nuevo con depósito de matriz ósea (osteoide) e inducen posteriormente su mineralización.

Figura 1.2. Vías de señalización reguladoras de la osteoblastogénesis.



Factor de transcripción Runx2

Runx2 es un regulador del crecimiento celular y la diferenciación de los osteoblastos que además, resulta clave para la maduración de los condrocitos, la mineralización del cartílago, la migración de células endoteliales y la invasión vascular. Los genes diana de Runx2 comprenden tanto los que contribuyen a la formación ósea (osteocalcina, osteopontina, sialoproteína ósea, receptor de TGF β) como los que regulan el metabolismo del hueso (colagenasa, OPG, RANKL)²⁰.

Proteínas morfogenéticas óseas (BMP)

Las BMP pertenecen a la superfamilia del factor de crecimiento transformante beta (TGF β), inducen la formación ósea durante el desarrollo esquelético y originalmente se relacionaron con la formación ectópica de hueso. En el tejido adulto, las BMP 2, 4 y 7 son potentes inductores de la osteoblastogénesis *in vivo* e *in vitro* que funcionan a través de un complejo de receptores específico cuya unión conlleva la fosforilación en el citoplasma de las proteínas Smad 1-5 y su asociación con Smad 4. El complejo formado se trasloca al núcleo para regular la expresión génica. La acción de las BMP está controlada por inhibidores Smad y por varios de sus antagonistas como la nogina y la cordina. También se ha demostrado que pueden estimular la resorción ósea y, como característica única, inducen la diferenciación de células del tejido conectivo a células osteoprogenitoras. En la actualidad se está investigando su utilidad terapéutica en la reparación de fracturas²¹.

Vía de señalización Wnt

La relevancia de las proteínas Wnt en la regulación de la osteoblastogénesis es similar al papel ejercido por el sistema OPG/RANKL en la osteoclastogénesis. La acción de las proteínas Wnt y su vía de señalización median genéticamente la proliferación celular y el incremento de la actividad osteoblástica²².

1.2. Vía de señalización celular Wnt

1.2.1. Descubrimiento y funciones de la vía Wnt

Las bases para la investigación de esta vía se iniciaron a finales de la década de los 80 y finales de los 90 cuando se descubrió que los genes de la mosca *Drosophila* Wingless (Wg) y el ratón Int1 (Int1) eran reguladores de una gran familia de moléculas de señalización conservada evolutivamente. El nombre Wnt deriva de la combinación de las palabras Wingless e Int1²³.

La vía de señalización celular Wnt es esencial para el desarrollo embrionario de todas las especies animales estudiadas hasta el momento así como en la regulación posterior de diversos tejidos y órganos. Controla la proliferación y diferenciación celular y el mantenimiento de las células madre, así como los movimientos celulares y el establecimiento de la polaridad tisular. Su disfunción se relaciona con la carcinogénesis y se ha implicado en la patogenia de diversas enfermedades degenerativas. Hoy en día constituye un objetivo potencial para la intervención terapéutica sobre todo en los campos de la medicina regenerativa y de las células madre²³.

Como puede deducirse de su participación en una amplia variedad de procesos biológicos, la señalización de la vía Wnt es inherentemente compleja. En términos generales, esta complejidad se puede atribuir a dos grandes aspectos. En primer lugar, tanto los ligandos como los receptores implicados pertenecen a grandes familias de proteínas derivadas de múltiples genes lo que permite una amplia posibilidad en las interacciones ligando-receptor. En segundo lugar, estas interacciones producen diversas respuestas intracelulares interrelacionadas entre sí²⁴.

1.2.2. Efectos a nivel óseo

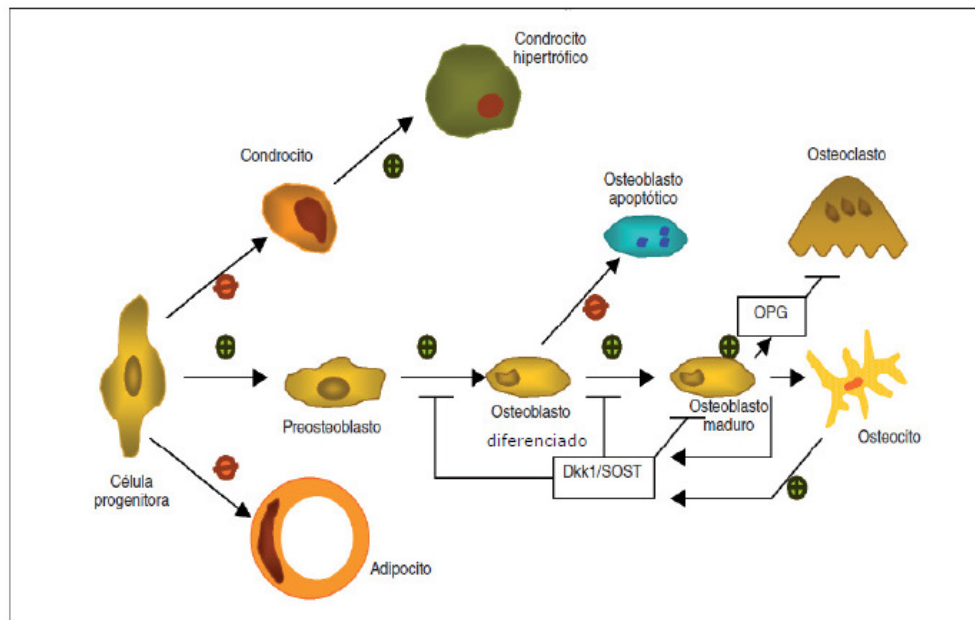
Los datos disponibles indican que las proteínas Wnt ejercen diversas funciones en la génesis del esqueleto, que van desde la definición de patrones del esqueleto embrionario hasta el remodelado del esqueleto adulto, pasando por el desarrollo del esqueleto fetal. En el esqueleto adulto, las células madre mesenquimales se diferencian a células osteoprogenitoras bajo condiciones adecuadas. La vía canónica de señalización Wnt favorece la línea celular osteoblastogénica mediante el estímulo de la proliferación, diferenciación y maduración del osteoblasto a través de la inducción de los factores de transcripción osteogénicos. Además, inhibe la diferenciación del condrocito y del adipocito desde las células progenitoras. Asimismo regula la apoptosis tanto de los osteoprogenitores indiferenciados como de los osteoblastos diferenciados²⁵.

Los datos recientes *in vitro* e *in vivo* confirman que las proteínas Wnt inducen la producción de OPG por el osteoblasto inhibiendo la diferenciación del osteoclasto y la resorción ósea. Por tanto, la vía Wnt parece controlar indirectamente la osteoclastogénesis a través de sus efectos sobre los osteoblastos^{26, 27}. Las observaciones sobre la relación con el sistema OPG/RANKL no sólo pueden ser relevantes en la osteoporosis sino también en las lesiones óseas asociadas a tumores y en diversas enfermedades osteoarticulares.

El sistema Wnt parece actuar como estimulador o inhibidor en diferentes estadios de la diferenciación osteoblástica. Los resultados de los experimentos *in vitro* que han evaluado la acción de las proteínas de este sistema sobre la osteogénesis siguen siendo contradictorios²⁸. Lo más probable es que este hecho refleje diversas funciones de las proteínas Wnt en las distintas etapas del proceso de formación ósea, predominando, no obstante, el mantenimiento de la autorrenovación y diferenciación de las células precursoras mesenquimatosas.

En la figura 1.3. se resumen los principales efectos óseos de la vía Wnt.

Figura 1.3. Efectos a nivel óseo de la vía Wnt (Adaptado de Escobar-Gómez F et al, ref 30).



1.2.3. Vías intracelulares

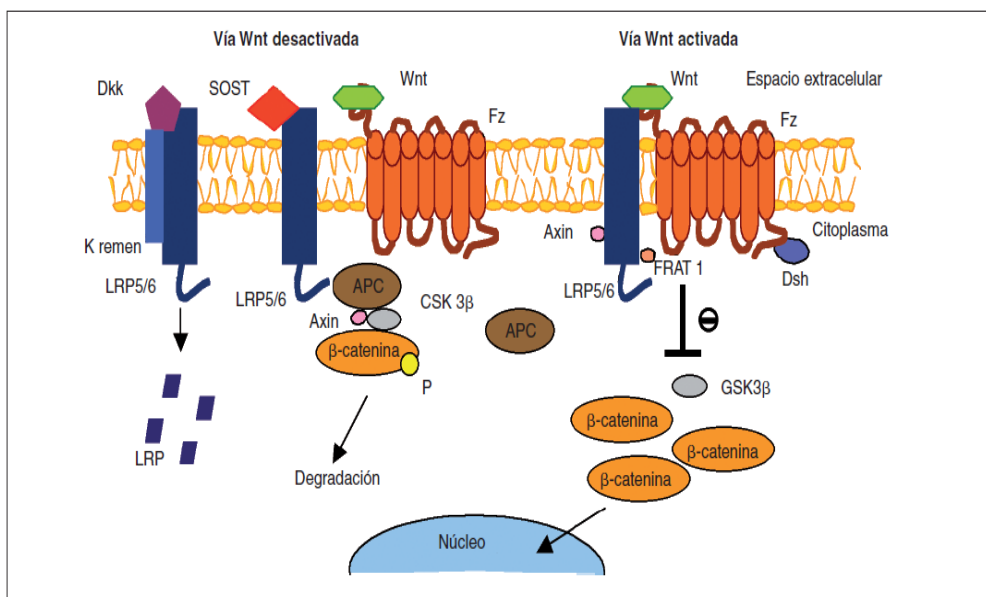
La unión de las proteínas Wnt con su receptor puede activar diferentes vías intracelulares siendo la más conocida la denominada canónica^{29, 30}. Esta cascada de señales se pone en marcha con la unión de los ligandos Wnt a un complejo receptor que engloba al receptor Frizzled (Fz) compuesto por siete dominios transmembrana y las proteínas relacionadas con el receptor de la lipoproteína de baja densidad 5 o 6 (LRP5/6).

La vía canónica Wnt tiene como finalidad permitir que en el citoplasma se mantengan niveles adecuados de la proteína β -catenina. Con su activación, la β -catenina citoplasmática se estabiliza, se trasloca al núcleo y activa la transcripción de genes diana a través de complejos formados por los factores de transcripción TCF/Lef1. En ausencia de ligandos Wnt, la β -catenina se une a

la Axin, a la APC1 (adenomatous polyposis coli) y a la casein quinasa I (CKI) constituyendo el denominado complejo de destrucción. En el mismo es fosforilada, principalmente por la enzima glucógeno-sintetasa-quinasa (GSK3 β), para su degradación posterior en el proteosoma. En presencia de ligandos Wnt este complejo se disocia y la enzima GSK3 β no puede fosforilar a la β -catenina permitiendo que se alcancen niveles estables en el citoplasma para su paso al núcleo celular.

La activación de esta vía es la que da lugar principalmente a los efectos anabólicos a nivel óseo que ya hemos mencionado. La figura 1.4. muestra la vía canónica Wnt y sus principales componentes.

Figura 1.4. Vía canónica Wnt (Adaptado de Escobar-Gómez F et al, ref 30).



Por otro lado, la unión de Wnt al receptor tirosin-quinasa Ror2 puede inhibir la señalización β -catenina/TCF y activar la vía Jnk mediante mecanismos no bien establecidos y el receptor Fz está implicado en el establecimiento de la polaridad celular planar (PCP) y en el control de la migración celular polarizada. En la vía PCP, también conocida como no canónica, se cree que median otros

mensajeros intermedios distintos a la β -catenina que incluyen a Dvl, pequeñas GTPasas, Rho y Jnk. Además, la interacción de las proteínas Wnt con el receptor Fz en algunos casos puede inducir flujos de calcio. Se ha demostrado también que las proteínas Wnt se unen al receptor tirosin-quinasa Ryk sobre todo en el contexto del desarrollo neuronal, resultando la activación intracelular de las proteínas Src²³.

En la traducción de señales iniciada por las proteínas Wnt existen numerosos mecanismos de retroalimentación entre las distintas cascadas desencadenadas aportando complejidad al proceso de la transcripción génica²⁴.

1.2.4. Principales componentes de la vía canónica Wnt

La familia Wnt está constituida por 19 glicoproteínas, aunque no se dilucidado aún el papel concreto de cada una de ellas en el proceso de osteoblastogénesis²². La Wnt7b expresada junto a la Wnt10b en las células de la médula ósea parece iniciar la vía canónica. Además Wnt1, Wnt4 y Wnt14 son expresadas por los osteoblastos y Wnt1 y Wnt3a, inducidas por la BMP2 en las células mesenquimales, contribuyen a la activación de la vía. Wnt10b también actúa inhibiendo la adipogénesis mientras que Wnt5b parece incrementarla y se requiere la Wnt3a para la prevención de la apoptosis de los osteoblastos y osteocitos. Esta última parece estimular además la síntesis de OPG por el osteoblasto.

Los receptores LRP5 y LRP6 son proteínas de la superficie celular que pertenecen a la familia de receptores relacionados con LDL (LDLR)^{29, 30}. A diferencia de otros miembros de la familia LDLR los receptores LRP5/6 no internalizan los ligandos mediante endocitosis pero se unen a las proteínas Wnt. La diferencia esencial entre ambos es que LRP6 es necesario también para el correcto desarrollo embrionario. Estos receptores constituyen un módulo de seis caras a las que se unen las proteínas Wnt y esclerostina, y

Dkk1. El receptor transmembrana Kremen (Krm) potencia la acción de las proteínas Dickkopf (Dkk) cuando se une con el receptor LRP5/6. En el extremo intracelular del complejo receptor se reclutan otras proteínas como la Wnt Dishevelled (Dsh) y los factores Axin, Frat1 y APC para el control intracelular de la vía de señalización.

La enzima GSK3 β es una quinasa serina/treonina multifuncional presente en todas las células eucariotas. Es clave en numerosas vías de señalización que incluye no sólo la vía Wnt, destacando por su relevancia los receptores tirosinquinasa y los receptores acoplados a proteína G, y está involucrada en procesos celulares que van desde el metabolismo del glucógeno a la regulación del ciclo y proliferación celular. Su aumento se ha relacionado con patologías como la enfermedad de Alzheimer y la diabetes mellitus tipo 2³¹.

La β -catenina es una proteína codificada por el gen *CTNNB1* e incluida en el complejo proteico cadherina responsable de la adhesión y formación del citoesqueleto celulares. Su papel central en la vía Wnt se asocia con la proliferación y diferenciación celular mediante la interacción en el núcleo con factores de transcripción génicos como *Lef/Tcf*³².

De manera similar a como la OPG neutraliza la acción del RANKL, diversos factores inhiben la vía Wnt. Las proteínas relacionadas con el receptor Frizzled (FRPs) se unen a sus proteínas Wnt a través de una secuencia rica en cisteína similar al dominio extracelular del receptor Frizzled evitando la interacción entre las proteínas Wnt y éste. Por otro lado, las proteínas Dkk y esclerostina se unen al LRP 5/6²⁹.

Existen cuatro glicoproteínas Dkk (Dkk1-4) que comparten dos dominios ricos en cisteína en los extremos amino y carboxiterminales. Dkk1, 2 y 4 interactúan con LRP5/6 participando en la vía Wnt. Dkk1 y 2 también se unen al receptor transmembrana Krm para su fusión con el receptor LRP5/6 potenciando la capacidad inhibitoria de Dkk ya que el complejo es rápidamente internalizado

hacia el citoplasma celular. Cuando el receptor Krm no participa, el receptor LRP5/6 no se internaliza pero sí se inhibe, aunque con menor intensidad y durante menos tiempo³⁰. La expresión de Dkk1 en células tumorales circulantes y los niveles séricos de Dkk1 se han correlacionado con las lesiones líticas en el mieloma múltiple o el cáncer de próstata^{33, 34}.

1.2.5. Posibilidades terapéuticas

El importante papel de la vía Wnt en el control de la formación ósea la convierte en una potencial diana terapéutica³⁵. Se pueden plantear dos estrategias: potenciar los agonistas o bloquear sus antagonistas naturales. No obstante, las proteínas Wnt recombinantes son difíciles de obtener y purificarlas conlleva un coste económico elevado. En cambio, inhibir sus antagonistas parece más factible.

En la actualidad se están investigando pequeñas moléculas que inactivan enzimas intracelulares (principalmente GSK3 β) con lo que se reduce la actividad de la β -catenina. El litio es un inhibidor conocido de la enzima GSK3 β que estimula la diferenciación osteoblástica *in vitro* y la regeneración ósea *in vivo*. Así, en los pacientes con trastorno bipolar tratados con litio los estudios epidemiológicos sugieren menor riesgo de fractura³⁶. Aunque existen moléculas específicas inhibidoras de la GSK3 β que han demostrado aumentar la masa ósea aún deben investigarse los potenciales efectos de carcinogénesis debido a la ubicuidad de la vía Wnt y de esta enzima³⁷.

Los anticuerpos neutralizantes frente a Dkk1 han mostrado efectos positivos sobre la densidad mineral ósea en modelos animales aunque los estudios aún se encuentran en fases tempranas y la expresión de Dkk1 en múltiples tejidos podría restarle eficacia y seguridad a nivel óseo³⁸. Los estudios sobre anticuerpos frente a esclerostina son los que se encuentran en fases más avanzadas con prometedores resultados³⁹⁻⁴¹.

1.3. Osteocito

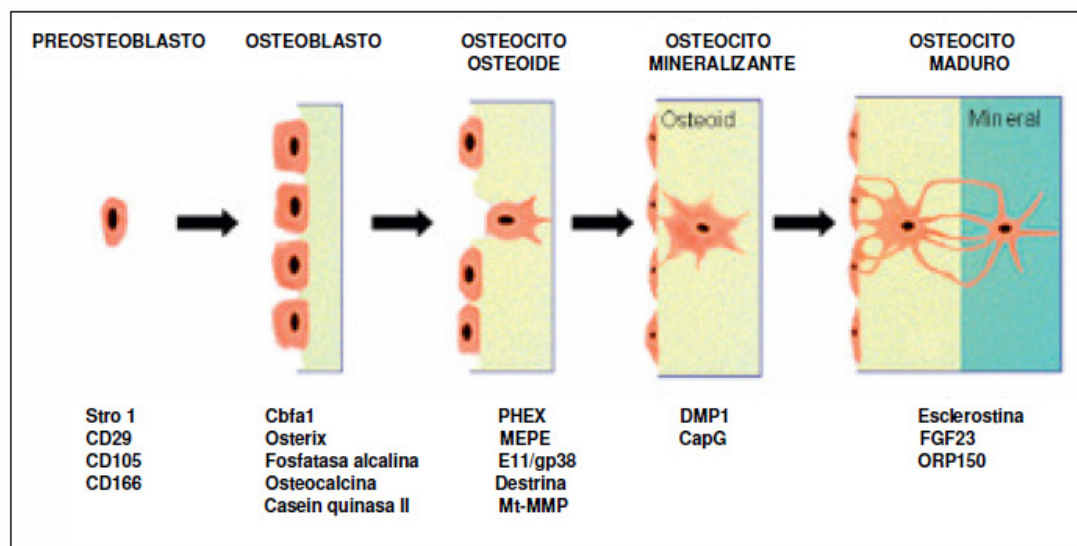
1.3.1. Génesis y características celulares

Los osteocitos son osteoblastos diferenciados durante el proceso de remodelado. En el esqueleto adulto representan el 90-95% de todas las células óseas, frente al 4-6% representado por osteoblastos y 1-2% por osteoclastos. Sus características morfológicas distintivas son el emplazamiento de cada uno de ellos en lagunas dentro de la matriz mineralizada y las numerosas prolongaciones citoplasmáticas que se encuentran en los canalículos. Los canalículos y las conexiones citoplasmáticas con las células adyacentes ayudan a garantizar su viabilidad a medida que el osteoide se va mineralizando y deja la matriz extracelular impermeable⁴².

Por un mecanismo no claramente establecido algunos osteoblastos se internalizan en el osteoide y comienza a extender proyecciones dendríticas transformándose en osteocitos osteoides, en este proceso parece jugar un importante papel la molécula E11/gp38 y la metaloproteína MT1 (MT1-MMP). Éstos ya no sintetizan fosfatasa alcalina pero sí osteocalcina y expresan Phex, MEPE y DMP1, proteínas reguladoras de la biomineralización. El osteocito maduro es el que se encuentra situado dentro de la matriz mineralizada y está en comunicación directa con otros osteocitos y con los osteoblastos superficiales. Los osteocitos se encuentran acoplados metabólicamente y eléctricamente mediante complejos proteicos de unión gap principalmente compuestos por conexina 43. La formación de las uniones gap es esencial para su maduración, actividad y supervivencia. Estas células expresan ORP150, que se encarga de preservar la viabilidad de la célula en ambientes hipóxicos, factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF23) y esclerostina. Sorprendentemente, los osteocitos pueden expresar marcadores de los osteoclastos como la fosfatasa ácida y la catepsina K bajo ciertas condiciones como la lactancia y el remodelado de su matriz perilacunar⁴³.

En la figura 1.5. se muestran las fases y expresión de marcadores del paso de osteoblasto a osteocito.

Figura 1.5. Génesis del osteocito (Adaptado de Bonewald LF, ref 42)



Los osteocitos pueden permanecer durante mucho tiempo, incluso décadas, en el esqueleto sano. En el hueso envejecido se observan algunas lagunas vacías que sugieren muerte celular. Aunque la apoptosis es importante para el desarrollo, crecimiento y mantenimiento del esqueleto, un aumento en la tasa de apoptosis de osteocitos se asocia a condiciones patológicas como la osteoporosis donde existe una menor resistencia ósea. Esta mayor fragilidad ósea se debe a una menor detección de microdaños y, en consecuencia, menor producción de señales de reparación. La hipoxia que acontece en la inmovilización ha demostrado favorecer la apoptosis de los osteocitos al igual que el tratamiento con glucocorticoides y la deficiencia estrogénica⁴⁴⁻⁴⁶.

Además de someterse a la muerte celular programada, los osteocitos pueden sufrir un proceso denominado autofagia de autopreservación, que constituye una respuesta característica a la acción de los glucocorticoides. Este proceso supone preservar su viabilidad aunque puede alternativamente conllevar pérdida de funcionalidad o llevar finalmente a la muerte celular⁴⁷.

1.3.2. Funciones

Históricamente se consideraba que la principal función del osteocito era de carácter mecanosensor, es decir, transductor de señales de tensión, aunque en la última década se ha producido un amplio conocimiento molecular que ha permitido confirmar su papel a otros niveles. Esta célula actúa como regulador del remodelado óseo a través de sus conexiones con osteoclastos y osteoblastos, interviene en el metabolismo del fosfato y sintetiza o elimina matriz perilacunar. Asimismo, es fuente de factores solubles que no sólo actúan en las células diana de la superficie ósea sino en otros órganos por lo que también se ha propuesto una función endocrina⁴².

Función mecanosensora

Las cargas que se originan de la actividad física generan distensión en el tejido óseo, presión de la cavidad intramedular y ondas de presión y fuerzas de cizalla a las que el hueso responde. Los osteocitos son las células óseas que detectan los cambios en la carga mecánica del hueso mediante un sistema mecanosensor no bien conocido, capaz de regular la cantidad de masa ósea en función, por una parte, de la sobrecarga mecánica detectada, y, por otra, de las necesidades de resistencia del momento.

La hipótesis más aceptada es que el cambio en la presión soportada por el hueso se traduciría en el flujo del líquido canalicular que el osteocito detectaría a través del desplazamiento y tracción de su membrana por los filamentos que la unen con la pared del canalículo⁴⁸. Asimismo existen diversas formas de detección de la carga mecánica, en función de la localización de los filamentos: el cuerpo, las prolongaciones dendríticas o los cilios. En estos últimos, no media el calcio intracelular como respuesta al flujo del líquido canalicular⁴⁹.

La distensión de la membrana celular puede estimular canales catiónicos capaces de promover un aumento del calcio intracelular al facilitar el paso de calcio a su través y al activar canales de calcio dependientes de voltaje. Los diferentes estímulos referidos se acaban traduciendo en la activación de distintas vías de señalización. Además es posible que la membrana envíe señales al núcleo directamente, a través del citoesqueleto⁵⁰.

En consecuencia a la carga mecánica se liberan mediadores por parte de los osteocitos como el óxido nítrico (NO) y las prostaglandinas. El NO inhibe la resorción y promueve la formación ósea⁵¹. *In vivo*, las prostaglandinas inducen formación ósea y la indometacina bloquea los efectos anabólicos de la carga⁵².

Existen también otras células del hueso que son capaces de responder a señales mecánicas. Así, se ha postulado que las células de revestimiento juegan una importante función mecanosensora poco conocida. También se ha demostrado que las células estromales modifican su velocidad de proliferación y expresión génica como respuesta a la estimulación mecánica, y que el osteoclasto responde a las señales mecánicas⁵³. Asimismo es posible que las células endoteliales y del músculo liso contribuyan a la respuesta adaptativa del esqueleto a las cargas⁵⁴. No obstante, la morfología tridimensional del sincitio de osteocitos es la configuración ideal para percibir y amplificar los estímulos biofísicos mediante las vías de comunicación química y eléctrica de los canalículos interconectados.

Regulación del remodelado óseo

Los osteocitos, en parte a través del contacto celular directo a través del entramado que forman sus prolongaciones, y en parte por la producción de factores solubles, regulan tanto la función de los osteoclastos como de los osteoblastos⁵⁵.

Ante la presencia o ausencia de determinados estímulos mecánicos, los osteocitos determinarían la activación de los osteoclastos, y con ello la puesta en marcha de las unidades de remodelado. La expresión de RANKL en los

procesos dendríticos de los osteocitos sanos y en los cuerpos apoptóticos liberados en las zonas dañadas con microfracturas podría ser el factor responsable principal. Cuando la muerte se produce por necrosis las señales enviadas son diferentes pero también conllevan una activación osteoclástica. Al mismo tiempo, los osteocitos sintetizan OPG.

Por otra parte, los osteocitos pueden enviar a los osteoblastos señales para que detengan su actividad osteoformadora. El factor humoral más conocido que vincula los osteocitos a los osteoblastos es la esclerostina, inhibidor de la vía Wnt. Asimismo, se ha observado que la línea celular osteocítica MLO-Y4 bajo determinadas condiciones apoya la diferenciación osteoblástica y de las células madre mesenquimales⁵⁶.

Regulación del metabolismo mineral y función endocrina

Diversas proteínas expresadas del osteocitos como FGF23, DMP-1, MEPE o esclerostina intervienen en el metabolismo mineral, principalmente del fosfato. Cabe destacar la función del FGF23 que regula la reabsorción de fosfato a nivel renal y cuya expresión genética es inhibida por DMP-1 y Phex. En ausencia de estos últimos, FGF23 se eleva en el osteocito y en la circulación favoreciendo la excreción renal de fosfato e induciendo osteomalacia y raquitismo. Asimismo este factor se encuentra aumentado en la enfermedad renal crónica y se asocia a la progresión de la misma, las calcificaciones y la mortalidad cardiovascular de estos pacientes. Basándose en estos hallazgos, se ha propuesto que la red de osteocitos puede funcionar como un sistema endocrino que actúa sobre órganos distales como el riñón⁵⁷.

Remodelado de la matriz perilacunar

El término acuñado por Belanger de osteolisis osteocítica refiere la capacidad de los osteocitos de eliminar matriz ósea mineralizada en respuesta a las necesidades sistémicas de iones⁵⁸. Asimismo existen trabajos que apoyan la hipótesis de que pueden formar nueva matriz perilacunar. Estas observaciones

sugieren que los osteocitos sanos pueden añadir o eliminar minerales de las lagunas o canalículos.

1.3.3. Relación con la vía Wnt

Por un lado, los reguladores negativos de la vía canónica Wnt, Dkk1 y esclerostina, son producidos por el osteocito. El primero también se expresa en otras localizaciones pero el segundo es sintetizado principalmente por los osteocitos. La inhibición de los mismos conlleva un ambiente óseo en el que actúan las proteínas Wnt facilitando la osteogénesis.

Por otro lado, la carga mecánica activa a la vía Wnt en el osteocito y también a otras vías de señalización como la de las prostaglandinas y los estrógenos, que interactúan a su vez con la vía Wnt regulando de esta forma la funcionalidad celular.

La activación de la vía Wnt en el osteocito conlleva un aumento de la expresión de las proteínas Wnt, la OPG y las proteínas de las uniones gap y un descenso en la expresión de Dkk1, esclerostina y RANKL. Asimismo inhibe la apoptosis y mejora la viabilidad celular⁵⁹.

Además, la prostaglandina E2 (PGE2), liberada ante los estímulos mecánicos y mediadora de los mecanismos de protección ósea frente a la apoptosis de los osteocitos inducida por los glucocorticoides, activa las vías de señalización por las que se frena a la enzima GSK3⁶⁰. Por último, los estrógenos regulan la masa ósea en parte por la vía Wnt a través del receptor α que interviene en el transporte al núcleo de la β -catenina en respuesta a la tensión mecánica del osteocito⁶¹.

1.4. Esclerostina

1.4.1. Descubrimiento y síntesis

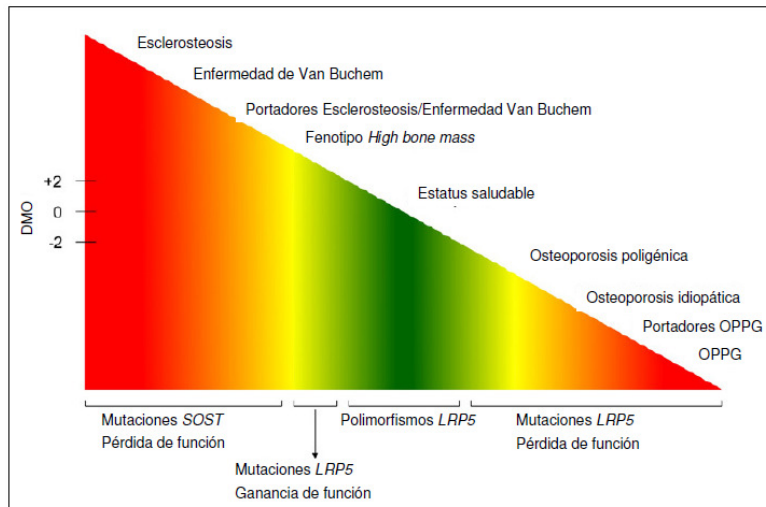
A partir del estudio genético y molecular de dos displasias esclerosantes poco frecuentes, la esclerosteosis y la enfermedad de Van Buchem, se describió en 2001 la proteína esclerostina.

La esclerosteosis, una enfermedad autosómica recesiva descrita por primera vez en 1958, se caracteriza por un progresivo engrosamiento óseo con sindactilia, talla alta y agrandamiento del cráneo. La enfermedad de Van Buchem es otro defecto autosómico recesivo similar de gravedad menor y en la que no se presentan los hallazgos de sindactilia y talla alta⁶². En ambos procesos se observa una importante hiperostosis endostal con incremento de osteoblastos activos y osteoide adecuadamente mineralizado. A pesar de las marcadas anomalías óseas es notable el hecho de que los individuos afectados no presentan un riesgo aumentado de fracturas⁶³.

El defecto genético que produce la esclerosteosis ha sido identificado como mutaciones con pérdida de función del gen denominado *SOST*, localizado en el cromosoma 17q12-21 y encargado de la codificación de la proteína esclerostina⁶⁴. En la enfermedad de Van Buchem se produce una delección de este gen. El resultado es la ausencia o disminución de la expresión génica de esclerostina respectivamente, lo que condiciona diversos fenotipos óseos en función de la densidad mineral ósea⁶⁵. Por otro lado, las mutaciones en el gen *LRP5* conllevan baja masa ósea.

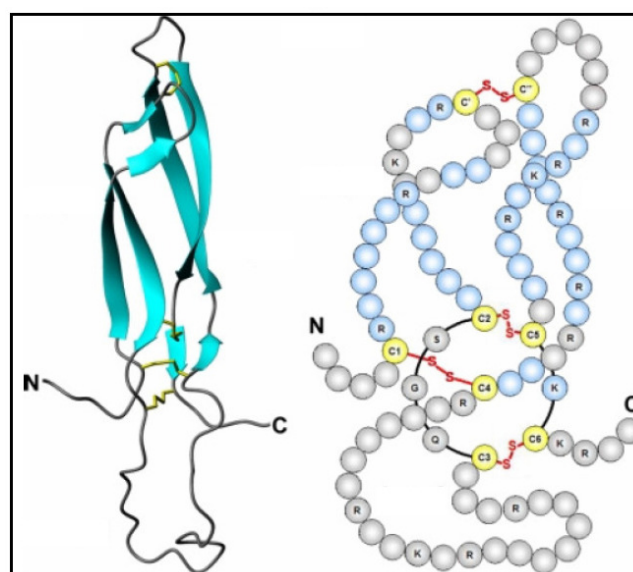
En la figura 1.6. se muestran los fenotipos y displasias óseas según la expresión de *SOST* y *LRP5*.

Figura 1.6. Fenotipos óseos según expresión de SOST y LRP5.



La esclerostina es una glicoproteína de 190 aminoácidos miembro de la familia proteica DAN a la que también pertenecen las proteínas que se unen e inhiben a las BMPs. Asimismo, comparte similitudes estructurales con otro antagonista de la vía Wnt, Wise. En su estructura se distinguen cuatro enlaces de cisteína responsables de su orientación espacial⁶⁶. En la figura 1.7 se muestra la estructura de la proteína esclerostina.

Figura 1.7. Estructura proteica de esclerostina (Adaptado de Veverka V, ref 66).



En ratas adultas y en tejido óseo humano la expresión de esclerostina está restringida a los osteocitos mientras que no se expresa en osteoblastos, osteoclastos ni en las células de revestimiento⁶⁷. También se ha detectado su expresión génica en riñón, hígado, placenta y cartílago, aunque no se ha aislado la proteína como tal. El significado fisiológico de este hallazgo está aún por determinar.

La esclerostina se libera a la circulación siendo posible la determinación de sus niveles en suero gracias al desarrollo de varios ensayos⁶⁸. Al mismo tiempo, existe una fuerte correlación entre el contenido óseo de esclerostina y los niveles circulantes lo que indica la producción exclusiva de esta proteína a nivel óseo y la fiabilidad de su medición en suero⁶⁹.

De esta forma, en la actualidad cada vez se publican más trabajos clínicos centrados en el análisis de la concentración sérica de esclerostina en diversas situaciones clínicas, los factores que influyen en la misma, su asociación con el metabolismo óseo o los cambios inducidos por los tratamientos para la osteoporosis.

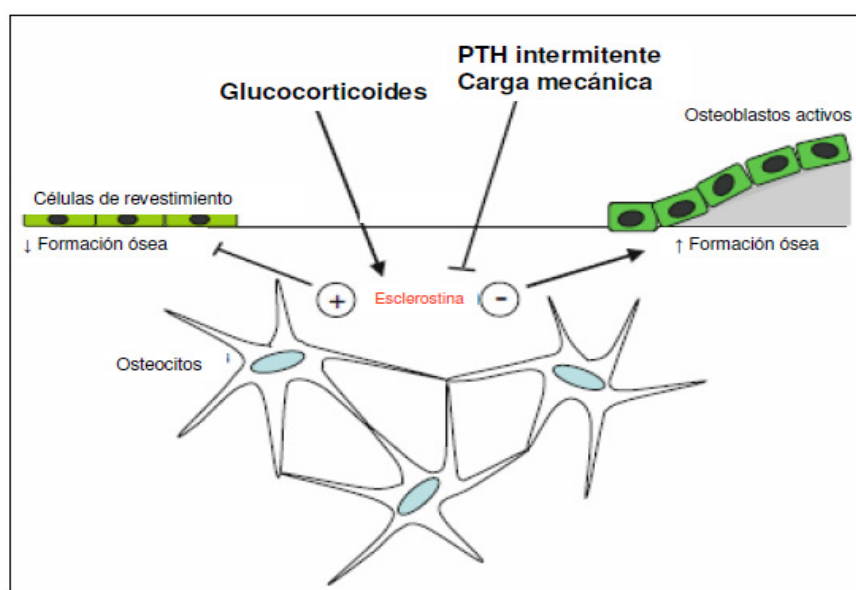
1.4.2. Funciones y regulación

La expresión de esclerostina por los osteocitos al inicio del proceso de mineralización de la sustancia osteoide actuaría como señal de retroalimentación negativa sobre los osteoblastos para prevenir la sobrecarga de las unidades de remodelado⁷⁰. A nivel celular, la esclerostina se une a los receptores LRP5/6 LRP6 induciendo un bloqueo de la señalización Wnt, proceso que determina la inhibición de la diferenciación, proliferación y actividad de línea osteoblástica como ya se ha explicado⁷¹. Por otro lado, la esclerostina es un cofactor que antagoniza la vía de las BMPs, no de forma directa sino a través de su acción sobre la vía Wnt⁷².

Los estudios en modelos animales apoyan el concepto de la mediación del sistema *SOST*/esclerostina en la regulación mecánica del tejido óseo. Consistente con esta hipótesis se ha observado que la carga mecánica disminuye la expresión de *SOST* y los niveles de esclerostina *in vivo*⁷³. Además se ha observado que el tejido fibroso de fracturas con defectos de consolidación presenta una expresión disminuida de esclerostina y BMPs. Estos hallazgos sugieren que un correcto balance entre esclerostina y BMPs es importante para una consolidación óptima de fracturas⁷⁴.

Varios factores locales y sistémicos actúan como reguladores de la expresión del sistema *SOST*/esclerostina en los osteocitos como se muestra en la figura 1.8. La PTH ejerce una acción inhibitoria sobre la expresión génica de *SOST* y parte de sus efectos anabólicos óseos podrían ser mediados por la disminución de esclerostina⁷⁵. La vitamina D3 sola o en combinación con ácido retinoico incrementa la expresión de *SOST* en células osteoblásticas humanas *in vitro*⁷⁶. Los glucocorticoides inducen una supresión de la vía de señalización Wnt mediante el incremento de esclerostina⁷⁷. Las BMP2, 4 y 6 han demostrado estimular la expresión de *SOST* en células osteoblásticas *in vitro*⁷⁸.

Figura 1.8. Factores reguladores de esclerostina (Adaptado de Moester MJ, ref 67)



1.4.3. Posibilidades terapéuticas

El reconocimiento del papel de la esclerostina en los procesos fisiológicos y patológicos que involucran al remodelado óseo ha abierto una nueva área para el desarrollo de estrategias en la terapéutica de las enfermedades metabólicas óseas. Dado que la esclerostina es una proteína que se secreta al compartimiento intersticial e intravascular, un enfoque consiste en su bloqueo mediante anticuerpos monoclonales específicos que inhiban su actividad biológica.

En estudios preclínicos, los anticuerpos monoclonales frente a esclerostina han demostrado producir un incremento de densidad mineral ósea (DMO), volumen óseo y resistencia ósea en modelos de ratas ovariectomizadas³⁹ y primates⁴⁰. Considerados en conjunto, los hallazgos preclínicos son consistentes con un importante efecto anabólico óseo de la terapia anti-esclerostina, apoyando la hipótesis de su potencial utilidad clínica en la terapéutica de la osteoporosis.

Al menos tres compañías farmacéuticas están desarrollando anticuerpos monoclonales frente a esclerostina y una compañía está estudiando otra molécula anti-esclerostina. De estos compuestos, el anticuerpo denominado AMG 785 se encuentra en una fase más avanzada de desarrollo con ensayos clínicos en fase II actualmente⁴¹.

No obstante, son necesarios más estudios para evaluar los aspectos de mayor trascendencia clínica como la seguridad a largo plazo, impacto sobre la incidencia y consolidación de las fracturas y la reparación ósea tras intervenciones quirúrgicas.

2. Metabolismo óseo en la diabetes mellitus tipo 2

En la mayoría de los estudios epidemiológicos realizados en pacientes con diabetes tipo 2 (DM2) se ha demostrado un aumento de la DMO⁷⁹, a pesar de lo cual existe un riesgo de fractura incrementado de 1,5 para fractura de cadera, húmero proximal y radio distal⁸⁰. En cuanto al riesgo de fractura vertebral los resultados son menos uniformes aunque la mayoría de los estudios también muestran un aumento del riesgo^{81, 82}. Ante estos resultados parece que la DMO es un marcador subrogado relativamente pobre para definir la estructura ósea en la diabetes.

2.1. Patogenia de fragilidad ósea en diabetes mellitus tipo 2

Los mecanismos exactos de la fragilidad ósea en la diabetes pueden diferir, al menos en parte, entre la DM1 y la DM2. No obstante, en ambas enfermedades se altera el proceso dinámico del remodelado óseo y sus vías de regulación lo que conlleva una resistencia ósea reducida y un aumento del riesgo de fracturas⁸³.

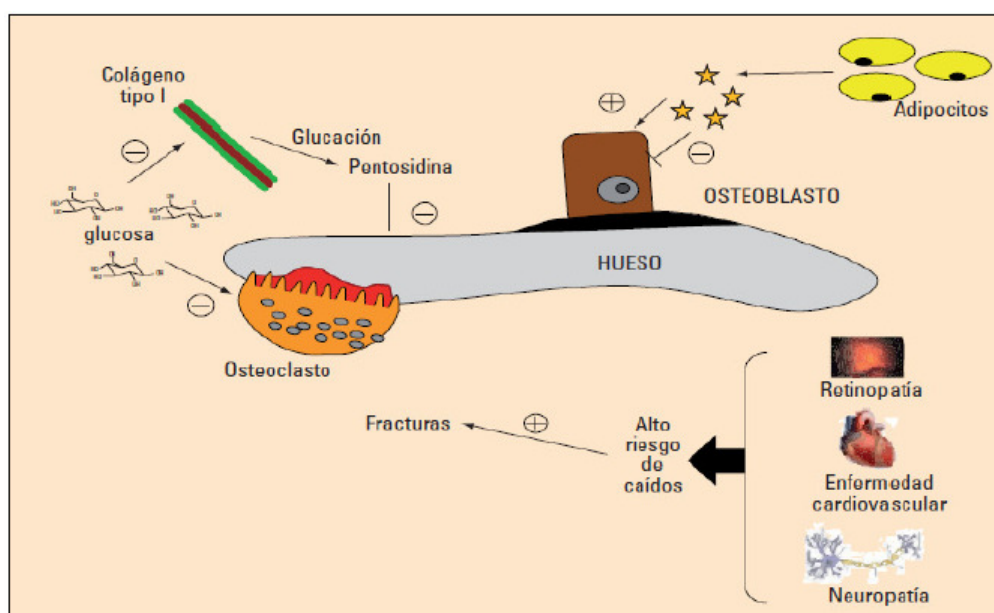
Diversos estudios que evaluaron la incidencia de fracturas apoyan la hipótesis de la existencia de un efecto bifásico de la diabetes sobre la resistencia ósea y el riesgo de fracturas⁸⁴. En los pacientes con intolerancia hidrocarbonada y diagnóstico reciente de DM2 predominaría un efecto positivo o protector mediado por la hiperinsulinemia y la obesidad. Posteriormente, con el progresivo deterioro de la célula β pancreática, el aumento paralelo de la glicación del colágeno y la aparición de complicaciones, los efectos negativos serían los determinantes de la afectación de las propiedades mecánicas del hueso. Los cambios derivados inducen un deterioro tanto en la cantidad como en la funcionalidad de las células óseas, fundamentalmente osteoblastos y

condrocitos, aunque la resorción del hueso dañado por parte de los osteoclastos también se encuentra disminuida⁸⁵.

Finalmente, varios mecanismos patogénicos relacionados con el envejecimiento en sí mismo, como el aumento del estrés oxidativo, pueden estar implicados en la fragilidad ósea asociada a la diabetes⁸⁶.

En la Figura 2.1. se reflejan los potenciales mecanismos responsables del aumento de la fragilidad ósea en la DM2.

Figura 2.1. Mecanismos patogénicos de fragilidad ósea en DM2 (ref 87).



2.1.1. Hiper glucemia

La hiperglucemia ejerce tanto efectos directos sobre las células óseas como efectos indirectos a través de la formación de productos derivados de la glicación y la oxidación.

Efectos directos sobre las células óseas

In vitro los niveles elevados de glucemia estimulan o inhiben la proliferación osteoblástica en función de la fase del ciclo celular. La diferenciación de estas células se suprime especialmente, lo que se pone de manifiesto con el descenso en la producción de osteocalcina, del depósito de calcio y de la mineralización ósea. La expresión de los receptores para PTH y vitamina D también está disminuida. La hiperglucemia afecta también la funcionalidad de los osteoblastos a través de la inducción de una respuesta osmótica mediada por su sensibilidad al medio ácido inducido por el lactato. Además, la hiperglucemia aguda y crónica ha demostrado suprimir la expresión de los genes asociados con la maduración de los osteoblastos en ratones con diabetes⁸⁵.

La principal fuente de energía de los osteoclastos es la glucosa, aumentando de forma dosis dependiente su actividad *in vitro*. Sin embargo, la hiperglucemia en ratones también se ha asociado a un descenso de su motilidad y maduración. Esto sugiere un pobre reclutamiento y disminución de la resorción de las zonas afectas de microfracturas⁸⁸.

Formación de productos avanzados de la glicación (AGEs)

La hiperglucemia altera la formación de las fibras de colágeno lo que afecta a la formación de matriz extracelular proteica y a la mineralización. Los productos finales de la glicación avanzada (AGEs) se forman *in vivo* mediante la reacción de Maillard, una reducción de la glucosa con las proteínas para formar productos lábiles que posteriormente se estabilizan dando lugar a una modificación irreversible, no enzimática y postranscripcional de la proteína involucrada⁸⁹.

Los altos niveles de AGEs y su acumulo juega un papel esencial en el desarrollo de las complicaciones asociadas a la diabetes⁹⁰. Niveles elevados de AGEs se han encontrado en diversos tejidos y se han relacionado con un bajo recambio tisular en tendones, piel, placas amiloideas o cartílago. El acúmulo a nivel óseo

reduce la actividad del osteoblasto por la unión de los productos AGEs con receptores específicos (RAGE), altera la osteoclastogénesis por el descenso en la síntesis y liberación de RANKL por el osteoblasto y disminuye la mineralización. El colágeno de la matriz extracelular modificado por los AGEs es más difícil de eliminar por las enzimas hidrolíticas lo que incrementa la fragilidad ósea. Asimismo, la presencia de AGEs interfiere en la interacción entre las células óseas y la matriz extracelular⁸⁵.

La pentosidina, producto AGE derivado del colágeno tipo 1, se acumula con el envejecimiento y la diabetes en diferentes tejidos conectivos, incluyendo el hueso y puede cuantificarse mediante cromatografía de líquidos. Diversos estudios han demostrado que los niveles séricos y en orina de pentosidina, que reflejan el contenido de pentosidina a nivel óseo, se encuentran incrementados en los pacientes con DM2 en comparación con controles y se asocian positivamente con fracturas incidentes y prevalentes de forma independiente a la DMO y otros factores de riesgo^{91, 92}. Por otro lado, una disminución de receptores AGEs secretados y en particular del receptor de pentosidina, también se ha asociado con el riesgo de fracturas en los DM2⁹³. La glicación en exceso puede afectar las propiedades óseas y este efecto se evidencia sobre todo a nivel cortical por acúmulo de AGEs como la pentosidina en los sitios del esqueleto con menor rotación⁹⁴.

Estrés oxidativo

La hiperglucemia puede afectar al esqueleto a través del aumento de especies reactivas del oxígeno como en otros tejidos. Este estrés oxidativo incrementado supone que se generen radicales libres, dañando la estructura de proteínas, lípidos y ADN con lo que se altera la función celular y se induce su apoptosis⁹⁵. Los niveles elevados a nivel sistémico de los marcadores de oxidación como deoxiguanosina o 8-hydroxideoxyguanosina son proporcionales al descenso de la formación y mineralización óseas⁹⁶.

2.1.2. Factores hormonales

Las hormonas secretadas por la célula beta pancreática (insulina, amilina, preptina) ejercen efectos anabólicos. Así, niveles elevados de insulina *in vivo* están asociados con aumento de la formación ósea y disminución en la resorción, y la pérdida ósea asociada a la diabetes en ratones puede ser revertida por el tratamiento con insulina. Esta hormona puede regular la formación de forma directa actuando sobre las células óseas o a través de la mejoría del control glucémico y el mantenimiento de PTH, IGF1 y 1,25-hidroxivitamina D indirectamente⁸⁵.

La amilina es una hormona peptídica secretada por la célula β pancreática cuyos niveles están descendidos en los pacientes diabéticos. Sus efectos óseos están menos establecidos, por un lado se ha encontrado una relación directa con los cambios óseos y la osteoporosis en diabéticos, aunque también se ha observado un defecto de amilina en pacientes osteoporóticos no diabéticos⁸⁵.

Además, en los últimos años ha cobrado interés la investigación del efecto de las incretinas sobre el metabolismo óseo. Se ha sugerido que el GIP y la GLP2 podrían ser responsables de la inhibición de la resorción ósea tras la ingesta y se ha observado que los pacientes con DM2 tienen una disminución de este efecto tras la sobrecarga oral de glucosa⁹⁷. En un estudio realizado en ratas diabéticas se ha constatado que el GLP1 tiene un efecto anabólico sobre el hueso de forma independiente a la insulina⁹⁸. No obstante, está por dilucidar si las alteraciones del sistema incretina en la DM2 suponen cambios en la DMO de este grupo de pacientes.

2.1.3. Metabolismo fosfocálcico

La hiperglucemia induce glucosuria e hipercalciuria por el aumento del filtrado glomerular, lo que supone una reducción en la reabsorción tubular de calcio

con alteración de su depósito en la matriz extracelular ósea. La mejoría del control glucémico en la diabetes reduce la excreción urinaria de calcio y fósforo.

La mayoría de los estudios han mostrado niveles normales o incluso bajos de PTH en estos pacientes en contraposición al hiperparatiroidismo secundario esperado. En este sentido, la sobrecarga oral de glucosa en mujeres posmenopáusicas no diabéticas suprime la secreción de PTH e induce hipercalcemia e hipocalcemia. La deficiencia de magnesio se ha implicado en este hipoparatiroidismo funcional y podría explicar en parte estos hallazgos.

Finalmente, la deficiencia de 25 hidroxivitamina D es frecuente en los pacientes con DM2 y mal control metabólico⁹⁹. La hipovitaminosis D contribuye a una menor mineralización y formación óseas.

2.1.4. Adiposidad

Se ha propuesto que los efectos adversos de la hiperglucemia en la DM2 pueden ser contrarrestados por los efectos positivos de la obesidad sobre la DMO a través del aumento de la carga mecánica y de la síntesis y liberación por parte del tejido adiposo de citoquinas con influencia sobre el metabolismo óseo como leptina, resistina o adiponectina¹⁰⁰.

Sin embargo, el papel protector de la obesidad en la homeostasis ósea sigue siendo controvertido ya que también se han demostrado efectos perjudiciales sobre el hueso. La resistencia a la insulina y el aumento de tejido adiposo visceral observado en la DM2 se asocian a un estado de inflamación crónica de bajo grado, constituyendo un potencial mecanismo de pérdida ósea y aumento del riesgo de fracturas¹⁰¹. Además, la adiposidad aumenta la expresión de ARN mensajero de la proteína C reactiva (PCR), la IL 6 y el receptor de IL 6, estimulando la osteoclastogénesis y la resorción ósea¹⁰².

2.1.5. Riesgo de caídas

Un mecanismo importante que explica el aumento del riesgo de fracturas en la DM2 es la predisposición a las caídas en relación con las complicaciones micro y macrovasculares asociadas. Las alteraciones visuales, la afectación de la propiocepción, las hipoglucemias desapercibidas y la nicturia conllevan un mayor riesgo de caídas en la población diabética de edad avanzada. Asimismo, los efectos de la diabetes sobre las fracturas se reducen cuando se controlan las complicaciones asociadas a los traumas, como la retinopatía, los accidentes cerebrovasculares, la neuropatía periférica y la fuerza muscular. El uso de medicación hipnótica también es frecuente en este grupo de pacientes y se asocia con un mayor riesgo de caídas⁹⁹.

2.2. **Marcadores de remodelado óseo en la diabetes mellitus tipo 2**

Los estudios histomorfométricos en la diabetes han mostrado un bajo reclutamiento de osteoblastos junto a una disminución de las tasas de aposición mineral sin defectos en la mineralización. En un modelo murino de pérdida ósea inducida por agentes bacterianos, la diabetes redujo la formación ósea con aumento de la apoptosis de los osteoblastos pero también se observó un descenso en la osteoclastogénesis¹⁰³. La evaluación de estos hallazgos mediante la determinación de los marcadores de remodelado se ha limitado a trabajos en los que se incluyeron grupos de pacientes muy heterogéneos respecto al control metabólico y la duración de la diabetes, y con un tamaño muestral relativamente pequeño.

En general, estos estudios han demostrado niveles séricos bajos de osteocalcina en los pacientes diabéticos¹⁰⁴. Sin embargo, en otros trabajos los niveles de osteocalcina se encontraron dentro de la normalidad. Este hallazgo

puede relacionarse con las evidencias cada vez más consistentes que relacionan la osteocalcina con la aterosclerosis¹⁰⁵. Asimismo, Kemink y colaboradores concluyeron que los pacientes diabéticos con DMO baja también mostraban bajas concentraciones séricas de fosfatasa alcalina ósea aunque otros estudios muestran niveles elevados de este marcador¹⁰⁴.

Por otro lado, en mujeres posmenopáusicas con diabetes existe elevación de ciertos marcadores de resorción ósea (calcio urinario e hidroxiprolina) mientras que los niveles del telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo I (CTX) fueron superiores en el grupo control¹⁰⁶. Asimismo, se ha descrito un aumento de la fosfatasa ácida tartrato-resistente (TRAP) y una relación negativa con los valores de DMO en diabéticos¹⁰⁷. En cambio, otros estudios no muestran diferencias en las concentraciones de CTX entre los pacientes diabéticos y los controles^{108, 109}.

Reyes-García y colaboradores encontraron niveles más bajos de CTX y TRAP en los pacientes con diabetes respecto a los no diabéticos sin diferencias en los marcadores de formación fosfatasa alcalina ósea y osteocalcina¹¹⁰.

Respecto al control glucémico, con la mejoría del mismo se han descrito aumentos de osteocalcina y descenso de la fosfatasa alcalina ósea y de algunos marcadores de resorción ósea¹¹¹.

Estos hallazgos, aunque dispares, coinciden con la patogenia de la fragilidad ósea en la diabetes donde está afectada de forma predominante la formación ósea aunque también se altera la resorción. Existe pues un bajo remodelado óseo con una pérdida ósea enlentecida, lo que podría explicar el aumento de la DMO descrito en la DM2. La fragilidad ósea se encontraría incrementada independientemente de la masa ósea a través de la acumulación de daños por fatiga.

2.3. Densidad mineral ósea y fracturas en la diabetes mellitus tipo 2

2.3.1. Densidad mineral ósea en la diabetes mellitus tipo 2

Diversos estudios transversales han analizado la DMO en distintas localizaciones y con distintos métodos de medida.

En general, la DMO está aumentada en los pacientes con DM2 frente a sujetos de la misma edad sin DM. Sin embargo, algunos estudios han mostrado una DMO normal o inferior en la DM2.

Así, a nivel lumbar los datos son muy dispares describiéndose un efecto positivo, negativo o neutro¹¹²⁻¹¹⁴. Por el contrario, en cadera los resultados se muestran más uniformes observándose en la mayoría de los estudios una mayor DMO para ambos sexos en sujetos con DM2¹¹⁵. Por último, en el tercio distal de radio se ha descrito un efecto negativo o neutro de la DM2 sobre la DMO a este nivel^{114, 116}.

En España, los estudios que han evaluado la masa ósea en la DM2 son limitados. Se ha descrito un incremento del 8% en la DMO de calcáneo medida por DXA en mujeres pero no en varones¹¹⁷. En un estudio posterior realizado en mujeres posmenopáusicas mayores de 65 años con obesidad, la DM2 se asoció a un incremento de la DMO a nivel lumbar sin diferencias a nivel femoral ni de calcáneo¹¹⁸.

Las discrepancias en los resultados de los diversos trabajos pueden deberse a diferencias metodológicas con inclusión de pacientes con duración, gravedad y tratamiento de la enfermedad muy variables, y a la utilización de distintos métodos para medir la DMO. Cabe señalar además que la mayoría de estos estudios incluyeron sólo mujeres posmenopáusicas.

Se ha propuesto que los principales determinantes de la DMO en pacientes con DM2 son la edad y el índice de masa corporal (IMC), aunque el incremento de la DMO se mantiene incluso después de ajustar por peso, composición corporal y uso de estrógenos.

Aunque no todos, algunos de esos estudios han encontrado una relación negativa con el grado de control metabólico¹¹⁴ y la duración de la enfermedad¹¹⁹. En población española con DM2 el ejercicio, el IMC y el consumo adecuado de calcio parecen ser factores protectores de osteoporosis mientras que la edad y el consumo de zinc son factores de riesgo^{117, 120}.

2.3.2. Fracturas por fragilidad en la diabetes mellitus tipo 2

Varios estudios han analizado el riesgo de fracturas por fragilidad en pacientes con DM2. En relación con el efecto protector de la DMO sobre el riesgo de fracturas sería esperable que por cada incremento de 0,27 DE de la DMO se redujera un 10% el riesgo de fractura global y en concreto un 18 % el de cadera¹²¹. Sin embargo, la mayoría de los estudios de cohortes prospectivos publicados sobre el tema encuentran, a pesar de una mayor DMO, que los pacientes con DM2 tienen un mayor riesgo de fractura osteoporótica.

Fractura de cadera

De forma global en la DM2 existe un aumento del riesgo de fractura de cadera con un riesgo relativo (RR) entre 1,5 y 2,8. Una mayor duración de la enfermedad y el uso de insulina o antidiabéticos orales se ha asociado con una mayor tasa de fracturas tanto en mujeres como en varones^{122, 123}. Sin embargo, algunos autores no encontraron un aumento en la tasa de fracturas de cadera tras ajustar por las complicaciones de la diabetes, como problemas de visión y habilidades motoras¹²⁴, o en mujeres ancianas institucionalizadas en comparación con las no diabéticas¹⁰⁸.

Fractura vertebral

Los resultados de los estudios que han evaluado el riesgo de fracturas vertebrales en la DM2 no son uniformes. Algunos autores no encuentran un mayor riesgo¹²¹ mientras que otros si demuestran mayor riesgo de fractura vertebral, siendo los principales factores de riesgo la edad, la fractura previa, la neuropatía y el tratamiento con insulina, mientras que el ejercicio, el IMC y el uso de biguanidas fueron factores protectores¹²⁵.

Al igual que ocurre con la DMO la mayoría de los estudios no observaron una asociación entre el grado de control metabólico determinado por la hemoglobina glicada (HbA1c) y el riesgo de fractura, salvo un estudio japonés donde la presencia de HbA1c > 9% se asoció a un incremento del riesgo de fracturas vertebrales¹²⁶.

Cualquier fractura osteoporótica

Diferentes estudios muestran un mayor riesgo de fractura global en la DM2. En el *Health ABC Study*, la DM2 se asoció con un aumento del riesgo de fractura de 1,64 (IC 95%: 1,7 a 2,5)¹¹⁵, y en el *Women's Health Initiative Study* aquellas mujeres con DM2 tenían un mayor riesgo de fracturas durante los siete años de seguimiento (RR 1,2, IC 95%: 1,1-1,3) a pesar de una mayor DMO¹²⁷.

De nuevo en este aspecto existen resultados contradictorios como los de Dobnig y colaboradores que describieron una incidencia de fracturas en pacientes con DM2 similar al grupo control a pesar de una mayor DMO¹⁰⁸. Se ha propuesto que diferentes factores que influyen en la tasa de caídas podrían influir en la discrepancia entre estudios. En el *Rotterdam Study* el riesgo de fracturas no vertebrales fue un 69% mayor en ambos sexos en la población diabética. Sin embargo, en un análisis por subgrupos, el aumento del riesgo estuvo restringido a los pacientes diabéticos con tratamiento farmacológico (HR

1,69, IC 95%: 1,16 a 2,46) que presentaban un mayor porcentaje de caídas, lo que se ha propuesto que podría explicar el mayor riesgo de fractura¹¹².

El *Nurses' Health Study* también reveló un aumento del riesgo de fracturas en mujeres con DM2 (RR 2,2, IC 95%: 1,8-2,7), mayor en las mujeres con mayor tiempo de evolución de la enfermedad¹²⁸. Estos hallazgos coinciden con los de las mujeres con DM2 del *Study of Osteoporotic Fracture* que presentaron frente a las no diabéticas un aumento del riesgo de fracturas de cadera (RR 1,82, IC 95%: 1,24-2,69) y húmero proximal (RR 1,94, IC 95% 1,24-3,02)¹²⁹.

En resumen, la mayoría de los estudios muestra un riesgo aumentado de fractura en la DM2, de magnitud variable según el estudio y el tipo de fractura analizado. La discrepancia de resultados y la variabilidad de este efecto pueden explicarse por la presencia de múltiples factores presentes en la diabetes, como la presencia de complicaciones y el tratamiento farmacológico, que pueden influir en el riesgo de caídas.

2.4. Factores de riesgo de osteoporosis y fractura en la diabetes tipo 2

La probabilidad individual de padecer una fractura osteoporótica está condicionada por múltiples factores. Algunos de ellos influyen directamente sobre la resistencia ósea, conocidos como factores óseos, y otros se encuentran relacionados con la tendencia a las caídas y las características de las mismas, los factores extraóseos. Generalmente no actúan de forma aislada, sino que es la combinación de varios de ellos es lo que aumenta significativamente el riesgo de fractura¹³⁰.

La mayoría de los factores de riesgo clínicos, usados de forma individual, tienen una escasa sensibilidad y especificidad en la predicción de baja masa ósea o del riesgo de fractura. En base a la selección de los factores de riesgo

considerados de mayor valor predictivo, se han elaborado diversas escalas de puntuación en las que se valora el riesgo de padecer osteoporosis o fracturas osteoporóticas futuras. La utilización de factores de riesgo clínicos añade información del riesgo de fractura independientemente de la DMO con lo que aumenta la sensibilidad de la predicción. En la tabla 2.1. se resumen las características de la herramienta FRAX¹³¹ y la escala QFracture¹³².

Tabla 2.1. Características comunes y diferenciales entre FRAX y QFracture.

FRAX	QFracture
<ul style="list-style-type: none"> • Herramienta para el cálculo de riesgo de fractura osteoporótica y de cadera a 10 años. • Pacientes de 40-90 años. • Múltiples cohortes en diferentes tiempos. • No considera cantidad alcohol y tabaco. • Adaptación internacional. • Factores de riesgo incluidos: <p style="margin-left: 20px;">Edad</p> <p style="margin-left: 20px;">Índice de masa corporal</p> <p style="margin-left: 20px;">Historia previa fracturas</p> <p style="margin-left: 20px;">Historia familiar fracturas</p> <p style="margin-left: 20px;">Glucocorticoides orales</p> <p style="margin-left: 20px;">Artritis reumatoide</p> <p style="margin-left: 20px;">Otras causas secundaria</p> <p style="margin-left: 20px;">Hábito tabáquico</p> <p style="margin-left: 20px;">Ingesta de ≥ 3 u alcohol</p> <p style="margin-left: 20px;">\pm DMO</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Herramienta para el cálculo de riesgo de fractura osteoporótica y de cadera a 10 años. • Pacientes de 30-85 años. • Cohorte inglesa extensa y representativa. • Considera cantidad de alcohol y tabaco. • Validado para población inglesa. • Factores de riesgo adicionales: <p style="margin-left: 20px;">Historia de caídas</p> <p style="margin-left: 20px;">Diabetes mellitus tipo 2</p> <p style="margin-left: 20px;">Enfermedad cardiovascular</p> <p style="margin-left: 20px;">Antidepresivos tricíclicos</p> <p style="margin-left: 20px;">Terapia hormonal sustitutiva</p> <p style="margin-left: 20px;">Síntomas menopáusicos</p>

La más conocida es la herramienta FRAX desarrollada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para evaluar el riesgo de fractura. Se basa en modelos individuales que combinan e integran factores clínicos de riesgo con la DMO del cuello femoral ajustando por la tasa de fracturas osteoporóticas de los diferentes países¹³¹. Los datos publicados muestran que la mayoría de los pacientes clasificados de alto riesgo presentan valores compatibles con osteoporosis en la densitometría mientras que otros estudios muestran que las fracturas estimadas son menores que las fracturas incidentes observadas durante el seguimiento^{133, 134}. En población española la aplicación del FRAX conlleva la reducción de casos a tratar en una cohorte de pacientes con fracturas por fragilidad aunque se ha calculado que reduciría en un 50% la necesidad de densitometría y tiene una adecuada validez diagnóstica para la presencia de osteoporosis en cadera^{135, 136}.

Un estudio reciente evaluó específicamente la utilidad de la escala FRAX en una amplia cohorte de pacientes diabéticos¹³⁷. En el mismo, tanto la DMO de cuello femoral como la puntuación del algoritmo FRAX se asociaron con el riesgo de fracturas osteoporóticas. Sin embargo, comparados con los pacientes no diabéticos el riesgo de fractura fue mayor para un mismo valor de T-score y una misma puntuación del FRAX. Se observó que los valores de T-score en diabéticos para los que se igualaría el riesgo de fractura de cadera respecto a los pacientes no diabéticos con T-score de -2,5 fueron -1,9 para mujeres y -2,1 para varones. Asimismo, la herramienta FRAX infraestimó las fracturas observadas durante el seguimiento tanto en mujeres como en varones diabéticos.

Posteriormente se ha publicado otro algoritmo de riesgo de fractura (QFractureScores) para la estimación del riesgo individual de fractura de cadera u osteoporótica a 10 años¹³². A partir de una única pero amplia y representativa cohorte británica de atención primaria se identificaron una serie de variables, en su mayoría clínicas, altamente predictivas e independientemente asociadas al riesgo de fractura. Comparado con FRAX, los

estadísticos de contraste resultaron similares o mejores con este nuevo algoritmo. Esta herramienta hace una valoración más detallada de la ingesta de tabaco y alcohol, cuyos efectos óseos son dosis dependientes, e incluye más factores de riesgo clínicos por lo que puede dar una valoración más individualizada del riesgo de fractura. Destaca entre ellos la recogida de las caídas, terapia hormonal sustitutiva, otros tratamientos médicos concomitantes y antecedentes médicos entre los que se incluye la DM2 y la historia de enfermedad cardiovascular. Sin embargo, esta escala está aún pendiente de ser validada y calibrada para otras poblaciones fuera del Reino Unido.

QFractureScore ha tenido una menor difusión por la ausencia de validación fuera del Reino Unido y hay sólo un estudio realizado en población diabética¹³⁸. En este estudio Rozas y colaboradores examinaron la utilidad de estas dos herramientas en pacientes con DM2. Pese a la alta prevalencia de fracturas vertebrales en la muestra de estudio, ambas escalas clasificaron a un bajo porcentaje de pacientes como candidatos a tratamiento para la osteoporosis.

3. Esclerostina en diabetes mellitus tipo 2: Justificación del estudio

El papel de la vía de señalización Wnt y sus antagonistas puede ser crucial en la patogenia de las alteraciones de la calidad ósea observadas en la diabetes mellitus.

Los datos publicados se limitan a estudios en animales de experimentación y se centran en el análisis de la expresión génica y la concentración en el microambiente óseo de algunas de las proteínas involucradas. De hecho, un estudio reciente con modelos animales murinos con DM1 inducida por estreptozotocina demostró supresión de la expresión génica de esclerostina, aumento de la apoptosis de los osteocitos y bajas concentraciones de β -catenina total y nuclear¹³⁹. Por otro lado, Nuche-Berenguer y colaboradores demostraron que la expresión génica de *Dkk1* y *SOST* en modelos de ratas con DM2 se encontraba suprimida mientras que en modelos de ratas insulínresistentes se evidenció una sobreexpresión génica de *SOST* asociada a un aumento de los niveles de ARNm de *LRP5*⁹⁸.

Por otra parte, se ha especulado que el antagonismo de la vía Wnt llevado a cabo por los productos derivados del estrés oxidativo puede constituir un mecanismo molecular común en el desarrollo de otras enfermedades asociadas a la edad y el envejecimiento como la hiperlipidemia, la aterosclerosis y la propia hiperinsulinemia⁸⁶.

Hasta el momento no existen estudios que analicen esta vía de señalización mediante su antagonista endógeno esclerostina en pacientes con DM2.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis de trabajo

Las concentraciones de esclerostina están elevadas en los pacientes con DM2, lo que favorece el deterioro de la osteoblastogénesis y un aumento de la fragilidad ósea en esta población.

Objetivo general

Determinar los niveles séricos del antagonista endógeno de la vía Wnt esclerostina en pacientes con DM2.

Objetivos específicos

- Comparar los niveles séricos de esclerostina entre pacientes con DM2 y controles.
- Estudiar los factores determinantes de las concentraciones séricas de esclerostina en pacientes con DM2 y controles.
- Evaluar la relación entre los niveles séricos de esclerostina y hormonas calciotropas, marcadores de remodelado, densidad mineral ósea y fracturas vertebrales en pacientes con DM2 y controles.
- Valorar en los pacientes con DM2 la relación entre los niveles séricos de esclerostina y el grado de control metabólico de la enfermedad.

PACIENTES Y MÉTODOS

1. Pacientes

ÁMBITO GEOGRÁFICO DEL ESTUDIO:

Área de cobertura del Hospital Universitario San Cecilio de Granada. Se trata de un hospital de tercer nivel con un Centro Periférico de Especialidades asociado. Es centro de referencia del área sur de la provincia de Granada y asiste una población aproximada de 300.000 habitantes. Los participantes del estudio se seleccionaron en las consultas del Servicio de Endocrinología situadas en el Centro Periférico de Especialidades y el propio Hospital.

POBLACIONES DEL ESTUDIO:

POBLACIÓN DIANA: Todo individuo con residencia habitual en el área de referencia del Hospital Universitario San Cecilio de Granada.

POBLACIÓN ELEGIBLE: Todo sujeto perteneciente a la población diana que, durante el periodo de estudio, cumplió los siguientes criterios de inclusión y exclusión en el mismo:

Criterios de inclusión:

- Aceptación del consentimiento informado
- Régimen de vida ambulatorio
- Pacientes de raza caucásica
- Rango de edad entre 35-65 años.

Criterios de exclusión:

- Enfermedad metabólica ósea no osteoporótica: hiperparatiroidismo primario, enfermedad ósea de Paget, hipercalcemia humoral, artritis reumatoide, mieloma óseo, metástasis óseas.
- Tratamiento concomitante con: glucocorticoides, antirresortivos, teriparatida, ranelato de estroncio, terapia estrogénica, tibolona.
- Tratamiento antidiabético con tiazolidindionas.
- Insuficiencia renal crónica establecida (creatinina sérica > 1,3 mg/dl)
- Diabetes Mellitus tipo 1.

La población elegible se dividió en:

CASOS: Se consideró “caso” todo sujeto perteneciente a la población elegible que, cumpliendo los criterios de inclusión en el estudio, estaba diagnosticado de diabetes mellitus tipo 2 según los criterios de la *American Diabetes Association* (ADA)¹⁴⁰.

CONTROLES: Este grupo estuvo formado por aquella fracción de la población elegible que, cumpliendo los criterios de inclusión y exclusión en el estudio, no estaban diagnosticados de DM2. Se incluyeron pacientes con: patología tiroidea normofuncionante (nódulo simple, bocio multinodular), hirsutismo idiopático, hiperprolactinemia idiopática y obesidad sin otros factores de riesgo.

Se incluyeron a 130 pacientes, 76 con DM2 y 54 controles, que se seleccionaron de forma consecutiva en el periodo de enero de 2006 a diciembre de 2007.

2. Métodos

2.1 Diseño

El diseño del estudio corresponde a un estudio transversal.

El protocolo de estudio ha incluido para todos los sujetos:

- Historia clínica, encuesta nutricional y exploración física.
- Determinaciones bioquímicas.
- Determinación de densidad mineral ósea.
- Estudio de radiología vertebral.

2.2. Variables del estudio

2.2.1. Variables clínico-demográficas

- Sexo.
- Edad en años.
- Peso en Kilogramos y talla en metros.
- Índice de masa corporal: peso (Kg)/ talla (m)²
- Factores de riesgo osteoporótico en población española¹⁴¹.
- Hábito tabáquico: se distinguieron dos grupos: no fumadores y tabaquismo activo.
- Hábito alcohólico: resultando 2 grupos: consumo de alcohol superior a 40 gr en varones y 24 gr en mujeres o bien inferior a esa cantidad.

- Actividad física: mediante cuestionario específico y resultando dos grupos: Sedentario (puntuación < 5) y Activo (puntuación > 5).
- Ingesta cálcica diaria: se estimó a partir de una encuesta nutricional que valora la frecuencia de consumo de varios productos, principalmente lácteos¹⁴².
- Tiempo de evolución de la diabetes en años.
- Complicaciones microvasculares de la diabetes: retinopatía, nefropatía y neuropatía clínica.
- Tratamiento antidiabético.

2.2.2. Variables analíticas

Marcadores de remodelado óseo

- Osteocalcina (OC): Su valoración se realizó mediante un kit de radioinmunoensayo suministrado por DiaSorin (Stillwater, Minnesota, USA), que utiliza como estándar y trazador BGP bovina, y como antisuero anti-BGP bovina de conejo, cuyos límites de normalidad son 1,8 y 6,6 ng/ml. La media de los valores de referencia proporcionados por la casa comercial oscilan entre 1,8-6,6 ng/ml. La precisión intraensayo es del 5,3% (CV) y la interensayo del 8,6%¹⁵.
- Isoenzima ósea de la fosfatasa alcalina (FA ósea): Se determinó mediante ensayo inmunoradiométrico sobre fase sólida con doble anticuerpo monoclonal dirigido contra la misma molécula de fosfatasa alcalina esquelética (técnica de sandwich) con un kit comercial de IDS Ltd Boldon (Reino Unido) (OCTEIA™). Los valores normales oscilan entre 6,3-22,4 ug/L para mujeres premenopáusicas, 7,5-33,7 ug/L para mujeres posmenopáusicas y 7,4-31,3 ug/L para varones¹⁵.

- Telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo I (CTX) en suero: Su medición se realizó con el kit Elecsys β CrossLaps (Roche Diagnostics SL, Barcelona, España), que es un ensayo tipo sandwich que utiliza dos anticuerpos monoclonales específicos para el β isómero del extremo C terminal del telopéptido del colágeno tipo I. El ensayo se realizó con el analizador automático Elecsys 2010 (Roche Diagnostics). El intervalo de medición oscila entre 0,01 y 6 ng/ml, con una variabilidad intra e interensayo inferior al 6%. Los valores normales oscilan entre 0,157-0,44 ng/ml para mujeres premenopáusicas, 0,33-0,782 ng/ml para mujeres posmenopáusicas y 0,158-0,442 ng/ml para varones¹⁵.
- Fosfatasa ácida tartrato-resistente (TRAP): Sus niveles se determinaron mediante anticuerpos monoclonales (Bone TRAP ® Assay. IDS Ltd). El CV intraensayo es de 4,7 % e interensayo del 9%. Los valores normales oscilan entre 1-4,1 U/L para mujeres premenopáusicas, 1,5-4,9 U/L para mujeres posmenopáusicas y 1-4,9 U/L ng/ml para varones¹⁴³.

Determinación sérica de esclerostina

Su medición se llevó a cabo mediante un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) tipo sandwich comercial provisto por Biomedica (Viena, Austria)⁶⁸.

El método consiste en incubar un pequeño volumen de muestra sérica problema, muestras de controles internos, y muestras patrón con diferentes concentraciones de esclerostina (éstas dos últimas disponibles en el kit) en las placas ELISA, las cuales tienen previamente unido el anticuerpo anti-esclerostina humana. Todas las muestras se analizaron por duplicado en el mismo ensayo. Seguidamente, se añade el anticuerpo biotinilado anti-esclerostina, y tras la incubación, se procede a su lavado. Este proceso descrito se realiza para todos los pocillos, exceptuando los reservados para el

blanco. Posteriormente, a todos los pocillos, se añade e incuba con el conjugado estreptavidina-peroxidasa, se sigue con los lavados y adición de sustrato de la peroxidasa, y podemos observar la señal correspondiente a los niveles de expresión de esclerostina mediante la medida de la absorbancia a 450 nm en un lector ELISA.

En el laboratorio dos muestras de concentración conocida se testaron seis y tres veces para conocer la variabilidad intra e interensayo que fue del 4% y 3% respectivamente. Los valores de esclerostina se expresan en picomoles/litro (pmol/L) y el límite inferior de detección es inferior a 10 pmol/L.

Determinaciones hormonales

- Hormona paratiroidea (PTH): Determinada por el kit Intact PTH suministrado por Roche Diagnostics SL Barcelona España. Es un inmunoensayo de electroquimioluminiscencia con anticuerpos monoclonales y técnica de sandwich. Los valores de referencia se encuentran entre 15 y 65 pg/ml. Los coeficientes de variación intra e interensayo están en torno al 3 %¹⁴⁴.
- 25-hidroxivitamina D (25OHD): Su valoración se realizó mediante un kit 25-Hydroxyvitamin D 125I RIA suministrado por DiaSorin (Stillwater, Minnesota, USA). En la determinación de la 25-Vitamina D se realizan dos pasos: primero se realiza una rápida extracción del suero o plasma de la 25-OH-vitamina D y otros metabolitos hidroxilados mediante acetonitrilo y posteriormente se utiliza un método de radioinmunoanálisis para la determinación de la 25-OH-vitamina D. Se consideran valores normales para el kit utilizado un rango entre 15 y 74 ng/ml¹⁴⁵.

Otras determinaciones

- Bioquímica básica de función renal, hepática y perfil lipídico.

- Filtrado glomerular (FG): Estimado mediante la ecuación de Cockcroft-Gault con corrección por superficie corporal y expresado en ml/min/1,73 m² ¹⁴⁶.
- Microalbuminuria: Determinada mediante test inmunoturbidimétrico (Tina-quant® Albúmina) en una muestra de orina de primera hora de la mañana y definida como un cociente entre albúmina (mgr/dl) y creatinina (gr/dl) entre 30 y 300 mgr/gr ¹⁴⁷.
- Hemoglobina glicada (HbA1c): Se determinó mediante HPLC (*High pressure liquid cromography*) mediante el analizador ADAMS A1c (HA-8160) de menarini¹⁴⁸.

2.2.3 Técnicas radiológicas

Medición de masa ósea

La densidad mineral ósea se evaluó mediante absorciometría dual por rayos X (DXA), empleando para ello el equipo modelo Hologic QDR4500. Este densitómetro utiliza radiografías digitales cuantitativas para medir de forma exacta y rápida el contenido mineral óseo (CMO) en gramos y la DMO en gr/cm². En nuestro caso hicimos mediciones en columna lumbar (vértebras L2, L3 y L4) y fémur proximal (cuello, trocánter y triángulo de Ward). La precisión de la medida fue superior al 1% (CV = 1,0% con DMO = 1,0 gr/cm²) y la resolución espacial de 1,5 mm. El tiempo de realización de la prueba es de 5 minutos para cada localización y la radiación a la que se somete al paciente de 2,9-5,0 mR, equivalente a la décima parte de la recibida durante la realización de una radiografía simple de torax. El densitómetro se calibra a diario con un fantoma normalizado (Hologic X-Caliber, Hologic Inc., Walthman, MA). A fin de evitar falsas mediciones las vértebras fracturadas, que se identificaron mediante radiología simple de columna, se excluyeron de la medición de densidad ósea¹⁴⁹.

Estudio radiológico

Se efectuaron radiografías laterales de columna lumbar y torácica para evaluar la aparición de deformaciones en los cuerpos vertebrales desde T4 a L5. Las mediciones se hicieron según los criterios de Genant: con una regla transparente se miden las alturas anterior y posterior de las vértebras desde T4 a T12, y las alturas anterior, media y posterior de L1 a L5. En condiciones normales, en columna torácica, la altura anterior es, como máximo, un 85% de la altura posterior. Se habla de fractura de grado 1 o deformidad leve cuando existe una reducción de la altura anterior, media o posterior de la vértebra entre un 20 y 25 %; fractura de grado 2 o deformidad moderada cuando la reducción es entre el 25 y el 40%, y fractura grado 3 o deformidad severa a una reducción del 40% de cualquier altura del cuerpo vertebral¹⁵⁰.

2.3. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó empleando el programa SPSS (versión 15.0, Chicago, EEUU).

Para variables continuas se evaluó si seguían una distribución normal mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Se emplearon medidas de tendencia central (media) y dispersión (desviación estándar, rango) para variables continuas y distribución de frecuencias absolutas y relativas para variables categóricas.

Las diferencias para las variables de interés entre grupos de comparación se realizaron mediante el test de la *t* de Student para dos muestras independientes y el test de la U de Mann-Whitney en el caso de variables continuas. Para variables categóricas se utilizó el test de la Chi Cuadrado de Pearson y el test exacto de Fisher. La relación entre las variables cuantitativas

se analizó usando el test de correlaciones bivariadas de Pearson o de Spearman. Para controlar el efecto de una o más variables sobre el coeficiente de correlación de Pearson se empleó el test de correlación parcial.

Cuando el tamaño de muestra fue mayor que 30 se aplicaron pruebas para variables normales con independencia de sus características mediante la aplicación del Teorema Central del Límite.

Por último, se realizó un análisis multivariante mediante regresión lineal múltiple previa comprobación del modelo (aleatoriedad, normalidad, linealidad y homogeneidad de varianzas) para estudiar las variables predictoras de las concentraciones séricas de esclerostina (variable independiente).

Todos los test estadísticos se realizaron a doble cola. Una $p < 0,05$ fue considerada estadísticamente significativa.

RESULTADOS

1. Características de los grupos de estudio

1.1. Características generales

En las tablas 1.1 y 1.2 se muestran las características cuantitativas y cualitativas de ambos grupos de estudio.

Tabla 1.1 Variables cuantitativas.

	n	Grupo DM2		n	Grupo Control	
		Media (DE)	Rango		Media (DE)	Rango
Edad (años)	76	57,9 (6,5)	35-65	54	55,2 (7,2)	39-66
Antropometría						
Talla (cm)		160 (20)	144-178		164 (9)	148-185
Peso (Kg)		81,9 (16)	50,2-144		77,9 (13,9)	55-108
IMC (Kg/m ²)		31,3 (5,7)	19-55		29,2 (6)	21,5-47,3
Función renal						
Creatinina (mg/dl)		0,9 (0,2)	0,3-1.3		0,9 (0,2)	0,5-1,2
FG (ml/min/1.73m ²)		93,4 (26,9)	49,5-216		94,6 (22,1)	60,9-165,3
Estatus menstrual	35			30		
Edad menarquia	35	12,2 (2,1)	7-16	30	12,4 (1,4)	9-15
Edad menopausia	30	48,9 (5,1)	32-58	19	49,7 (3,8)	42-56
Años menopausia	30	11,4 (7,5)	1-31	19	7,4 (5,2)	1-17
Ingesta Calcio (mg/d)	76	609 (282)	175-1400	54	663 (363)	150-1800

DE: Desviación estándar; IMC: índice de masa corporal; FG: filtrado glomerular.

Tabla 1.2. Variables cualitativas.

	Grupo DM2 n: 76		Grupo Control n: 54	
	Valor abs.	%	Valor abs.	%
Sexo				
Mujeres	35	46,1	30	55,6
Varones	41	53,9	24	44,4
Hábitos tóxicos				
Tabaco				
No	62	81,6	46	85,2
Sí	14	18,4	8	14,8
Alcohol				
No	68	89,4	47	87
Sí	5	10,5	7	13
Actividad física				
No	41	53,9	20	37
Sí	35	46,1	34	63
Historia de fracturas				
Antecedente personal				
No	7	9,2	1	1,9
Sí	69	90,8	53	98,1
Antecedente familiar				
No	55	72,4	40	74,1
Sí	21	25,9	14	25,9
Estatus menopáusico				
No	5	14,3	11	36,5
Sí	30	85,7	19	63,3

Los pacientes con diabetes respecto a los controles mostraron una edad ($p = 0,023$) y un IMC mayores ($p = 0,046$). Asimismo entre las mujeres diabéticas hubo un mayor porcentaje de posmenopáusicas ($p = 0,047$). Al comparar el grado de actividad física encontramos una tendencia hacia un mayor grado de actividad física en el grupo control ($p = 0,057$).

1.2. Metabolismo óseo

1.2.1. Hormonas calciotropas y marcadores de remodelado óseo

En la tabla 1.3 se analizan las diferencias en hormonas calciotropas y marcadores de remodelado óseo entre los grupos de estudio de forma global y en función del sexo.

Tabla 1.3. Diferencias en hormonas calciotropas y MRO entre ambos grupos.

	Total n: 130 <i>Media (DE)</i> <i>Rango</i>	Grupo DM2 n: 76 <i>Media (DE)</i> <i>Rango</i>	Grupo Control n: 54 <i>Media (DE)</i> <i>Rango</i>
Calcio (mg/dl)	9,5 (0,5) 7,9-11,2	9,6 (0,5) 7,9-11,2	9,4 (0,4) 8,6-10,4
Fósforo (mg/dl)	3,6 (0,5) 2,4-5,6	3,7 (0,6) 2,4-5,6	3,5 (0,5) 2,5-4,8
PTH (pg/ml)	43,5 (19,5) 7-84,1	38,7 (18,4) 7-84,1	50,2 (19,2) 16,5-72,3
25 OHD (ng/ml)	19,1 (11,2) 1-60,2	17,6 (11,2) 1-60,2	21 (10,9) 2,6-52,8
OC (ng/ml)	1,46 (1,25) 0-6,8	1,45 (1,27) 0-5,8	1,45 (1,23) 0,1-6,8
FA ósea (µg/l)	14 (6,6) 5,5-41,9	14,8 (6,5) 6,2-41,9	12,9 (6,8) 5,5-42,9
CTX (ng/ml)	0,264 (0,153) 0-0,888	0,212 (0,13) 0-0,657	0,338 (0,154) 0-0,888
TRAP (UI/l)	1,58 (0,96) 0,07-4,1	1,4 (1,01) 0,07-3,7	1,84 (0,82) 0,5-4,1

DE: desviación estándar; PTH: parathormona; 25 OHD: 25-hidroxivitamina D; OC: osteocalcina; FA ósea: fosfatasa alcalina ósea; CTX: telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo 1; TRAP: fosfatasa ácida tartrato-resistente.

Los pacientes con diabetes presentaron menores concentraciones de PTH ($p = 0,01$) y de los marcadores de resorción ósea CTX ($p < 0.001$) y TRAP ($p = 0,009$). Encontramos una tendencia a la significación estadística en los niveles de 25-hidroxivitamina D, más bajos en pacientes con diabetes ($p = 0,085$).

1.2.2. Densidad mineral ósea

En las tablas 1.4 y 1.5 se analizan las diferencias en la DMO entre los grupos de estudio y en el grupo DM2 según el sexo.

Tabla 1.4. Comparación de parámetros densitométricos entre grupos.

	Total n: 130 <i>Media (DE)</i> <i>Rango</i>	Grupo DM2 n: 76 <i>Media (DE)</i> <i>Rango</i>	Grupo Control n: 54 <i>Media (DE)</i> <i>Rango</i>
DMO CL (g/cm²)	0,974 (0,146) 0,591-1,327	0,949 (0,142) 0,591-1,304	1,005 (0,147) 0,716-1,327
T-score CL	-1,1 (1,4) -4,8-1,9	-1,3 (1,3) -4,8-1,7	-0,8 (1,3) -3,6-1,9
Z-score CL	-0,181 (1,35) -3,9-3,1	-0,342 (1,34) -3,9-3,1	0,017 (1,34) -2,9-2,4
DMO CF (g/cm²)	0,820 (0,124) 0,545-1,161	0,818 (0,13) 0,545-1,161	0,823 (0,117) 0,589-1,075
T-score CF	-0,549 (1) -2,7-2,8	-0,594 (1,024) -2,7-2,8	-0,491 (0,997) -2,3-2
Z-score CF	0,447 (0,976) -1,6-4,3	0,467 (0,995) -1,6-4,3	0,417 (0,96) -1,5-2,9
DMO TC (g/cm²)	0,906 (0,135) 0,61-1,249	0,905 (0,142) 0,571-1,249	0,908 (0,126) 0,7-1,2
T-score TC	-0,572 (0,971) -3,1-2	-0,610 (1) -3,1-1,4	-0,522 (0,928) -2-2
Z-score TC	0,046 (0,967) -2,5-2,8	0,08 (0,982) -2,5-2,5	0,002 (0,954) -1,8-2,8

DE: desviación estándar; DMO: Densidad mineral ósea; CL: columna lumbar;
CF: cuello femoral; CT: cadera total.

Tabla 1.5. Parámetros densitométricos en DM2 en función del sexo.

	Varones (n: 41)	Mujeres (n: 35)
	<i>Media (DE)</i>	<i>Media (DE)</i>
DMO CL (g/cm²)	0,963 (0,131)	0,932 (0,153)
T-score CL	-1,375 (1,218)	-1,317 (1,452)
Z-score CL	-0,733 (1,303)	0,127 (1,25)
DMO CF (g/cm²)	0,861 (0,131)	0,766 (0,109)
T-score CF	-0,461 (1,052)	-0,758 (0,981)
Z-score CF	0,426 (1,117)	0,523 (0,936)
DMO TC (g/cm²)	0,942 (0,145)	0,859 (0,127)
T-score TC	-0,568 (1)	-0,661 (1,03)
Z-score TC	-0,03 (1,049)	0,303 (0,858)

DE: desviación estándar; DMO: Densidad mineral ósea; CL: columna lumbar; CF: cuello femoral; TC: cadera total.

No encontramos diferencias entre el grupo DM2 y el grupo control en los parámetros densitométricos. En el grupo DM2 los varones presentaron una mayor DMO en cuello femoral ($p = 0,002$) y cadera total ($p = 0,015$). En el grupo control no hubo diferencias en ningún parámetro densitométrico según el sexo.

1.2.3. Osteoporosis y fracturas vertebrales

La tabla 1.6 muestra la prevalencia de osteoporosis densitométrica y presencia de fracturas vertebrales morfométricas en función de los grupos de estudio y el sexo.

Tabla 1.6. Osteoporosis y fracturas vertebrales según el grupo de estudio y sexo.

	Grupo DM2 n: 76		Grupo Control n: 54	
	Valor abs.	%	Valor abs.	%
Osteoporosis	15	19,7	5	9,3
Mujeres	8	10,5	1	1,9
Varones	7	9,2	4	7,4
Fractura vertebral	20	26,3	10	18,5
Mujeres	6	7,9	5	9,25
Varones	14	18,4	5	9,25

De forma global, los pacientes con diabetes presentaron una mayor prevalencia de osteoporosis que los controles aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p = 0,082$). Sin embargo, al tener en cuenta el sexo se confirmó una mayor prevalencia de osteoporosis en las mujeres con diabetes respecto a las mujeres del grupo control ($p = 0,026$). No encontramos diferencias en la proporción de pacientes con fractura vertebral entre ambos grupos.

En el grupo DM2, no observamos diferencias en la prevalencia de osteoporosis ni de fractura vertebral según el sexo.

1.3. Control metabólico en el grupo DM2

En las tablas 1.7 y 1.8 se describen las características de los pacientes diabéticos globalmente y en función del sexo.

Tabla 1.7. Variables cuantitativas en pacientes con DM2 en función del sexo.

	Total n: 76 <i>Media (DE)</i> <i>Rango</i>	Varones n: 41 <i>Media (DE)</i> <i>Rango</i>	Mujeres n: 35 <i>Media (DE)</i> <i>Rango</i>
Edad (años)	57,9 (6,5) 35-65	57,4 (6,8) 35-65	58,6 (6,1) 45-65
IMC (kg/m²)	31,3 (5,7) 19,1-54,9	29,8 (4,4) 21,3-38,7	33 (6,6) 19,1-54,9
Evolución DM2 (años)	13,4 (7,5) 0,5-31	13,2 (6,7) 0,5-30	13,6 (8,5) 1-31
Glucemia basal (mg/dl)	174,8 (62,9) 81-351	177 (65,3) 84-343	172,3 (60,9) 81-351
HbA1c (%)	8 (1,9) 4,9-13,8	8,1 (2) 4,9-13,5	7,9 (1,8) 5,2-13,8

IMC: índice de masa corporal, DM2: diabetes mellitus tipo 2, HbA1c: hemoglobina glicada.

Las mujeres diabéticas tuvieron un índice de masa corporal mayor al de los varones ($p = 0,016$) sin diferencias en el resto de variables recogidas.

Tabla 1.8. Variables cualitativas en pacientes con DM2 en función del sexo.

	Total n: 76	Varones n: 41	Mujeres n: 35
C. microvasculares			
Retinopatía			
No	55,3	48,8	62,9
Sí	44,7	51,2	37,1
Nefropatía			
No	66,7	63,4	70,6
Sí	33,3	36,6	29,4
Neuropatía			
No	48	39	58,8
Sí	52	61	41,2
Tratamiento			
ADOs			
No	19,4	20	18,8
Sí	80,6	80	81,3
Insulinoterapia			
No	34,7	39	29,4
Sí	65,3	61	70,6

C: complicaciones, ADOs: antidiabéticos orales. Expresado en %.

No existieron diferencias en cuanto a la presencia de complicaciones o el tipo de tratamiento en función del sexo.

2. Determinantes de los niveles séricos de esclerostina

2.1. Esclerostina en función del grupo y el sexo

Los niveles medios de esclerostina en nuestra muestra fueron de 48,69 (22,49) pmol/L con un mínimo de 17,97 pmol/L y un máximo de 128,01 pmol/L.

En el grupo DM2 las cifras de esclerostina fueron significativamente más elevadas que en el grupo control: 53,93 (24,95) frente a 41,32 (15,99) pmol/L, $p = 0,001$. En la totalidad de la muestra, los varones presentaron niveles séricos de esclerostina significativamente más altos que las mujeres: 57,1 (25,31) frente a 40,29 (15,35) pmol/L, $p < 0,001$.

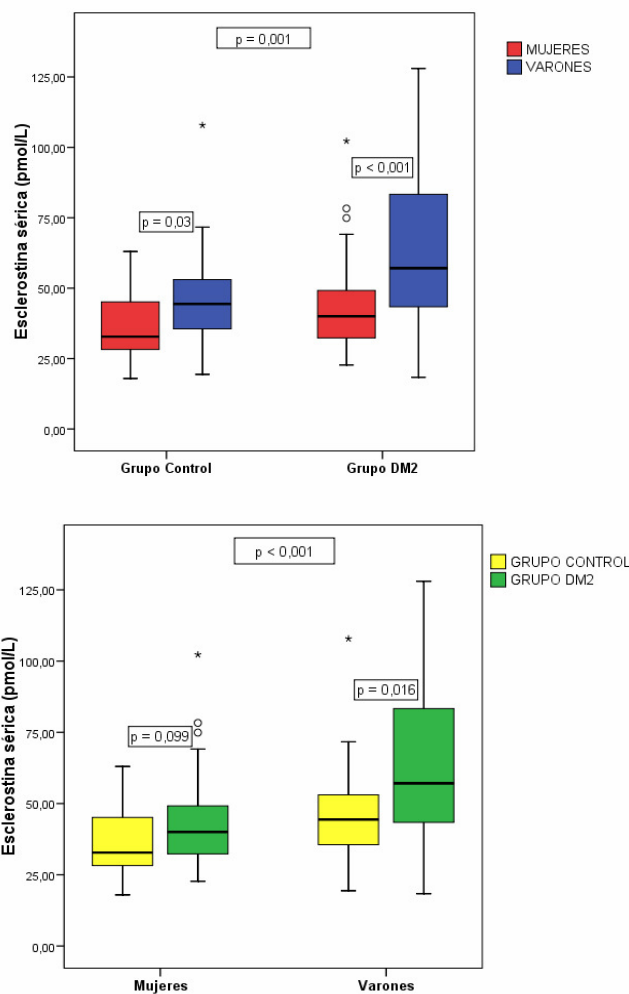
En el análisis por grupos, los varones presentaron concentraciones más altas de esclerostina tanto en el grupo DM2 ($p < 0,001$) como en el grupo control ($p < 0,03$). Al analizar los niveles de esclerostina en función del sexo, estos permanecieron significativamente elevados en varones con diabetes respecto a varones del grupo control ($p = 0,016$), mientras que la diferencia en mujeres (grupo DM2 vs grupo control) no fue estadísticamente significativa ($p = 0,099$).

Estos resultados están representados en la tabla 2.1 y la figura 2.1.

Tabla 2.1. Niveles séricos de esclerostina en función del grupo de estudio y del sexo.

	Grupo DM2	Grupo Control
Varones		
n	41	24
Media (DE)	63,15 (27,03)	46,77 (18,3)
Rango	18,34-128,01	19,42-107,87
Mujeres		
n	35	30
Media (DE)	43,14 (17,08)	36,96 (12,53)
Rango	22,74-102,27	17,97-63,03

Figura 2.1. Niveles séricos de esclerostina en función del sexo y del grupo de estudio.



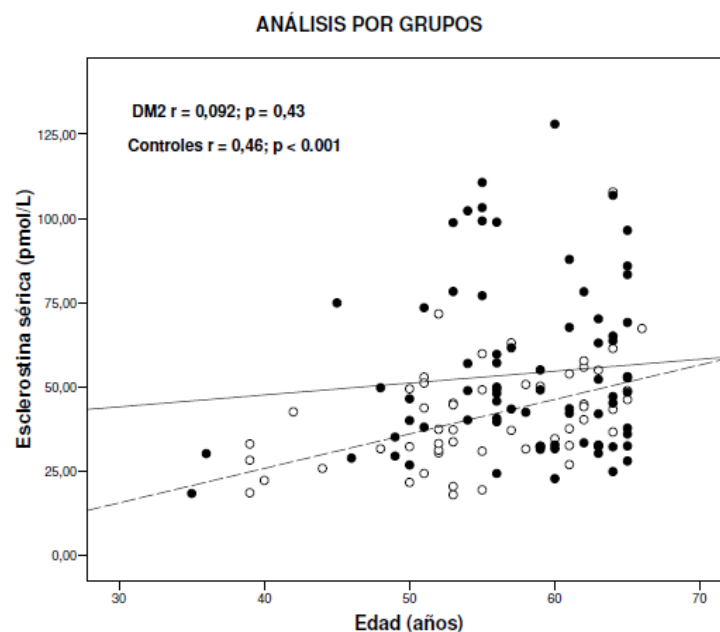
2.2. Relación entre esclerostina y edad

Los niveles séricos de esclerostina se correlacionaron positivamente con la edad en la muestra total ($r = 0,251$, $p = 0,004$). En el análisis por grupos esta correlación se mantuvo significativa sólo en el grupo control ($r = 0,460$, $p < 0,001$) y en el análisis según el sexo sólo en varones ($r = 0,320$, $p = 0,009$).

Cuando llevamos a cabo el análisis en función tanto del grupo de estudio como del sexo, la correlación positiva entre los niveles de esclerostina séricos y la edad se mantuvo sólo en varones con diabetes ($r = 0,338$, $p = 0,031$) mientras que en el grupo control esta correlación fue estadísticamente significativa tanto en varones ($r = 0,425$, $p = 0,038$) como en mujeres ($r = 0,415$, $p = 0,023$).

En las figuras 2.2 y 2.3 se representan estos resultados.

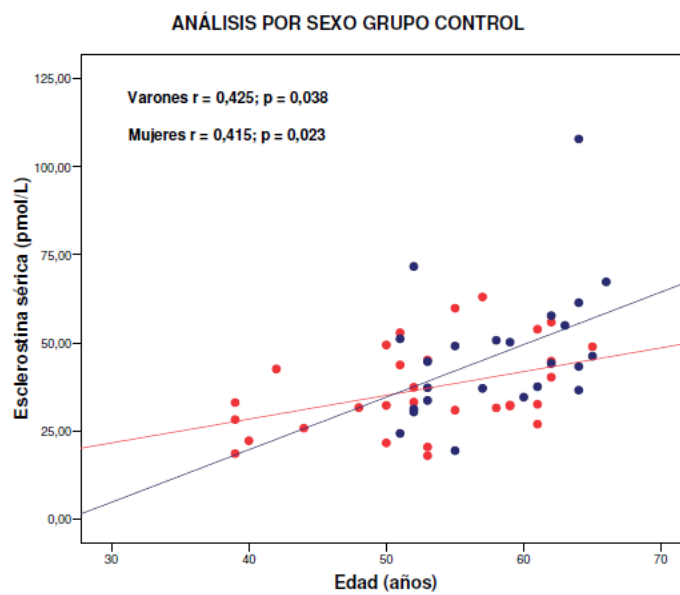
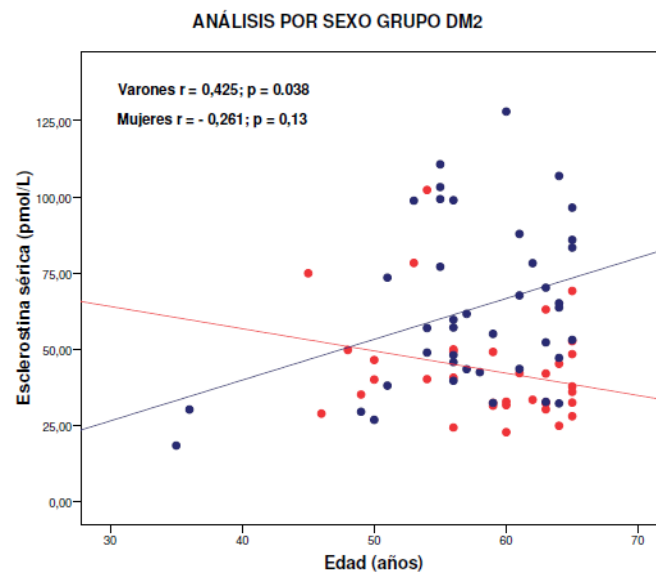
Figura 2.2. Correlación lineal simple entre esclerostina sérica y edad en función del grupo de estudio.



Grupo DM2: círculos negros y línea continua.

Grupo Control: círculos blancos y línea discontinua.

Figura 2.3. Correlación lineal simple entre esclerostina sérica y edad en función del grupo de estudio y sexo.



Varones: círculos y línea azules.

Mujeres: círculos y línea rojos.

2.3. Relación entre esclerostina y función renal

En la muestra total, los niveles séricos de esclerostina mostraron una correlación positiva con los valores séricos de creatinina ($r = 0,382$, $p < 0,001$) y negativa con el filtrado glomerular ($r = - 0,225$, $p = 0,01$) Tras el ajuste por edad esta relación se mantuvo significativa para los valores séricos de creatinina ($r = 0,342$, $p = 0,001$) aunque no para el filtrado glomerular ($r = - 0,147$, $p = 0,097$).

En el análisis por sexo los niveles séricos de esclerostina se correlacionaron positivamente con los valores séricos de creatinina y negativamente con el filtrado glomerular tanto en varones ($r = 0,340$, $p = 0,006$ y $r = - 0,294$, $p = 0,017$) como en mujeres ($r = 0,252$, $p = 0,043$ y $r = - 0,164$, $p = 0,193$) aunque no se mantuvo la significación estadística en el filtrado glomerular en mujeres.

En la tabla 2.2 se representan los coeficientes de correlación entre la función renal y los niveles séricos de esclerostina según el grupo de estudio y el sexo y tras el ajuste por edad.

Tabla 2.2. Correlación niveles séricos de esclerostina y función renal.

	Grupo DM2		Grupo Control	
	Simple	Ajus. edad	Simple	Ajus. edad
Total				
Creatinina (mg/dl)	$r = 0,37^{**}$	$r = 0,361^{**}$	$r = 0,38^{**}$	$r = 0,261$
FG (ml/min/1.73m ²)	$r = - 0,184$	$r = - 0,163$	$r = 0,348^{**}$	$r = - 0,182$
Varones				
Creatinina (mg/dl)	$r = 0,431^{**}$	$r = 0,434^{**}$	$r = 0,095$	$r = 0,178$
FG (ml/min/1.73m ²)	$r = - 0,345^*$	$r = - 0,251$	$r = - 0,236$	$r = - 0,19$
Mujeres				
Creatinina (mg/dl)	$r = 0,116$	$r = 0,215$	$r = 0,499^{**}$	$r = 0,397^*$
FG (ml/min/1.73m ²)	$r = - 0,046$	$r = - 0,168$	$r = - 0,427^{**}$	$r = - 0,275$

FG: filtrado glomerular. * $p < 0,05$ y ** $p < 0,01$

2.4. Relación entre esclerostina e índice de masa corporal

Los niveles séricos de esclerostina no se correlacionaron con el índice de masa corporal ($r = 0,092$, $p = 0,298$) en la muestra total. Tras el ajuste por edad tampoco se observó relación ($r = 0,072$, $p = 0,417$).

Sin embargo, en el análisis por sexo los niveles séricos de esclerostina se correlacionaron positivamente con el índice de masa corporal en varones ($r = 0,288$, $p = 0,02$). Tras ajustar por edad esta relación se mantuvo significativa ($r = 0,250$, $p = 0,046$). En mujeres los niveles séricos de esclerostina no se correlacionaron con el índice de masa corporal ($r = 0,144$, $p = 0,252$; ajustado a edad $r = 0,135$, $p = 0,289$).

En la tabla 2.3 se representan los coeficientes de correlación entre el índice de masa corporal y los niveles séricos de esclerostina según el grupo de estudio y el sexo y tras el ajuste por edad.

Tabla 2.3. Correlación niveles séricos de esclerostina e índice de masa corporal.

	Grupo DM2		Grupo Control	
	<i>Simple</i>	<i>Ajus. edad</i>	<i>Simple</i>	<i>Ajus. edad</i>
Total	$r = 0,029$	$r = 0,025$	$r = 0,086$	$r = 0,057$
Varones	$r = 0,258$	$r = 0,199$	$r = 0,187$	$r = 0,149$
Mujeres	$r = 0,068$	$r = 0,027$	$r = 0,173$	$r = 0,108$

2.5. Esclerostina en función de la actividad física

En la tabla 2.4 se representa la relación de los niveles séricos de esclerostina con la actividad física.

Tabla 2.4. Niveles séricos de esclerostina en función del grado de actividad física.

	Sedentarios	Activos
Muestra total	47,04 (21,76) n: 61	50,16 (23,18) n: 69
<i>Varones</i>	57,22 (24,69) n: 24	57,03 (25,97) n: 41
<i>Mujeres</i>	40,43 (19,9) n: 37	40,1 (13,33) n: 28
Grupo DM2	52,32 (23,96) n: 41	55,83 (26,3) n: 35
<i>Varones</i>	63,64 (24,66) n: 18	62,77 (29,3) n: 23
<i>Mujeres</i>	43,46 (19,69) n: 23	42,53 (11,29) n: 12
Grupo Control	36,23 (10,18) n: 20	44,32 (18,05) n: 34
<i>Varones</i>	37,98 (12,01) n: 6	49,67 (19,3) n: 18
<i>Mujeres</i>	35,47 (9,69) n: 14	38,27 (14,77) n: 16

Datos expresados como media (desviación estándar).

No existieron diferencias en los niveles séricos de esclerostina según el grado de actividad física.

2.6. Esclerostina en función del estatus menopáusico

En la tabla 2.5 se representa la relación de los niveles séricos de esclerostina con el estatus menopáusico en las mujeres de nuestro estudio.

Tabla 2.5. Niveles séricos de esclerostina en función del estatus menopáusico.

	Premenopáusicas	Posmenopáusicas
Muestra total	39,9 (22,3) n: 16	40,41 (12,6) n: 49
Grupo DM2	59,15 (29,5) n: 5	40,47 (13,1) n: 30
Grupo Control	31,16 (11,3) n: 11	40,32 (12,2) n: 19

Datos expresados como media (desviación estándar).

No existieron diferencias en los niveles séricos de esclerostina según el estatus menopáusico.

3. Relación con el metabolismo óseo

3.1. Relación de esclerostina, hormonas calciotropas y marcadores de remodelado óseo

En la tabla 3.1 se representa la relación de los niveles séricos de esclerostina con las hormonas calciotropas. Las concentraciones de esclerostina se relacionaron de forma inversa con la parathormona sólo en mujeres ($p = 0,025$).

Tabla 3.1. Correlación lineal simple entre esclerostina sérica y hormonas calciotropas en función del grupo y el sexo.

	PTH	25 OHD
Muestra total	$r = - 0,174$	$r = - 0,122$
<i>Varones</i>	$r = 0,011$	$r = - 0,112$
<i>Mujeres</i>	$r = - 0,287^*$	$r = - 0,105$
Grupo DM2	$r = - 0,143$	$r = - 0,104$
<i>Varones</i>	$r = 0,095$	$r = - 0,124$
<i>Mujeres</i>	$r = - 0,234$	$r = - 0,069$
Grupo Control	$r = - 0,025$	$r = - 0,051$
<i>Varones</i>	$r = 0,311$	$r = 0,054$
<i>Mujeres</i>	$r = - 0,302$	$r = - 0,088$

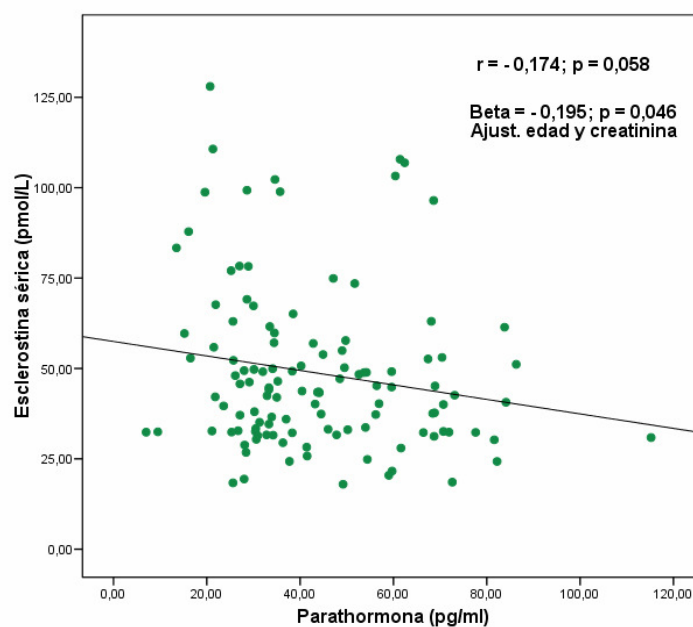
PTH: parathormona; 25 OHD: 25 hidroxivitamina D.

* $p < 0,05$ y ** $p < 0,01$.

Sin embargo, tras ajustar por edad y cifras de creatinina, encontramos una asociación negativa y estadísticamente significativa entre la concentración sérica de esclerostina y la de la parathormona en la muestra total ($\beta = -0,195$, $p = 0,046$).

En la figura 3.1 se muestra esta relación.

Figura 3.1. Correlación lineal simple entre esclerostina sérica y PTH en la muestra total.



En la tabla 3.2 se representa la relación de los niveles séricos de esclerostina con los marcadores de remodelado óseo.

Tabla 3.2. Correlación lineal simple entre esclerostina sérica y MRO en función del grupo y el sexo.

	OC	FA ósea	CTX	TRAP
Muestra total	r = - 0,043	r = - 0,124	r = - 0,363**	r = - 0,306**
<i>Varones</i>	r = 0,023	r = - 0,110	r = - 0,447**	r = - 0,320*
<i>Mujeres</i>	r = - 0,013	r = 0,005	r = - 0,174	r = - 0,280*
Grupo DM2	r = 0,055	r = - 0,259*	r = - 0,356**	r = - 0,289*
<i>Varones</i>	r = 0,066	r = - 0,311*	r = - 0,248	r = - 0,214
<i>Mujeres</i>	r = 0,198	r = - 0,133	r = - 0,257	r = - 0,344*
Grupo Control	r = - 0,265	r = 0,008	r = - 0,174	r = - 0,184
<i>Varones</i>	r = - 0,130	r = 0,029	r = - 0,461*	r = - 0,341
<i>Mujeres</i>	r = - 0,345	r = 0,175	r = 0,019	r = - 0,112

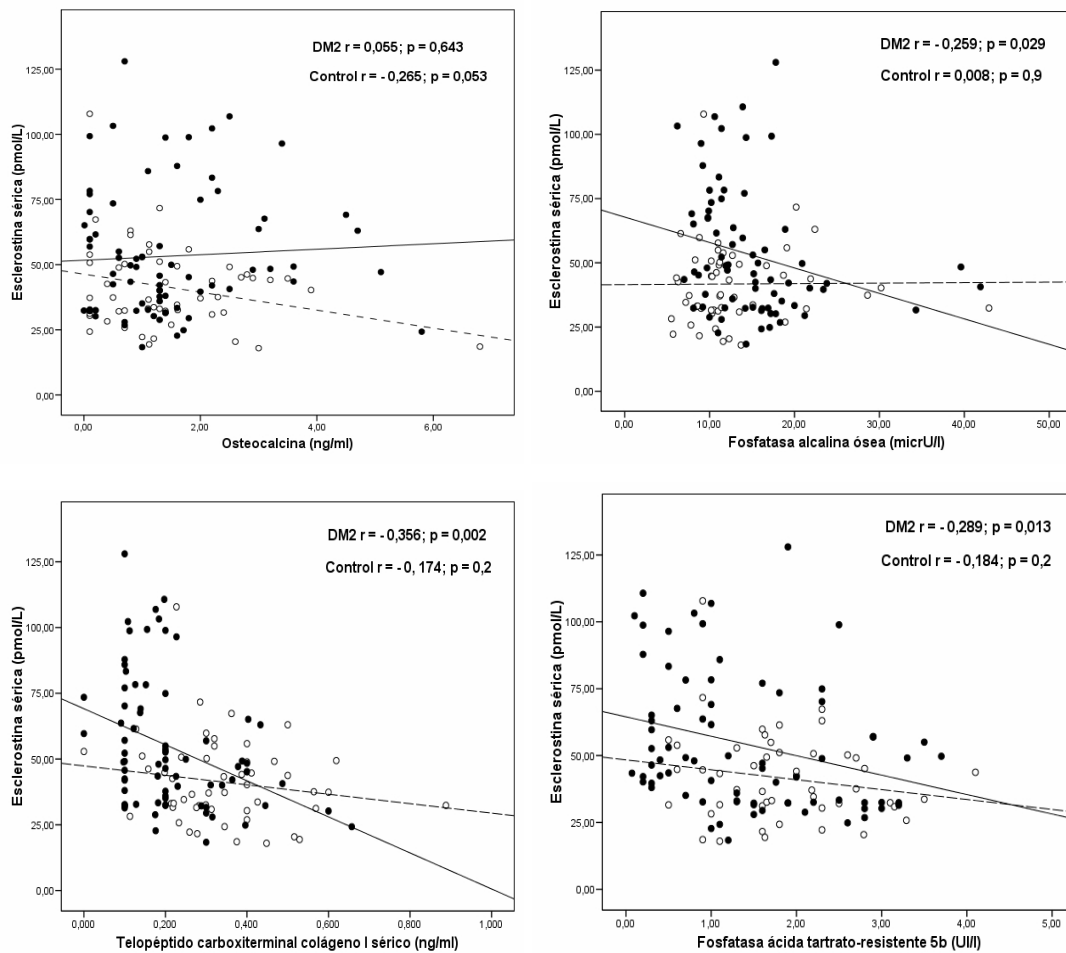
OC: osteocalcina; FA ósea: fosfatasa alcalina ósea; CTX: telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo 1; TRAP: fosfatasa ácida tartrato-resistente. * $p < 0,05$ y ** $p < 0,01$.

Respecto a los marcadores de remodelado óseo en la totalidad de la muestra encontramos una correlación negativa y estadísticamente significativa con los marcadores de resorción CTX ($p < 0,001$) y TRAP ($p = 0,001$) mientras que no hubo asociación con los marcadores de formación osteocalcina y FA ósea.

En el grupo DM2 los niveles de esclerostina se correlacionaron negativamente y de forma significativa tanto con CTX ($p = 0,002$) y TRAP ($p = 0,013$) como con FA ósea ($p = 0,029$). Sin embargo en el grupo control no hubo relación con ningún marcador de remodelado óseo salvo en varones con CTX ($p = 0,023$).

En la figura 3.1 representamos la relación entre los marcadores de remodelado óseo y los niveles séricos de esclerostina según el grupo.

Figura 3.5. Correlación lineal simple entre esclerostina sérica y MRO en función del grupo.



Grupo DM2: círculos negros y línea continua. Grupo Control: círculos blancos y línea discontinua.

3.2. Relación entre esclerostina y densidad mineral ósea

En el total de la muestra encontramos una correlación positiva entre los niveles de esclerostina y la masa ósea expresada como densidad mineral ósea, T-score y Z-score en las tres localizaciones estudiadas. En la tabla 3.3 representamos los coeficientes de correlación simple y correlación parcial (ajuste por edad).

Tabla 3.3. Correlación niveles séricos de esclerostina y parámetros DXA muestra total.

	Simple	Ajus. edad
DMO CL (g/cm²)	r = 0,235**	r = 0,318**
T-score CL	r = 0,191*	r = 0,273*
Z-score CL	r = 0,174	r = 0,178
DMO CF (g/cm²)	r = 0,379**	r = 0,428**
T-score CF	r = 0,284**	r = 0,348**
Z-score CF	r = 0,322**	r = 0,304**
DMO TC (g/cm²)	r = 0,435**	r = 0,470**
T-score TC	r = 0,334**	r = 0,384**
Z-score TC	r = 0,319**	r = 0,312**

DXA: absorciometría dual por rayos X; DMO: densidad mineral ósea; CL: columna lumbar; CF: cuello femoral; TC: cadera total. * p < 0,05 y ** p < 0,01.

La correlación positiva entre esclerostina y masa ósea se observó en las tres localizaciones estudiadas tanto en el grupo DM2 como en el grupo control.

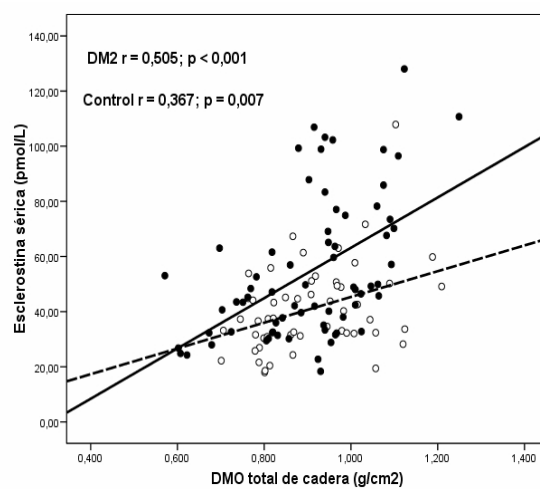
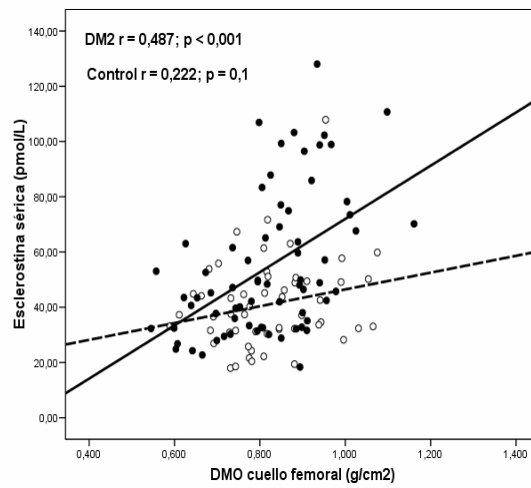
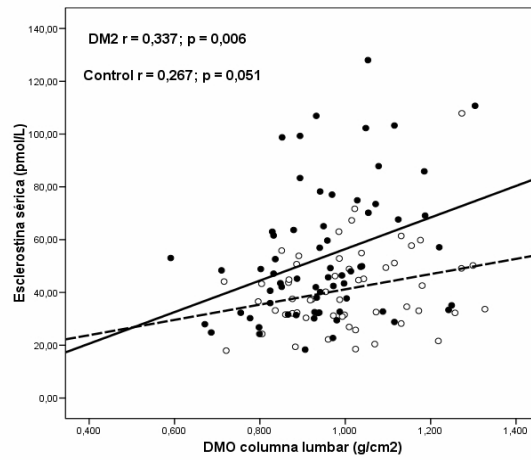
En la tabla 3.4 y la figura 3.6 se representan los coeficientes de correlación y el nivel de significación de la relación entre masa ósea y esclerostina.

Tabla 3.4. Correlación niveles séricos de esclerostina y parámetros DXA según el grupo.

	Grupo DM2		Grupo Control	
	<i>Simple</i>	<i>Ajus. edad</i>	<i>Simple</i>	<i>Ajus. edad</i>
DMO CL (g/cm²)	r = 0,337**	r = 0,373**	r = 0,267	r = 0,409**
T-score CL	r = 0,285*	r = 0,313*	r = 0,231	r = 0,395**
Z-score CL	r = 0,199	r = 0,192	r = 0,277*	r = 0,338*
DMO CF (g/cm²)	r = 0,487**	r = 0,492**	r = 0,222	r = 0,329*
T-score CF	r = 0,405**	r = 0,408**	r = 0,136	r = 0,292*
Z-score CF	r = 0,396**	r = 0,391**	r = 0,205	r = 0,240
DMO TC (g/cm²)	r = 0,505**	r = 0,524**	r = 0,367**	r = 0,400**
T-score TC	r = 0,406**	r = 0,427**	r = 0,284*	r = 0,357**
Z-score TC	r = 0,328**	r = 0,323**	r = 0,328*	r = 0,323*

DXA: absorciometría dual por rayos X; DMO: densidad mineral ósea; CL: columna lumbar; CF: cuello femoral; TC: cadera total. * p < 0,05 y ** p < 0,01.

Figura 3.6. Correlación lineal simple entre esclerostina sérica y densidad mineral ósea en función del grupo.



Grupo DM2: círculos negros y línea continua.

Grupo Control: círculos blancos y línea discontinua.

La correlación entre esclerostina y masa ósea se mantuvo al analizar por sexo, salvo en los valores de densidad mineral ósea y T-score de columna lumbar en mujeres.

En la tabla 3.3 se muestran estos resultados.

Tabla 3.5. Correlación niveles séricos de esclerostina y parámetros DXA según el sexo.

	Hombres		Mujeres	
	<i>Simple</i>	<i>Ajus. edad</i>	<i>Simple</i>	<i>Ajus. edad</i>
DMO CL (g/cm²)	r = 0,307*	r = 0,326*	r = 0,109	r = 0,205
T-score CL	r = 0,308*	r = 0,326*	r = 0,119	r = 0,212
Z-score CL	r = 0,374**	r = 0,351**	r = 0,209	r = 0,223
DMO CF (g/cm²)	r = 0,364**	r = 0,368**	r = 0,254*	r = 0,336**
T-score CF	r = 0,365**	r = 0,372**	r = 0,261*	r = 0,344**
Z-score CF	r = 0,458**	r = 0,418**	r = 0,336**	r = 0,333*
DMO TC (g/cm²)	r = 0,429**	r = 0,451**	r = 0,308*	r = 0,357**
T-score TC	r = 0,437**	r = 0,456**	r = 0,304*	r = 0,354**
Z-score TC	r = 0,479**	r = 0,469**	r = 0,411*	r = 0,404**

DXA: absorciometría dual por rayos X; DMO: densidad mineral ósea; CL: columna lumbar; CF: cuello femoral; TC: total de cadera. * p < 0,05 y ** p < 0,01.

3.3. Esclerostina en función del diagnóstico de osteoporosis

En la tabla 3.6 se representa los niveles séricos de esclerostina en relación a la presencia de criterios densitométricos de osteoporosis.

Tabla 3.6. Niveles séricos de esclerostina en función del diagnóstico de osteoporosis.

	NO	SÍ
Muestra total	49,57 (22,95) n: 110	40,53 (17,82) n: 20
<i>Varones</i>	58,6 (26,27) n: 54	48,1 (19,97) n: 11
<i>Mujeres</i>	41,25 (15,49) n: 56	31,4 (9,24) n: 51
Grupo DM2	56,95 (25,98) n: 61	42,96 (19,16) n: 15
<i>Varones</i>	65,53 (28,19) n: 34	54,24 (22,3) n: 7
<i>Mujeres</i>	46,04 (18,17) n: 27	43,08 (8,28) n: 8
Grupo Control	41,88 (16,29) n: 49	33,25 (11,66) n: 5
<i>Varones</i>	48,38 (19,67) n: 20	37,07 (9,17) n: 4
<i>Mujeres</i>	37,62 (12,22) n: 29	17,97 n: 1

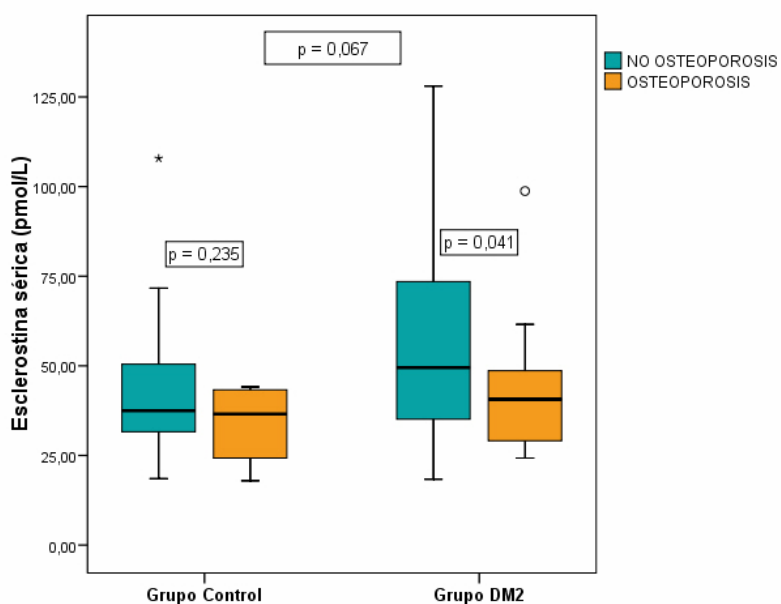
Datos expresados como media (desviación estándar).

En el total de la muestra, los niveles de esclerostina fueron más bajos en los sujetos con osteoporosis aunque no se alcanzó la significación estadística ($p = 0,067$). Las mujeres con osteoporosis presentaron menores niveles de esclerostina respecto a las no osteoporóticas ($p = 0,039$). También los niveles

de esclerostina fueron significativamente más bajos en los pacientes diabéticos con osteoporosis frente a los no osteoporóticos ($p = 0,041$).

En la figura 3.2 se muestran los niveles de esclerostina en función del diagnóstico de osteoporosis densitométrica y según el grupo de estudio.

Figura 3.7. Niveles séricos de esclerostina en función del diagnóstico de osteoporosis densitométrica y según el grupo.



3.4. Esclerostina en función de la presencia de fracturas vertebrales

Sin embargo, no encontramos diferencias cuando analizamos los niveles de esclerostina en función de la presencia de fracturas vertebrales morfométricas.

En la tabla 3.7 se muestran los resultados.

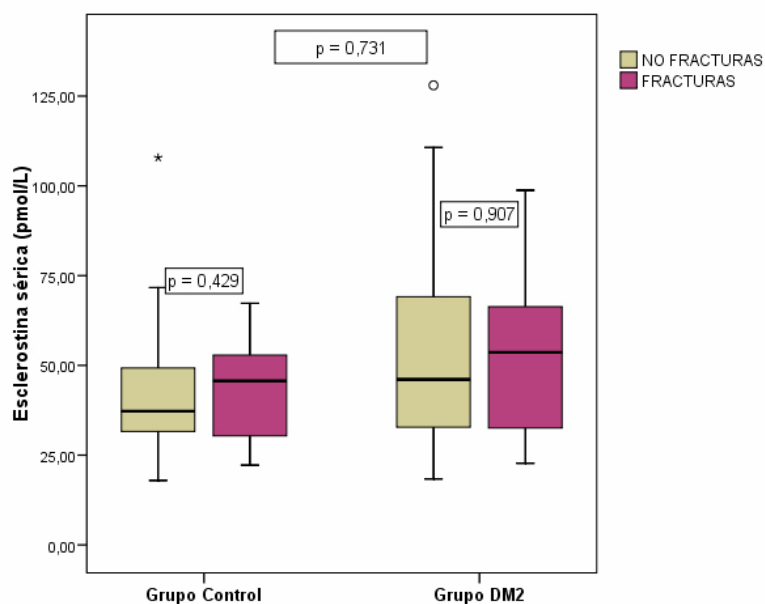
Tabla 3.7. Niveles séricos de esclerostina en función de las fracturas vertebrales.

	NO	SÍ
Muestra total	48,83 (23,93) n: 100	50,52 (20,98) n: 30
<i>Varones</i>	58,44 (29,33) n: 46	58,5 (20,69) n: 19
<i>Mujeres</i>	41,76 (15,95) n: 54	36,75 (13,25) n: 11
Grupo DM2	54,03 (26,55) n: 56	53,72 (23,27) n: 20
<i>Varones</i>	65,34 (31,82) n: 27	61,33 (22,41) n: 14
<i>Mujeres</i>	42,14 (17,51) n: 29	35,95 (14,53) n: 6
Grupo Control	41,39 (17,38) n: 44	44,14 (14,38) n: 10
<i>Varones</i>	47,6 (21,8) n: 19	50,55 (13,77) n: 5
<i>Mujeres</i>	37,26 (12,64) n: 25	37,72 (13,15) n: 5

Datos expresados como media (desviación estándar).

En la figura 3.8 se muestran los niveles de esclerostina en función de la presencia de fracturas vertebrales morfométrica y según el grupo de estudio.

Figura 3.8 .Niveles séricos de esclerostina en función de la presencia de fracturas vertebrales morfométricas y según el grupo.



Tampoco encontramos diferencias cuando estudiamos los niveles de esclerostina según el antecedente previo de fractura por fragilidad. Tabla 3.8.

Tabla 3.8. Niveles séricos de esclerostina en función del antecedente de fractura.

	NO	SI
Muestra total	49,44 (22,84) n: 122	37,39 (12,4) n: 8
Grupo DM2	55,54 (25,36) n: 69	38,11 (13,21) n: 7
Grupo Control	41,49 (16,1) n: 53	32,36 n: 1

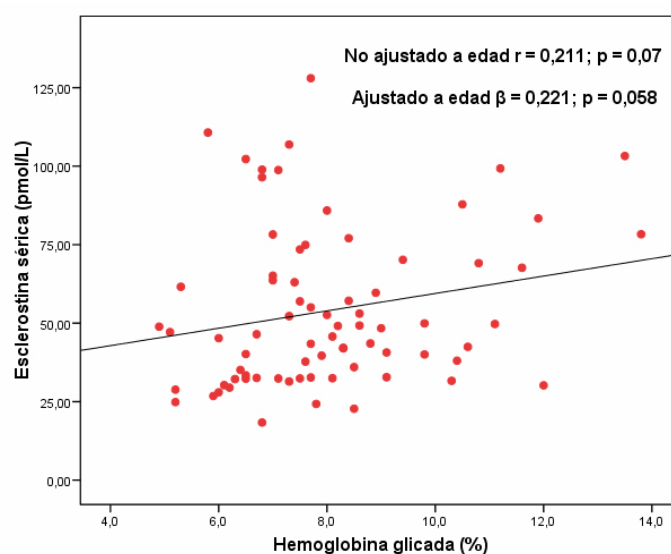
4. Esclerostina y control metabólico en pacientes DM2

4.1. Relación entre esclerostina y hemoglobina glicada

En los pacientes diabéticos encontramos una relación positiva entre los niveles séricos de esclerostina y los valores de HbA1c independientemente de la edad ($\beta = 0,221$, $p = 0,058$).

En la figura 4.1 se muestra esta relación.

Figura 4.1. Correlación lineal simple entre esclerostina sérica y HbA1c.



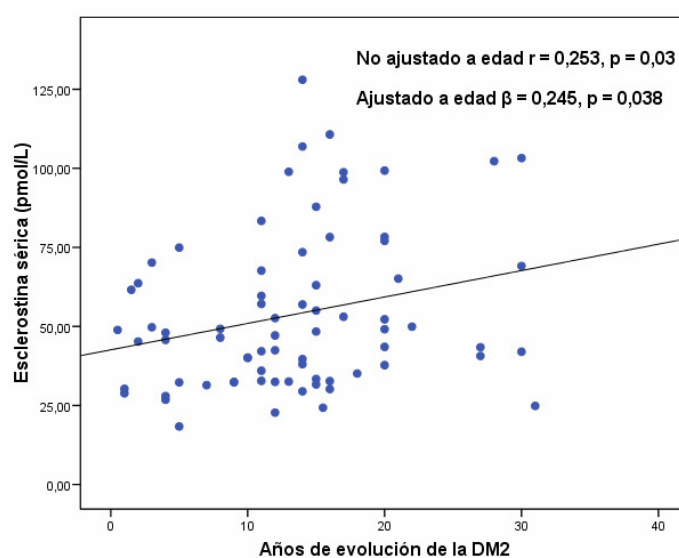
Sin embargo, no encontramos diferencias en los niveles séricos de esclerostina entre los pacientes con diabetes que presentaron un adecuado control metabólico con una HbA1c inferior al 7% (n: 26) y los que no (n: 50): 50,27 (27,24) frente a 55,88 (24,05), $p = 0,118$.

4.2. Relación entre esclerostina y duración de la DM2

En los pacientes diabéticos encontramos una relación positiva entre los niveles séricos de esclerostina y la duración de la diabetes independientemente de la edad ($\beta = 0,245$, $p = 0,038$).

En la figura 4.2 se muestra esta relación.

Figura 4.2. Correlación lineal simple entre esclerostina sérica y duración de DM2.



5. Análisis multivariante

El 47,8% de la variabilidad de las concentraciones séricas de esclerostina se explica por el grupo de estudio y el sexo ($p = 0,006$), la edad ($p = 0,004$), los niveles de creatinina ($p = 0,001$) y la densidad mineral ósea ($p < 0,001$).

En la tabla 5.1 se muestran los resultados del análisis de regresión lineal múltiple en el total de la muestra.

Tabla 5.1. Regresión lineal múltiple en la muestra de estudio.

<i>V. dependientes</i>	Beta	Error típico	Beta est.	t
(Constante)	-91,875	21,549		- 4,264
Grupo estudio	1,457	5,056	0,032	0,288
Sexo	- 6,697	5,570	- 0,147	- 1,202
Edad (años)	0,833	0,280	0,244	2,976
Creatinina (mg/dl)	32,866	9,690	0,269	3,392
IMC (kg/m²)	- 0,272	0,366	- 0,062	- 0,743
Actividad física	- 2,480	3,556	- 0,054	- 0,679
DMO CT (g/cm²)	77,060	14,087	0,455	5,470
PTHi (pg/ml)	0,017	0,093	0,014	0,179
Interacción Grupo-Sexo	19,133	6,857	0,385	2,790

Variable independiente: Esclerostina sérica (pmol/L).

IMC: índice de masa corporal, DMO: densidad mineral ósea; CT: cadera total; PTH: parathormona.

En rojo, variables predictoras de esclerostina sérica.

En el grupo DM2, el 57,4% de la variabilidad de las concentraciones séricas de esclerostina se explica por la edad ($p = 0,07$), el sexo ($p = 0,017$), los niveles de creatinina ($p = 0,001$), la densidad mineral ósea ($p < 0,001$) y la duración de la diabetes ($p = 0,066$). Sin embargo, la HbA1c no es una variable predictora de los niveles de esclerostina ($p = 0,813$).

En la tabla 5.2 se muestran los resultados del análisis de regresión lineal múltiple en los pacientes con diabetes.

Tabla 5.1. Regresión lineal múltiple en el grupo DM2.

<i>V. dependientes</i>	Beta	Error típico	Beta est.	t
(Constante)	-123,413	28,689		-4,302
Sexo	0,637	0,345	0,166	1,845
Edad (años)	12,045	4,923	0,234	2,447
Creatinina (mg/dl)	42,706	11,890	0,332	3,592
DMO CT (g/cm²)	96,689	16,663	0,535	5,803
Duración DM2 (años)	0,875	0,305	0,261	2,870
HbA1c	- 0,300	1,259	- 0,022	-,238

Variable independiente: Esclerostina sérica (pmol/L).

DMO: densidad mineral ósea; CT: cadera total; HbA1c: hemoglobina glicada.

En rojo, variables predictoras de esclerostina sérica.

DISCUSIÓN

1. Niveles séricos de esclerostina en diabéticos y controles

Nuestros resultados demuestran que los niveles séricos de esclerostina están elevados en los pacientes con diabetes respecto al grupo control independientemente del sexo y la edad. Estos hallazgos sugieren que la vía de señalización Wnt se encuentra alterada en la DM2.

Existen escasos datos publicados sobre la vía Wnt y esclerostina en la diabetes mellitus. En modelos animales, se ha comprobado que existe una supresión en la expresión génica de esclerostina tanto en ratones con DM1¹³⁹ como en ratas con DM2⁸⁹. Sin embargo, en ratas con insulínresistencia se ha encontrado una sobreexpresión génica de esclerostina⁸⁹.

Nuti y colaboradores también han encontrado niveles de esclerostina significativamente más altos en los pacientes DM2 frente a los controles y los pacientes DM1, independientemente de la edad y el IMC¹⁵¹.

En nuestro estudio, los niveles de PTH fueron más bajos en los pacientes con diabetes comparados con el grupo control, alteración que ya ha sido descrita en la DM2¹⁰⁸. Estos hallazgos podrían explicar en parte el aumento de la esclerostina en los pacientes con diabetes ya que la parathormona ejerce una acción inhibitoria sobre la transcripción génica de la esclerostina en el osteocito⁷⁵.

En este sentido, nuestros datos confirman resultados previos en los que la infusión continua de PTH en varones sanos y el tratamiento con PTH subcutánea en mujeres posmenopáusicas reduce los niveles séricos de esclerostina^{152, 153}.

Asimismo, los estímulos mecánicos sobre el esqueleto reducen la expresión de esclerostina⁷³ y los niveles de esclerostina están aumentados en mujeres

inmovilizadas tras un accidente cerebrovascular¹⁵⁴. En nuestro estudio, encontramos un menor grado de actividad física en los pacientes con diabetes respecto al grupo control, lo que también podría contribuir a la elevación de los niveles séricos de esclerostina.

La hiperglucemia altera la calidad ósea tanto por sus efectos directos sobre las células óseas como por sus efectos indirectos, por lo que nuestra hipótesis es que la diabetes estimula la síntesis de esclerostina por el osteocito. De esta forma, en nuestra muestra de estudio la presencia de la enfermedad en sí misma constituye un factor por el que los niveles de esclerostina son mayores en los pacientes con diabetes respecto a los controles no diabéticos.

Por otro lado, la esclerostina podría sufrir un proceso de glicación como ocurre con otras proteínas en la diabetes aunque esta hipótesis está aún por verificar. El proceso de glicación conlleva un aumento de la vida media de la proteína glicada⁸⁹, si la esclerostina se encontrara glicada tendría una mayor vida media lo que podría contribuir a los niveles aumentados en pacientes con diabetes.

2. Determinantes de los niveles séricos de esclerostina

Como determinantes de los niveles séricos de esclerostina en nuestro estudio destacan el sexo, la edad y la función renal.

Sexo

Los niveles de esclerostina se encontraron aumentados en varones tanto en el grupo DM2 como el grupo control. Estos resultados coinciden con lo descrito en una amplia cohorte poblacional de 362 mujeres y 318 varones donde las

mujeres ya fueran pre o posmenopáusicas presentaron menores niveles de esclerostina que los varones¹⁵⁵. Sin embargo, en un trabajo posterior considerando sólo mujeres premenopáusicas no se encontraron diferencias según el sexo tras ajustar por edad, DMO, actividad física, IMC y función renal¹⁵⁶. Los autores de ambos estudios postulan que el mayor tamaño del esqueleto, alrededor de un 21%, en el varón podría explicar las diferencias de género en las concentraciones séricas de esclerostina.

Por otra parte, Mödder y colaboradores sostienen que los estrógenos influyen y regulan la síntesis de esclerostina basándose en las diferencias observadas en los niveles de esclerostina entre mujeres pre y posmenopáusicas, siendo estos más bajos en premenopáusicas, y en un estudio previo en el que el tratamiento con estrógenos en posmenopáusicas descende los niveles de esclerostina un 27%¹⁵⁷. Además, en mujeres posmenopáusicas se ha observado una relación inversa entre la esclerostina sérica y los estrógenos no unidos a la proteína transportadora de hormonas sexuales (SHBG)¹⁵⁸. Finalmente, los estudios moleculares apoyan el papel estrogénico en la regulación de la masa ósea a través de la vía Wnt mediante el receptor α estrogénico que interviene en el transporte al núcleo de la β -catenina en respuesta a la tensión mecánica del osteocito⁶¹.

Edad

Observamos un aumento de los niveles séricos de esclerostina con la edad tanto en varones con diabetes como en el grupo control. La influencia de la edad sobre los niveles de esclerostina está siendo estudiada en profundidad. Se sabe que la expresión de las proteínas de la vía Wnt por el osteoblasto están reguladas individualmente por la edad¹⁵⁹, y diversos estudios clínicos han confirmado esta relación tanto en varones como en mujeres^{155, 156}.

Así, en un trabajo poblacional realizado en 1235 mujeres premenopáusicas y 568 mujeres posmenopáusicas en un rango de edad de 20 a 79 años se analizan los cambios de las concentraciones séricas de esclerostina con la edad. Una de las conclusiones fue que entre los 35 y 45 años los niveles de esclerostina se mantienen estables y a partir de los 45 años se incrementan progresivamente¹⁶⁰. Algunos autores postulan que la producción de esclerostina en cada osteocito se incrementa con la edad aunque no excluyen la posibilidad de que también se reduzca su aclaramiento¹⁵⁵.

Función renal

Aunque se desconoce la vía de eliminación de la esclerostina, la opción más probable dado el tamaño y el peso molecular de esta proteína es que su eliminación sea por vía renal. En nuestro estudio los niveles de esclerostina se relacionaron positivamente con las concentraciones séricas de creatinina y de forma negativa con el filtrado glomerular.

Estos resultados coinciden con trabajos previos que muestran que los niveles de esclerostina aumentan con el deterioro de la función renal, sobre todo en la insuficiencia renal crónica grado 3 o superior, y sin relación con la función hepática¹⁶¹. Asimismo, en los pacientes con enfermedad renal crónica en hemodiálisis los niveles de esclerostina están elevados respecto a los controles¹⁶². En base a estos datos, los estudios más recientes que analizan la concentración de esclerostina en diversas situaciones contemplan la función renal como variable que influye en la misma¹⁵⁶.

Sin embargo, en el trabajo de Ardawi y colaboradores el incremento de la esclerostina con la edad se ve mínimamente afectado por el descenso en el aclaramiento de creatinina relacionado con la edad en una amplia cohorte de mujeres¹⁶⁰.

Índice de masa corporal, actividad física y estatus menopáusico

Se ha demostrado que los niveles de esclerostina se relacionan positivamente con el IMC¹⁶⁰ y el porcentaje de grasa corporal¹⁵⁶, están aumentados en pacientes inmobilizados ya sea por ictus o lesión medular aguda^{154, 163}, difieren según el grado de actividad física¹⁵⁶ y que las mujeres premenopáusicas tienen niveles menores de esclerostina que las posmenopáusicas¹⁵⁸.

No obstante, no hemos podido confirmar la relación entre los niveles de esclerostina y el IMC, el grado de actividad física ni el estatus menopáusico. Creemos que la complejidad de la interacción entre la obesidad (definida en función del IMC), la DM2 y el metabolismo óseo puede explicar que no encontráramos asociación entre el IMC y la esclerostina debido a la existencia de variables influyentes no consideradas en nuestro análisis. Asimismo, la actividad física resulta difícil de medir siendo los cuestionarios específicos métodos con una exactitud limitada. Por último, el escaso número de mujeres premenopáusicas en nuestra muestra resta potencia estadística para encontrar diferencias según el estatus menopáusico.

3. Relación con el metabolismo óseo

Hormonas calciotropas y marcadores de remodelado óseo

La PTH tiene un papel inhibitor en la producción de esclerostina como ya se ha mencionado, de tal forma que la terapia con PTH disminuye los niveles de esclerostina^{75, 163}. En este sentido, se han descrito niveles de esclerostina más bajos en pacientes con hiperparatiroidismo primario respecto a controles

euparatiroides¹⁶⁴ y mayores niveles en pacientes con hipoparatiroidismo frente a pacientes con hiperparatiroidismo y controles¹⁶⁵.

En nuestro estudio, los niveles de esclerostina se asociaron negativamente con los de PTH tras ajustar por edad y función renal en la muestra total aunque en el análisis por grupos esta asociación no se mantuvo. La disfunción en la homeostasis cálcica propia de la DM2 podría mediar en la ausencia de relación en el grupo de pacientes con diabetes mientras que en el grupo control el tamaño muestral puede ser pequeño para que persista la correlación.

Conceptualmente, concentraciones elevadas de esclerostina deberían asociarse con un descenso en los marcadores de formación ósea. Sin embargo, encontramos que los niveles de esclerostina en los pacientes con diabetes se relacionaron negativamente tanto con marcadores de formación (FA ósea) como de resorción (CTX y TRAP).

De forma similar, en mujeres mayores de 60 años los niveles de esclerostina se han asociado negativamente tanto con FA ósea y propéptido aminoterminal del colágeno tipo 1 (P1NP) como con CTX sérico¹⁵⁵. En las pacientes inmobilizadas tras un ictus la esclerostina sérica se correlaciona de forma negativa con FA ósea y de forma positiva con CTX¹⁵⁴ y en las enfermedades paratiroides se ha observado una relación con los marcadores que difiere según sea el trastorno: asociación negativa con P1NP pero ausente con CTX en el hiperparatiroidismo y asociación positiva con CTX pero ausente con P1NP en el hipoparatiroidismo¹⁶⁵. También se ha observado que la relación negativa entre esclerostina y diversos marcadores de remodelado óseo observada en mujeres sanas pre y posmenopáusicas se pierde tras ajustar por edad e índice de masa corporal¹⁶⁰.

En los sujetos del grupo control de nuestro estudio no encontramos relación entre los niveles de esclerostina y los marcadores de remodelado óseo al igual que se ha descrito en mujeres sanas¹⁵⁸, pacientes en hemodiálisis¹⁶², mujeres

con osteoporosis posmenopáusicas¹⁶⁶ o en un grupo de mujeres y varones sanos¹⁵⁶. Por tanto, consideramos que los datos sobre esclerostina y marcadores de remodelado óseo son contradictorios, no permitiendo extraer conclusiones definitivas.

Densidad mineral ósea

La masa ósea expresada en DMO, T-score y Z-score se relacionó positivamente con los niveles de esclerostina tanto en el grupo DM2 como en el grupo control de nuestro estudio. Asimismo la DMO fue la principal variable predictora de las concentraciones séricas de esclerostina.

Estos hallazgos difieren de los observados en los pacientes con esclerosteosis o enfermedad de Van Buchem's^{62, 63} y en los modelos de ratones *Knockout* para esclerostina o con sobreexpresión de esclerostina^{167, 168}. Dado que el papel fisiológico de la esclerostina es la inhibición de la proliferación y actividad osteoblástica, lo esperable sería una relación negativa con la masa ósea. Sin embargo, nuestros resultados coinciden con algunos trabajos en los que se examina este aspecto.

Así, en pacientes con insuficiencia renal en hemodiálisis, los niveles de esclerostina se correlacionaron positivamente tanto con la DMO de cuello femoral, columna lumbar y radio así como con la densidad trabecular y el número de trabéculas en el radio y la tibia medidos mediante tomografía computarizada (TC) periférica de alta resolución¹⁶². También en mujeres posmenopáusicas se ha evidenciado una asociación positiva entre los niveles séricos de esclerostina y la DMO en columna lumbar¹⁶⁶, y la DMO y el CMO de columna lumbar y cadera se relacionan positivamente con la concentración de esclerostina en sujetos sanos tras ajustar por edad, sexo y función renal¹⁵⁶. Finalmente, en la cohorte de Mödder y colaboradores, también se encuentra una asociación positiva entre el CMO total y los niveles de esclerostina pero

que sólo es significativa a partir de los 40 años y es mayor a partir de los 60 años¹⁵⁵. Además, los niveles de esclerostina se relacionan positivamente con la DMO de fémur distal y tibia proximal en pacientes con lesión medular crónica¹⁶³.

Por otro lado, otros estudios han mostrado una relación negativa entre esclerostina y masa ósea aunque la significación estadística desaparecía tras ajustar por otras variables como la edad o el IMC^{156, 158}.

Se barajan diversas hipótesis para explicar la relación positiva entre la esclerostina sérica y la masa ósea. La principal es que existan cambios en la producción de esclerostina por los osteocitos en relación con el envejecimiento con una mayor síntesis por cada osteocito individual¹⁵⁵. Por otro lado, el aumento de los niveles de esclerostina supone un descenso de la formación ósea en base a sus funciones fisiológicas y, por tanto, permite que exista un recambio óseo disminuido. Un menor recambio óseo conllevaría una pérdida ósea enlentecida y una mayor masa ósea¹⁶².

Osteoporosis densitométrica

En concordancia con los hallazgos previos, los niveles de esclerostina fueron más bajos en pacientes con diabetes y osteoporosis densitométrica comparados con los pacientes con diabetes y sin osteoporosis densitométrica. En mujeres con osteoporosis posmenopáusica se ha descrito una relación entre osteoporosis y esclerostina similar a la que describimos en DM 2¹⁶². Por el contrario, en el grupo control no encontramos diferencias en función del diagnóstico de osteoporosis densitométrica pero creemos que el bajo número de sujetos con osteoporosis en este grupo puede influir en la ausencia de significación estadística.

Fracturas vertebrales morfométricas

Respecto a la presencia de fracturas vertebrales morfométricas, no encontramos diferencias en los niveles séricos de esclerostina entre pacientes con fracturas y sin fracturas en ninguno de los grupos de estudio. Tampoco hubo diferencias cuando analizamos el antecedente personal de fractura previa por fragilidad. Existen muy pocos trabajos que analicen la relación entre esclerostina sérica y fracturas.

Por un lado, en biopsias de cadera procedentes de pacientes con osteoartritis, fractura de cadera y controles, la expresión génica de esclerostina por el osteocito estuvo disminuida en la osteoartritis y aumentada en las fracturas respecto a las muestras de los controles¹⁶⁹. Sin embargo, cuando un estudio posterior analiza los niveles séricos de esclerostina en controles, pacientes con osteoartritis de cadera y pacientes con fracturas de cadera no encuentra diferencias entre los tres grupos¹⁷⁰. En el mismo trabajo, lo que sí observan es que las muestras óseas de los pacientes fracturados presentan un mayor número de osteocitos con expresión de caspasa 3 (un marcador de apoptosis) y una menor proporción de osteocitos positivos para esclerostina respecto a los controles.

En cambio, el análisis preliminar de la cohorte del *Study of Osteoporotic Fractures* muestra que niveles séricos de esclerostina elevados, por encima del tercer y cuarto cuartil, se asocian con un mayor riesgo de fractura de cadera en mujeres ancianas tras ajustar por edad, IMC, DMO, terapia estrogénica y antecedente previo de fractura¹⁷¹.

Consideramos que el número de pacientes con fracturas vertebrales morfométricas en nuestro estudio es muy pequeño para hallar diferencias estadísticamente significativas respecto a los pacientes no fracturados.

4. Relación con el control metabólico en pacientes DM2

Encontramos una asociación positiva entre esclerostina, hemoglobina glicada y duración de la diabetes tras ajustar por edad. En el análisis multivariante, sólo la duración de la diabetes se mantuvo con significación estadística como factor predictor de los niveles de esclerostina.

Hasta el momento, no hay ningún trabajo en el que se haya analizado este aspecto y no se conoce el efecto de la hiperglucemia sobre el osteocito. No obstante, consideramos que estos hallazgos están en consonancia con las cada vez más consistentes evidencias que apoyan la existencia de mecanismos fisiopatológicos recíprocos entre la homeostasis ósea y el metabolismo hidrocarbonado¹⁷².

5. Áreas de incertidumbre y perspectivas futuras

Como hemos mencionado con anterioridad, creemos que la diabetes en si misma influye sobre las concentraciones de esclerostina y reflejo de esta hipótesis es la relación con la hemoglobina glicada y especialmente la duración de la enfermedad. Sin embargo, se desconocen los mecanismos moleculares y celulares por lo que esto ocurre. Nos parece particularmente interesante la idea de comprobar si la esclerostina sufre un proceso de glicación. Al mismo tiempo, el estudio de la relación de la esclerostina con las complicaciones asociadas a la DM2 puede aportar nuevos e interesantes resultados.

La relación positiva con la masa ósea y los menores niveles de esclerostina en los pacientes con osteoporosis supone un hallazgo paradójico respecto a las funciones fisiológicas de la esclerostina que deberá estudiarse con mayor profundidad. Esta es una cuestión que nos hace plantearnos que la proteína esclerostina puede constituirse en el futuro como marcador de calidad ósea.

Por último, debe investigarse la eficacia de nuevos fármacos como los anticuerpos monoclonales antiesclerostina en los pacientes con diabetes. Los resultados en modelos murinos de DM2 muestran que la inhibición de la esclerostina mediante anticuerpos monoclonales aumenta significativamente la masa ósea¹⁷³. Una vez concluyan los ensayos clínicos de estos fármacos, el análisis de los pacientes con diabetes incluidos en los mismos aportará datos más definitivos y útiles para su indicación en esta población.

CONCLUSIONES

1. Los niveles séricos de esclerostina se encuentran elevados en los pacientes con diabetes respecto a los controles independientemente del sexo y la edad.
2. El sexo, la edad, la función renal y la masa ósea son los principales determinantes de los niveles circulantes de esclerostina.
3. Los niveles séricos de esclerostina se relacionan negativamente con los marcadores de remodelado óseo en los pacientes con diabetes.
4. Los niveles séricos de esclerostina se relacionan positivamente con la densidad mineral ósea tanto en pacientes con diabetes como en controles.
5. Los niveles séricos de esclerostina son más bajos en pacientes con diabetes y osteoporosis sin relación con la presencia de fracturas vertebrales.
6. Los niveles séricos de esclerostina en los pacientes con diabetes se asocian positivamente con el valor de la hemoglobina glicada y con la duración de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pogoda P, Priemel M, Rueger JM, Amling M. Bone remodeling: new aspects of a key process that controls skeletal maintenance and repair. *Osteoporos Int* 2005;16 Suppl 2:S18-24.
2. Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1092:385-96.
3. Arnett T. Regulation of bone cell function by acid-base balance. *Proc Nutr Soc* 2003;62:511-20.
4. Arai F, Suda T. Regulation of hematopoietic stem cells in the osteoblastic niche. *Adv Exp Med Biol* 2007;602:61-7.
5. Han Y, Cowin SC, Schaffler MB, Weinsbaum S. Mechanotransduction and strain amplification in osteocyte cell processes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:16689-94.
6. Noble BS, Peet N, Stevens HY, Brabbs A, Mosley JR, Reilly GC, et al. Mechanical loading: biphasic osteocyte survival and the targeting of osteoclasts for bone destruction in rat cortical bone. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003;284:934-43.
7. Bringhurst FR. PTH receptors and apoptosis in osteocytes. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2002;2:245-51.
8. Cosman F, Lindsay R. Therapeutic potential of parathyroid hormone. *Curr Osteoporos Rep* 2004;2:5-11.
9. Van Leeuwen JP, van Driel M, van den Bemd GJ, Pols HA. Vitamin D control of osteoblast function and bone extracellular matrix mineralization. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2001;11:199-226.
10. Zaidi M, Moonga BS, Abe E. Calcitonin and bone formation: a knockout full of surprises. *J Clin Invest* 2002;110:1769-71.
11. Riggs BL, Khosla S, Melton LJ 3rd. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocr Rev* 2002;23:279-302.
12. Sun L, Peng Y, Sharrow AC, Iqbal J, Zhang Z, Papachristou DJ, et al. FSH directly regulates bone mass. *Cell* 2006;125:247-260.

13. García-Martín A, Reyes-García R, García-Castro JM, Rozas-Moreno P, Escobar-Jiménez F, Muñoz-Torres M. Role of serum FSH measurement on bone resorption in postmenopausal women. *Endocrine* 2011 Oct 1 [Epub ahead of print].
14. Canalis E, Denaly AM. Mechanisms of glucocorticoid action in bone. *Ann N Y Acad Sci* 2022;966:73-81.
15. Reyes García R, Rozas Moreno P, Muñoz Torres M. Regulación del proceso de remodelado óseo. *Rev Esp Enferm Metab Oseas* 2008;17:10-4.
16. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003;423:337-42.
17. Hofbauer LC, Heufelder AE. Role of receptor activator of nuclear factor kappa B ligand and osteoprotegerin in bone cell biology. *J Mol Med* 2001;79:245-53.
18. Rogers A, Eastell R. Circulating osteoprotegerin and receptor activator for nuclear factor K β ligand: Clinical utility in metabolic bone disease assesment. *J Clin End Metab* 2005;90:6323-31.
19. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schawartz RE, Keene CE, Ortiz-Gonzalez, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002;418:41-9.
20. Schoeder TM, Jensen ED, Westendorf JJ. Runx2: a master organizer of gene transcription in developing and maturing osteoblasts. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2005;75:213-25.
21. Gazerro E, Canalis E. Bone morphogenetic proteins and their antagonists. *Rev Endocr Metab Disord* 2006;7:51-65.
22. Krishnan V, Bryant HU, McDougald OA. Regulation of bone mass by Wnt signalling. *J Clin Invest* 2006;116:1202-9.
23. Van Amerongen, Nusse R. Towards an integrated view of Wnt signaling in development. *Development* 2009;136:3205-14.
24. Gordon MD, Nusse R. Wnt signaling: multiple pathways, multiple receptors and multiple transcription factors. *J Biol Chem* 2006;281:22429-33.
25. Baron R, Rawadi G. Wnt Signaling and the regulation of bone mass. *Curr Osteoporos Rep* 2007;5:73-80.

26. Glass DA 2nd, Bialek P, Ahn JD, Starbuck M, Patel MS, Clevers H, et al. Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation. *Dev Cell* 2005;8:751-64.
27. Kamiya N, Ye L, Kobayashi T, Mochida Y, Yamauchi M, Kronenberg HM, et al. BMP signaling negatively regulates bone mass through sclerostin by the canonical Wnt pathway. *Development* 2008;135:3801-11.
28. Kahler RA, Galindo M, Lian J, Stein GS, van Wijnen AJ, Westendorf JJ. Lymphocyte enhancer-binding factor 1 (Lef1) inhibits terminal differentiation of osteoblasts. *J Cell Biochem* 2006;97:969-83.
29. Baron R, Rawadi G. Minireview: Targeting the Wnt/ β -catenin pathway to regulate bone formation in the adult skeleton. *Endocrinology* 2007;148:2635-43.
30. Escobar-Gómez F, Jódar E, Hawkins F. Receptor Wnt: fisiología, fisiopatológica y potenciales nuevas dianas terapéuticas. *Rev Esp Enferm Metab Oseas* 2009;18:39-44.
31. Harwood AJ. Regulation of GSK-3: a cellular multiprocessor. *Cell* 2001;105:821-4.
32. Holmen SL, Zylstra CR, Mukherjee A, Sigler RE, Faugere MC, Bouxsein ML, et al. Essential role of beta-catenin in postnatal bone acquisition. *J Biol Chem* 2005;280:21162-8.
33. Tian E, Zhan F, Walker R, Rasmussen E, Ma Y, Barlogie B, et al. The role of the Wnt-signaling antagonist DKK1 in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *N Engl J Med* 2003;349:2483-94.
34. Hall CL, Bafico A, Dai J, Aaronson SA, Keller ET. Prostate cancer cells promote osteoblastic bone metastases through Wnts. *Cancer Res* 2005;65:7554-60.
35. Hoepfner LH, Secreto FJ, Westendorf JJ. Wnt signaling as a therapeutic target for bone diseases. *Expert Opin Ther Targets* 2009;13:485-96.
36. Kulkarni NH, Onyia JE, Zeng Q, Tian X, Liu M, Halladay DL, et al. Orally bioavailable gsk-3alpha/beta dual inhibitor increases markers of cellular differentiation in vitro and bone mass in vivo. *J Bone Miner Res* 2006;21:910-20.

37. Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Reduced relative risk of fractures among users of lithium. *Calcif Tissue Int* 2005;77:1–8.
38. Glantschnig H, Scott K, Hampton R, Wei N, McCracken P, Nantermet P, et al. A rate-limiting role for Dickkopf-1 in bone formation and the remediation of bone loss in mouse and primate models of postmenopausal osteoporosis by an experimental therapeutic antibody. *J Pharmacol Exp Ther* 2011;338:568-78.
39. Li X, Ominsky MS, Warmington KS, Morony S, Gong J, Cao J, et al. Sclerostin antibody treatment increases bone formation, bone mass, and bone strength in a rat model of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2009;24:578-88.
40. Ominsky MS, Vlasseros F, Jolette J, Smith SY, Stouch B, Doellgast G, et al. Two doses of sclerostin antibody in cynomolgus monkeys increases bone formation, bone mineral density and bone strength. *J Bone Miner Res* 2010;25:948-59.
41. Padhi D, Jang G, Stouch B, Fang L, Posvar E. Single-dose, placebo-controlled, randomized study of AMG 785, a sclerostin monoclonal antibody. *J Bone Miner Res* 2011;26:19-26.
42. Bonewald LF. The amazing osteocyte. *J Bone Miner Res* 2011;26:229-38.
43. Qing H, Divieti Pajevic P, Barry K, Dusevich V, Wysolmerski J, Bonewald L. PTHR1 in osteocytes plays a major role in perilacunar remodeling through the activation of “osteoclastic” genes in osteocytes. *J Bone Min Res* 2010;(Suppl):S25.
44. Weinstein RS, Nicholas RW, Manolagas SC. Apoptosis of osteocytes in glucocorticoid-induced osteonecrosis of the hip. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2907-12.
45. Dodd JS, Raleigh JA, Gross TS. Osteocyte hypoxia: a novel mechanotransduction pathway. *Am J Physiol* 1999;277:598-602.
46. Tomkinson A, Reeve J, Shaw RW, Noble BS. The death of osteocytes via apoptosis accompanies estrogen withdrawal in human bone. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3128-35.
47. Xia X, Kar R, Gluhak-Heinrich J, Yao W, Lane NE, Bonewald LF, et al. Glucocorticoid-induced autophagy in osteocytes. *J Bone Miner Res* 2010;25:2479-88.
48. Bonewald LF. Mechanosensation and transduction in osteocytes. *Bonekey Osteovision* 2006;3:7-15.

49. Malone AM, Anderson CT, Tummala P, Kwon RY, Johnston TR, Stearns T, et al. Primary cilia mediate mechanosensing in bone cells by a calcium-independent mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:13325-30.
50. Jorgensen NR, Teilmann SC, Henriksen Z, Civitelli R, Sorensen OH, Steinberg TH. Activation of L-type calcium channels is required for gap junction-mediated intercellular calcium signaling in osteoblastic cells. *J Biol Chem* 2003;278:4082-6.
51. Forwood MR. Inducible cyclo-oxygenase (COX-2) mediates the induction of bone formation by mechanical loading in vivo. *J Bone Miner Res* 1996;11:1688-93.
52. Cherian PP, Siller-Jackson AJ, Gu S, Wang X, Bonewald LF, Sprague E, et al. Mechanical strain opens connexin 43 hemichannels in osteocytes: a novel mechanism for the release of prostaglandin. *Mol Biol Cell* 2005;16:3100-6.
53. Li YJ, Batra NN, You L, Meier SC, Coe IA, Yellowley CE, et al. Oscillatory fluid flow affects human marrow stromal cell proliferation and differentiation. *J Orthop Res* 2004;22:1283-89.
54. Davis ME, Cai H, Drummond GR, Harrison DG. Shear stress regulates endothelial nitric oxide synthase expression through c-Src by divergent signaling pathways. *Circ Res* 2001;89:1073-80.
55. Zhao S, Zhang YK, Harris S, Ahuja SS, Bonewald LF. MLO-Y4 osteocyte-like cells support osteoclast formation and activation. *J Bone Miner Res* 2002;17:2068-79.
56. Heino TJ, Hentunen TA, Vaananen HK. Conditioned medium from osteocytes stimulates the proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells and their differentiation into osteoblasts. *Exp Cell Res* 2004;294:458-68.
57. Gutierrez OM. Fibroblast growth factor 23 and disordered vitamin D metabolism in chronic kidney disease: Updating the "Trade-off" hypothesis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5:1710-16.
58. Belanger LF. Osteocytic osteolysis. *Calcif Tissue Res* 1969;4:1-12.
59. Bonewald LF, Johnson ML. Osteocytes, mechanosensing, and Wnt Signaling. *Bone* 2008;42:606-15.

60. Kitase Y, Barragan L, Jiang JX, Johnson ML, Bonewald LF. Mechanical induction of PGE2 in osteocytes blocks glucocorticoid-induced apoptosis through both the b-catenin and PKA pathways. *J Bone Miner Res* 2010;25:2657-68.
61. Zaman G, Jessop HL, Muzylak M, De Souza RL, Pitsillides AA, Price JS, et al. Osteocytes use estrogen receptor alpha to respond to strain but their ERalpha content is regulated by estrogen. *J Bone Miner Res* 2006;21:1297–1306.
62. Hamersma H, Gardner J, Beighton P. The natural history of sclerosteosis. *Clin Genet* 2003;63:192-7.
63. Staehling-Hampton K, Proll S, Paepfer BW, Zhao L, Charmley P, Brown A, et al. A 52-kb deletion in the SOST-MEOX1 intergenic region on 17q12-q21 is associated with van Buchem disease in the Dutch population. *Am J Med Genet* 2002;110:144-52.
64. Brunkow ME, Gardner JC, van Ness J, Paepfer BW, Kovacevich BR, Proll S, et al. Bone dysplasia sclerosteosis results from loss of the SOST gene product, a novel cystine knot-containing protein. *Am J Hum Genet* 2001;68:577-89.
65. Balemans W, Cleiren E, Siebers U, Horst J, van Hul W. A generalized skeletal hyperostosis in two siblings caused by a novel mutation in the SOST gene. *Bone* 2005;36:943-7.
66. Veverka V, Henry AJ, Slocombe PM, Ventom A, Mulloy B, Muskett FW, et al. Characterization of the structural features and interactions of sclerostin: molecular insight into a key regulator of Wnt-mediated bone formation. *J Biol Chem* 2009;284:10890-900.
67. Moester MJ, Papapoulos SE, Löwik CW, van Bezooijen RL. Sclerostin: current knowledge and future perspectives. *Calcif Tissue Int* 2010;87:99-107.
68. McNulty M, Singh RJ, Li X, Bergstralh EJ, Kumar R. Determination of serum and plasma sclerostin concentrations by enzyme-linked immunoassays. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:1156-62.
69. Drake MT, Srinivasan B, Mödder UI, Peterson JM, McCready LK, Riggs BL, et al. Effects of parathyroid hormone treatment on circulating sclerostin levels in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:5056-62.

70. Poole KE, van Bezooijen RL, Loveridge N, Hamersma H, Papapoulos SE, Lówik CW, et al. Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation. *FASEB J* 2005;19:1842-44.
71. Li X, Zhang Y, Kang H, Liu W, Liu P, Zhang J, et al. Sclerostin binds to LRP5/6 and antagonizes canonical Wnt signaling. *J Biol Chem* 2005;280:19883-7.
72. Van Bezooijen RL, Svensson JP, Eefting D, Visser A, van der Horst G, Karperien M, et al. Wnt but not BMP signaling is involved in the inhibitory action of sclerostin on BMP-stimulated bone formation. *J Bone Miner Res* 2007;22:19-28.
73. Robling AG, Niziolek PJ, Baldrige LA, Condon KW, Allen MR, Alam I, et al. Mechanical stimulation of bone *in vivo* reduces osteocyte expression of Sost/Sclerostin. *J Biol Chem* 2008;283:5866-75.
74. Niikura T, Hak DJ, Reddi AH. Global gene profiling reveals a downregulation of BMP gene expression in experimental atrophic nonunions compared to standard healing fractures. *J Orthop Res* 2006;24:1463-71.
75. O'Brien CA, Plotkin LI, Galli C, Goellner JJ, Gortazar AR, Allen MR, et al. Control of bone mass and remodeling by PTH receptor signaling in osteocytes. *PLoS One* 2008;3:e2942.
76. Sutherland MK, Geoghegan JC, Yu C, Winkler DG, Latham JA. Unique regulation of SOST, the sclerosteosis gene, by BMPs and steroid hormones in human osteoblasts. *Bone* 2005;35:448-54.
77. Yao W, Cheng Z, Pham A, Busse C, Zimmermann EA, Ritchie RO, et al. Glucocorticoid-induced bone loss in mice can be reversed by the actions of parathyroid hormone and risedronate on different pathways for bone formation and mineralization. *Arthritis Rheum* 2008;58:3485-97.
78. Ohyama Y, Nifuji A, Maeda Y, Amagasa T, Noda M. Spatiotemporal association and bone morphogenetic protein regulation of sclerostin and osterix expression during embryonic osteogenesis. *Endocrinology* 2004;145:4685-92.
79. Janghorbani M, van Dam RM, Willet WC, Hu FB. Systematic review of Type 1 and Type 2 diabetes mellitus and risk of fracture. *Am J Epidemiol* 2007;166:495-505.

80. Schwartz AV, Sellmeyer DE, Ensrud KE, Cauley JA, Tabor HK, Scheriner PJ, et al. Older women with diabetes have an increased risk of fracture: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:32-8.
81. Vestegaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Relative fracture risk in patients with diabetes mellitus, and the impact of insulin and oral antidiabetic medication on relative fracture risk. *Diabetologia* 2005;48:1292-9.
82. Yamamoto M, Yamaguchi T, Yamauchi M, Kaji H, Sugimoto T. Diabetic patients have an increased risk of vertebral fractures independent of BMD or diabetic complications. *J Bone Miner Res* 2009;24:702-9.
83. Hofbauer LC, Brueck CC, Singh SK, Dognig H. Osteoporosis in patients with diabetes mellitus. *J Bone Miner Res* 2007;22:1317-28.
84. Leslie WD, Lix LM, Prior HJ, Derksen S, Metge C, O'Neil J. Biphasic fracture risk in diabetes: a population-based study. *Bone* 2007;40:1595-601.
85. Blakytyn R, Spraul M, Jude EB. Review: The diabetic bone: a cellular and a molecular perspective. *Int J Low Extrem Wounds* 2011;10:16-32.
86. Manolagas SC, Almeida M. Gone with the Wnts: Beta-catenin, T-cell factor, forkhead box O, and oxidative stress in age-dependent diseases of bone, lipid, and glucose metabolism. *Mol Endocrinol* 2007;21:2605-14.
87. Muñoz-Torres M, Varsavsky M, García-Martín A, Escobar-Jiménez F. Osteoporosis secundaria: diabetes mellitus e hipertiroidismo. *Medicine* 2010;10:4156-60.
88. Wittrant Y, Gorin Y, Woodruff K, Horn D, Abboud HE, Mohan S, et al. High d(+)glucose concentration inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis. *Bone* 2008;42:1122-30.
89. Brownlee M. Advanced protein glycosylation in diabetes and aging. *Annu Rev Med* 1995;46:223-234
90. Morales S, García-Salcedo JA, Muñoz-Torres M. Pentosidine: a new biomarker in diabetes mellitus complications. *Med Clin (Barc)* 2011;136:298-302.

91. Schwartz AV, Garnero P, Hillier TA, Sellmeyer DE, Strotmeyer ES, Feingold KR, et al. Pentosidine and increased fracture risk in older adults with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:2380-86.
92. Shiraki M, Kuroda T, Shiraki Y, Tanaka S, Higuchi T, Saito M. Urinary pentosidine and plasma homocysteine levels at baseline predict future fractures in osteoporosis patients under bisphosphonate treatment. *J Bone Miner Metab* 2011;29:62-70.
93. Yamamoto M, Yamaguchi T, Yamauchi M, Sugimoto T. Low serum level of the endogenous secretory receptor for advanced glycation end-products (esRAGE) is a risk factor for prevalent vertebral fractures independent of bone mineral density in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2009;32:2263-8.
94. Odetti P, Rossi S, Monacelli F, Poggi A, Cirnigliaro M, Federici M, et al. Advanced glycation end products and bone loss during aging. *Ann NY Acad Sci* 2005;1043:710-7.
95. Hamada Y, Fujii H, Fukagawa M. Role of oxidative stress in diabetic bone disorder. *Bone* 2009;45:S35-8.
96. Hamada Y, Kitazawa S, Kitazawa R, Fujii H, Kasuga M, Fukagawa M. Histomorphometric analysis of diabetic osteopenia in streptozotocin-induced diabetic mice: a possible role of oxidative stress. *Bone* 2007;40:1408-14.
97. Bagger JI, Knop FK, Lund A, Vestergaard H, Holst JJ, Vilsbøll T. Impaired regulation of the incretin effect in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:737-45.
98. Nuche-Berenguer B, Moreno P, Portal-Nuñez S, Dapía S, Esbrit P, Villanueva-Peñacarrillo ML. Exendin-4 exerts osteogenic actions in insulin-resistant and type 2 diabetic states. *Regul Pept* 2010;159:61-66
99. Räkel A, Sheehy O, Rahme E, LeLorier J. Osteoporosis among patients with type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Metab* 2008;34:193-205.
100. De Paula FJ, Horowitz MC, Rosen CJ. Novel insights into the relationship between diabetes and osteoporosis. *Diabetes Metab Res Rev* 2010;26:622-30.
101. Schäffler A, Müller-Ladner U, Schölmerich J, Büchler C. Role of adipose tissue as an inflammatory organ in human diseases. *Endocr Rev* 2006;27:449-67.

102. Wisse BE. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:2792-800.
103. Goodman WG, Hori MT. Diminished bone formation in experimental diabetes. Relationship to osteoid maturation and mineralization. *Diabetes* 1984;33:825-31.
104. Kemink SA, Hermus AR, Swinkels LM, Lutterman JA, Smals AG. Osteopenia in insulin-dependent diabetes mellitus; prevalence and aspects of pathophysiology. *J Endocrinol Invest* 2000;23:295–303.
105. Reyes-García R, Rozas-Moreno P, Muñoz-Torres M. Osteocalcin and atherosclerosis: a complex relationship. *Diabetes Res Clin Pract* 2011;92:405-6.
106. Isaia GC, Ardisson P, Di Stefano M, Ferrari D, Martina V, Porta M, et al. Bone metabolism in type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol* 1999;36:35-8.
107. Takizawa M, Suzuki K, Matsubayashi T, Kikuyama M, Suzuki H, Takahashi K, et al. Increased bone resorption may play a crucial role in the occurrence of osteopenia in patients with type 2 diabetes: Possible involvement of accelerated polyol pathway in its pathogenesis. *Diabetes Res Clin Pract* 2008;82:119-26.
108. Dobnig H, Piswanger-Solkner JC, Roth M, Obermayer-Pietsch B, Tiran A, Strele A, et al. Type 2 diabetes mellitus in nursing home patients: effects on bone turnover, bone mass, and fracture risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3355-63.
109. Achemlal L, Tellal S, Rkiouak F, Nouijai A, Bezza A, Derouiche M, et al. Bone metabolism in male patients with type 2 diabetes. *Clin Rheumatol* 2005;24:493-6.
110. Reyes-García R, Rozas-Moreno P, López-Gallardo G, García-Martín A, Varsavsky M, Avilés-Perez MD, et al. Serum levels of bone resorption markers are decreased in patients with type 2 diabetes. *Acta Diabetol* 2011 Nov 1 [Epub ahead of print].
111. Capoglu I, Ozkan A, Ozkan B, Umudum Z. Bone turnover markers in patients with type 2 diabetes and their correlation with glycosylated haemoglobin levels. *J Int Med Res* 2008;36:1392-8.

112. De Liefde II, van der Klift M, de Laet CE, van Daele PL, Hofman A, Pols HA. Bone mineral density and fracture risk in type 2 diabetes mellitus: the Rotterdam Study. *Osteoporos Int* 2005;16:1713-20.
113. Wakasugi M, Wakao R, Tawata M, Gan N, Koizumi K, Onaya T. Bone mineral density measured by dual energy x-ray absorptiometry in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Bone* 1993;14:29-33.
114. Majima T, Komatsu Y, Yamada T, Koike Y, Shigemoto M, Takagi C, et al. Decreased bone mineral density at the distal radius, but not at the lumbar spine or the femoral neck, in Japanese type 2 diabetic patients. *Osteoporos Int* 2005;16:907-13.
115. Strotmeyer ES, Cauley JA, Schwartz AV, Nevitt MC, Resnick HE, Zmuda JM, et al. Diabetes is associated independently of body composition with BMD and bone volume in older white and black men and women: The Health, Aging, and Body Composition Study. *J Bone Miner Res* 2004;19:1084-91.
116. Bridges MJ, Mochhala SH, Barbour J, Kelly CA. Influence of diabetes on peripheral bone mineral density in men: a controlled study. *Acta Diabetol* 2005;42:82-6.
117. Pérez-Castrillón JL, De Luis D, Martín-Escudero JC, Asensio T, del Amo R, Izaola O. Non-insulin-dependent diabetes, bone mineral density, and cardiovascular risk factors. *J Diabetes Complications* 2004;18:317-21.
118. Sosa M, Saavedra P, Jódar E, Lozano-Tonkin C, Quesada JM, Torrijos A, et al. Bone mineral density and risk of fractures in aging, obese post-menopausal women with type 2 diabetes. The GIUMO Study. *Aging Clin Exp Res* 2009;21:27-32.
119. Kwon DJ, Kim JH, Chung KW, Kim JH, Lee JW, Kim SP, et al. Bone mineral density of the spine using dual energy X-ray absorptiometry in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Obstet Gynaecol Res* 1996;22:157-62.
120. De Luis Román DA, Aller R, Pérez Castrillón JL, De Luis J, González Sagrado M, Izaola O, et al. Effects of dietary intake and life style on bone density in patients with diabetes mellitus type 2. *Ann Nutr Metab* 2004;48:141-5.

121. Vestergaard P. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes--a meta-analysis. *Osteoporos Int* 2007;18:427-44.
122. Nicodemus KK, Folsom AR. Type 1 and Type 2 diabetes and incident hip fractures in postmenopausal women. *Diabetes Care* 2001;24:1192-7.
123. Ottenbacher KJ, OstirGV, PeekMK, Goodwin JS, Markides KS. Diabetes mellitus as a risk factor for hip fracture in Mexican American older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2002;57:648-53.
124. Forsen L, Meyer HE, Midthjell K, Edna TH. Diabetes mellitus and the incidence of hip fracture: results from the Nord-Trondelag Health Survey. *Diabetologia* 1999;42:920-5.
125. Melton LJ 3rd, Leibson CL, Achenbach SJ, Therneau TM, Khosla S. Fracture risk in type 2 diabetes: update of a population-based study. *J Bone Miner Res* 2008;8:1334-42.
126. Kanazawa I, Yamaguchi T, Yamamoto M, Yamauchi M, Yano S, Sugimoto T. Combination of obesity with hyperglycemia is a risk factor for the presence of vertebral fractures in type 2 diabetic men. *Calcif Tissue Int* 2008;83:324-31.
127. Bonds DE, Larson JC, Schwartz AV, Strotmeyer ES, Robbins J, Rodriguez BL, et al. Risk of fracture in women with type 2 diabetes: the Women's Health Initiative Observational Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3404-10.
128. Janghorbani M, Feskanich D, Willett WC, Hu F. Prospective study of diabetes and risk of hip fracture: The Nurses' Health Study. *Diabetes Care* 2006;29:1573-8.
129. Schwartz AV, Sellmeyer DE, Ensrud KE, Cauley JA, Tabor HK, Schreiner PJ, et al. Older women with diabetes have an increased risk of fracture: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:32-8.
130. Comité Expertos SEIOMM. Guías de práctica clínica en la osteoporosis posmenopáusica, glucocorticoidea y del varón. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2009 1;1:53-60.
131. Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H, Oden A, Ström O, Borgström F. Development and use of FRAX in osteoporosis. *Osteoporos Int* 2010;21 Suppl 2:S407-13.

132. Hippisley-Cox J, Coupland C. Predicting risk of osteoporotic fracture in men and women in England and Wales: prospective derivation and validation of QFractureScores. *BMJ* 2009; 339:b4229.
133. Leslie WD, Majumdar SR, Lix LM, Johansson H, Oden A, McCloskey E, et al. High fracture probability with FRAX(®) usually indicates densitometric osteoporosis: implications for clinical practice. *Osteoporos Int* 2011 Mar 2 [Epub ahead of print].
134. Trémollières FA, Pouillès JM, Drewniak N, Laparra J, Ribot CA, Dargent-Molina P. Fracture risk prediction using BMD and clinical risk factors in early postmenopausal women: sensitivity of the WHO FRAX tool. *J Bone Miner Res* 2010;25:1002-9.
135. Naranjo A, Ojeda-Bruno S, Francisco-Hernández F, Erausquin C, Rúa-Figueroa I, Rodríguez-Lozano C. Application of guidelines for secondary prevention of fracture and the FRAX index in patients with fragility fracture. *Med Clin (Barc)* 2011;136:290-2.
136. Azagra Ledesma R, Prieto-Alhambra D, Encabo Duró G, Casado Burgos E, Aguyé Batista A, Díez-Pérez A. Usefulness of FRAX tool for the management of osteoporosis in the Spanish female population. *Med Clin (Barc)* 2011;136:613-9.
137. Schwartz AV, Vittinghoff E, Bauer DC, Hillier TA, Strotmeyer ES, Ensrud KE, et al. Association of BMD and FRAX score with risk of fracture in older adults with type 2 diabetes. *JAMA* 2011;305:2184-92.
138. Rozas P, Reyes R, García-Martín A, Muñoz M. Utilidad de las escalas de evaluación del riesgo de fractura en el paciente con diabetes tipo 2. *Av Diabetol* 2011;27:95-9.
139. Portal-Núñez S, Lozano D, de Castro LF, de Cortázar AR, Nogués X, Esbrit P. Alterations of the Wnt/beta-catenin pathway and its target genes for the N- and C-terminal domains of parathyroid hormone-related protein in bone from diabetic mice. *FEBS Lett* 2010;584:3095-100.
140. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2005;28:S37-S42.
141. González-Macías J, Marín F, Vila J, Díez-Pérez A, Abizanda M, Alvarez R, et al. Risk factors for osteoporosis and osteoporotic fractures in a series of 5, 195 women older than 65 years. *Med Clin (Barc)* 2004;123:85-9.

142. Fernández Lloret S, Valenzuela Ruiz A, Burgaleta Mezo E, Ortiz Vergara M. Tablas de composición de alimentos. En: Fernández Lloret S (ed) Tablas de composición: alimentos, dietas artificiales y productos infantiles. 3ª Edición. 1997. Universidad de Granada, Granada, pp 5-61.
143. Gerdhem P, Ivasska KK, Atalo SL, Halleen JM, Hellman J, Isaksson A, et al. Biochemical markers of bone metabolism and prediction of fracture in elderly women. *J Bone Miner Res* 2004;19:386-93.
144. Fernández-García D, Muñoz-Torres M, Mezquita-Raya P, de la Higuera M, Alonso G, Reyes-García R, et al. Effects of raloxifene therapy on circulating osteoprotegerin and RANK ligand levels in post-menopausal osteoporosis. *J Endocrinol Invest* 2008;31:416-21.
145. Ersfeld DL, Rao DS, Body JJ, Sackrison JL Jr, Miller AB, Parikh N, et al. Analytical and clinical validation of the 25 OH vitamin D assay for the LIAISON automated analyzer. *Clin Biochem* 2004; 37:867-74.
146. Calculadora de función renal de la Sociedad Española de Nefrología (SEN). Disponible en: <http://www.senefro.org/>
147. Guder WC, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. The quality of diagnostics samples. Folleto en: *Samples: From the Patient to the Laboratory*. 2nd edition. Darmstadt: GIT Verlag, 2001.
148. Thevarajah TM, Nani N, Chew YY. Performance evaluation on the Arkray Adams HA-8160 HbA1c analyser. *Malays J Pathol* 2008;30:81-6.
149. Kanis JA, Melton LJ 3rd, Christiansen C, Johnston CC, Khaltsev N. The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1994;9:1137-41.
150. Genant HK, Wu CY, van Kuijk C, Newitt MC. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bone Miner Res* 1993;8:1137-48.
151. Nuti R, Valenti R, Merlotti D, Ceccarelli E, Ruvio M, Pietrini MG, et al. Circulating sclerostin levels and bone turnover in type 1 and type 2 diabetes. American Society Bone Mineral Research, 2011 Annual Meeting, FR0394.

152. Yu EW, Kumbhani R, Sibila-Sckamen E, Leder BZ. Acute decline in serum sclerostin in response to PTH infusión in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:1848-51.
153. Drake MT, Srinivasan B, Mödder UI, Peterson JM, McCready LK, Riggs BL, et al. Effects of parathyroid hormone treatment on circulating sclerostin levels in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:5056-62.
154. Gaudio A, Pennisi P, Bratengeier C, Torrisi V, Lindner B, Mangiafico RA, et al. Increased sclerostin serum levels associated with bone formation and resorption markers in patients with immobilization-induced bone loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:2248-53.
155. Mödder UI, Hoey KA, Amin S, McCready LK, Achenbach SJ, Riggs BL, et al. Relation of age, gender, and bone mass to circulating sclerostin levels in women and men. *J Bone Miner Res* 2011;26:373-9.
156. Amrein K, Amrein S, Drexler C, Dimai HP, Dognig H, Pfeifer K, et al. Sclerostin and its association with physical activity, age, gender, body composition, and bone mineral content in healthy adults. *J Clin Endocrinol Metab* 2011 Oct 12 [Epub ahead of print].
157. Mödder UI, Clowes JA, Hoey K, Peterson JM, McCready L, Oursler MJ, et al. Regulation of circulating sclerostin levels by sex steroids in women and in men. *J Bone Miner Res* 2011;26:27-34.
158. Mirza FS, Padhi ID, Raisz LG, Lorenzo JA. Serum sclerostin levels negatively correlate with parathyroid hormone levels and free estrogen index in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:1991-7.
159. Rauner M, Sipos W, Pietschmann P. Age-dependent Wnt gene expression in bone and during the course of osteoblast differentiation. *AGE* 2008;30:273-82.
160. Ardawi MS, Al-Kadi HA, Rouzi AA, Qari MH. Determinants of serum sclerostin in healthy pre- and postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2011;26:2812-22.
161. Kim SH, Lim HJ, Yoon SY, Lee SC, Lim SK, Rhee Y. Decreased renal function but not liver function overpowers the circulating sclerostin level. American Society Bone Mineral Research, 2011 Annual Meeting, SU0406.

162. Cejka D, Jäger-Lansky A, Kieweg H, Weber M, Bieglmayer C, Haider DG, et al. Sclerostin serum levels correlate positively with bone mineral density and microarchitecture in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2011 May 25 [Epub ahead of print].
163. Morse LR, Sudhakar S, Danilack V, Tun C, Lazzari A, Gagnon DR, et al. Association between sclerostin and bone density in chronic SCI. *J Bone Miner Res* 2011 Oct 17 [Epub ahead of print].
164. Van Lierop AH, Witteveen JE, Hamdy NA, Papapoulos SE. Patients with primary hyperparathyroidism have lower circulating sclerostin levels than euparathyroid controls. *Eur J Endocrinol* 2010;163:833-7.
165. Costa AG, Cremers S, Rubin MR, McMahon DJ, Sliney J, Lazaretti-Castro M, et al. Circulating sclerostin in disorders of parathyroid gland function. *J Clin Endocrinol Metab* 2011 Sep 21 [Epub ahead of print].
166. Polyzos SA, Anastasilakis AD, Bratengeier C, Woloszczuk W, Papatheodorou A, Terpos E. Serum sclerostin levels positively correlate with lumbar spinal bone mineral density in postmenopausal women-the six-month effect of risedronate and teriparatide. *Osteoporos Int* 2011 Jan 11 [Epub ahead of print].
167. Li X, Ominsky MS, Niu QT, Sun N, Daugherty B, D'Agostin D, et al. Targeted deletion of the sclerostin gene in mice results in increased bone formation and bone strength. *J Bone Miner Res* 2008;23:860-9.
168. Winkler DG, Sutherland MK, Geoghegan JC, Yu C, Hayes T, Skonier JE, et al. Osteocyte control of bone formation via sclerostin, a novel BMP antagonist. *EMBO J* 2003;22:6267-76.
169. Power J, Poole KE, van Bezooijen R, Doube M, Caballero-Alfías AM, Lowik C, et al. Sclerostin and the regulation of bone formation: effects in hip osteoarthritis and femoral neck fracture. *J Bone Miner Res* 2010;25:1867-76.
170. Delgado-Calle J, Arozamena J, García-Renedo R, García-Ibarbia C, Pascual-Carra MA, González-Macías J, et al. Osteocyte deficiency in hip fractures. *Calcif Tissue Int* 2011;89:327-34.
171. Arasu A, Cawthon P, Do T, Arora P, Lui LY, Cauley J, et al. Sclerostin and risk of hip fracture in older women. *American Society Bone Mineral Research, 2011 Annual Meeting*, SA0411.

172. Reyes-García R, Rozas-Moreno P, Muñoz-Torres M. Osteocalcin and atherosclerosis: a complex relationship. *Diabetes Res Clin Pract* 2011;92:405-6.

173. Hamann C, Hoehna Y, Rauner M, Goettsch, Guenther KP, Ominsky M, et al. Sclerostin inhibition prevents low bone mass associated with type 2 diabetes mellitus in rats. *American Society Bone Mineral Research, 2011 Annual Meeting*, 1207.

RESUMEN

TESIS DOCTORAL:**EVALUACIÓN DEL PAPEL DE LA ESCLEROSTINA EN EL METABOLISMO ÓSEO DE PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2.****Introducción**

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) se asocia a un incremento del riesgo de fracturas por fragilidad. Los mecanismos fisiopatológicos subyacentes son complejos quedando cuestiones por aclarar. El papel de la vía de señalización Wnt y sus antagonistas puede ser crucial en la patogenia de las alteraciones de la calidad ósea observadas en la diabetes mellitus. Hasta el momento no existen estudios que analicen esta vía de señalización mediante su antagonista endógeno esclerostina en pacientes con DM2.

Objetivos

Determinar los niveles séricos del antagonista endógeno de la vía Wnt esclerostina en un grupo de pacientes con diabetes y compararlos con los de un grupo control. Estudiar los factores determinantes de las concentraciones séricas de esclerostina tanto en pacientes con diabetes como en controles. Evaluar la relación entre los niveles séricos de esclerostina y el metabolismo óseo en ambos grupos. Valorar en los pacientes con diabetes la relación entre los niveles séricos de esclerostina y el grado de control metabólico de la enfermedad.

Pacientes y métodos

Tipo de estudio: Estudio transversal de casos y controles. Tamaño de muestra: 130. Sujetos de estudio: Pacientes del área de cobertura del Hospital Universitario San Cecilio de Granada atendidos en las consultas del Servicio de Endocrinología y Nutrición. Se establecieron dos grupos: 1) Grupo de pacientes con DM2 (n: 76); 2) Grupo control sin alteraciones relacionadas con el metabolismo hidrocarbonado ni enfermedad metabólica ósea (n: 54). Criterios

de inclusión: aceptación del consentimiento informado, régimen de vida ambulatorio, raza caucásica y edad entre 35-65 años. Criterios de exclusión: antecedentes de patología metabólica ósea u otras enfermedades con repercusión sobre el metabolismo óseo, enfermedad renal crónica y diabetes mellitus tipo 1. Se determinaron variables clínicas, datos antropométricos, parámetros bioquímicos básicos, hormonas calciotropas, marcadores de remodelado óseo, densidad mineral ósea (DMO) por DXA y estudio radiológico vertebral. Se determinaron las concentraciones séricas de esclerostina mediante ELISA (Biomedica, Austria).

Resultados y conclusiones

Los pacientes con diabetes tienen concentraciones séricas de esclerostina más altas que los sujetos del grupo control ($p < 0,001$). Los varones presentan concentraciones más elevadas tanto en el grupo DM2 ($p < 0,001$) como en el grupo control ($p = 0,03$). Encontramos una relación positiva entre esclerostina y edad en los varones con diabetes ($p = 0,031$) y en el grupo control ($p < 0,001$) y entre esclerostina y creatinina en el grupo DM2 ($p < 0,001$). Los niveles séricos de esclerostina se relacionan negativamente con los marcadores de remodelado en los pacientes con diabetes: FAO ($p = 0,029$), CTX ($p = 0,002$) y TRAP ($p = 0,013$). La DMO en columna lumbar, cuello femoral y cadera total se relaciona de forma positiva con esclerostina tanto en pacientes con diabetes ($p < 0,001$) como en controles ($p < 0,05$). Los niveles séricos de esclerostina fueron más bajos en pacientes con diabetes y osteoporosis ($p = 0,041$) sin relación con la presencia de fracturas. Por último, la esclerostina se asocia positivamente con valores de HbA1c ($p = 0,058$) y la duración de la diabetes ($p = 0,038$).

ACTIVIDAD CIENTÍFICA

Publicaciones Científicas

García-Martín A, Rozas-Moreno P, Reyes-García R, Morales-Santana S, García-Fontana B, García-Salcedo JA, Muñoz-Torres M. *Circulating levels of sclerostin are increased in patients with type 2 diabetes mellitus*. J Clin Endocrinol Metab 2011 Oct 26 [Epub ahead of print]. DOI 10.1210/jc.2011-2186. Factor de impacto 2010: 6,202.

Premios de Investigación

Young Travel Investigator por el trabajo *Circulating levels of sclerostin are increased in patients with type 2 diabetes mellitus* presentado en el Annual Meeting of American Society of Bone and Mineral Research (ASBMR), 16-20 September 2011, San Diego, California, EEUU.

Premio al Mejor Póster sobre Investigación Clínica por el trabajo *Papel de la esclerostina en el metabolismo óseo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2* presentado en el XVI Congreso de la Sociedad Española de Investigación Ósea y Metabolismo Mineral (SEIOMM), 2-4 Noviembre 2011, Santiago de Compostela.

Comunicaciones a Congresos

Circulating levels of sclerostin are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. JBMR 2011 FR0407/SA0407.

Papel de la esclerostina en el metabolismo óseo de pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Rev Osteoporos Metab Miner 2011 3;3:10-24.

