



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

“ASOCIACIÓN ENTRE NIVEL DE
VITAMINA B12 Y GRASA CORPORAL
EN ADULTOS NO DIABÉTICOS NO
OBESOS”

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN
INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA

CHRISTOPER ALEXANDER ALARCÓN
RUIZ

LIMA - PERÚ
2022

ASESOR

Mg. Miguel Giancarlo Moscoso Porras
Facultad de Salud Pública y Administración UPCH

JURADO DE TESIS

DR. ANTONIO BERNABE ORTIZ

PRESIDENTE

MG. LEANDRO HUAYANAY FALCONI

VOCAL

MG. MARIA DE LOS ANGELES LAZO PORRAS

SECRETARIA

DEDICATORIA.

A todos los investigadores jóvenes que inician en este camino.

AGRADECIMIENTO.

A mi asesor, Mg Miguel Moscoso, por su guía y apoyo constante durante todo el proceso de ejecución de la tesis. Al Dr. Vicente Benites Zapata y al Dr. Herbert Lazaro Alcantara por permitir el acceso a su base de datos para el presente estudio.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO.

Tesis autofinanciada.

Tabla de contenidos

RESUMEN

ABSTRACT

1. Introducción.....	1
1.1. Planteamiento del Problema	1
1.2. Antecedentes.....	3
1.3. Justificación.....	6
1.4. Marco Teórico	8
1.4.1. Exceso de grasa corporal y obesidad	8
1.4.2. Medición de grasa corporal.....	9
1.4.3. Vitamina B12 y grasa corporal	10
1.5. Pregunta de investigación.....	11
2. Objetivos	12
2.1. Objetivo General	12
2.2. Objetivos Secundarios	12
3. Metodología:	13
3.1. Diseño y contexto del estudio.....	13
3.2. Población, muestra u objeto de estudio	14
3.2.1. Población y criterios de selección.....	14
3.2.2. Muestra y muestreo.....	15
3.3. Procedimientos y técnicas	15
3.3.1. Procesamiento y limpieza de base de datos	15

3.3.2.	Construcción de variables.....	16
3.4.	Consideraciones éticas.....	19
3.5.	Análisis estadístico.....	20
3.5.1.	Análisis de potencia.....	20
3.5.2.	Análisis estadístico para responder objetivos.....	20
4.	Resultados.....	24
5.	Discusión.....	30
5.1.	Hallazgos principales.....	30
5.2.	Explicación y comparación con otros estudios.....	30
5.3.	Deficiencia de vitamina B12 y grasa corporal.....	31
5.4.	Evaluación de la modificación del efecto.....	32
5.5.	Limitaciones y fortalezas.....	33
5.6.	Implicancias.....	37
6.	Conclusiones.....	39
7.	Recomendaciones.....	40
8.	Referencias bibliográficas:.....	41
9.	Anexos	

RESUMEN

Introducción: La información sobre si los niveles de vitamina B12 influyen sobre la grasa corporal es limitada, especialmente en adultos no diabéticos no obesos.

Objetivo: Determinar la asociación entre vitamina B12 y grasa corporal total en

adultos no diabéticos y no obesos. **Métodos:** Estudio transversal analítico de pacientes ambulatorios de 18-59 años de una clínica privada, sin comorbilidades

e índice de masa corporal de 18.5-29.9 Kg/m². La exposición, vitamina B12 en

sangre en ayunas, fue categorizada en terciles y el primer tercil fue clasificado

como nivel disminuido. El desenlace, grasa corporal total por bioimpedancia, fue

categorizada en normal y elevada. Se calcularon razones de prevalencia (RP)

usando regresión de Poisson ajustada por edad, sexo y ferritina. Además, se evaluó

su interacción con sobrepeso, sexo, y resistencia a la insulina. **Resultados:** 794

pacientes (88.8% mujeres y 69.4% de 18-39 años) fueron analizados. Casi la mitad

tenía sobrepeso. Se encontró asociación entre vitamina B12 disminuida y grasa

corporal total elevada (RPa: 1.13; IC95%: 1.02 a 1.25), sin observar interacción

entre subgrupos evaluados. **Conclusión:** La vitamina B12 disminuida se asoció

con grasa corporal total elevada en adultos no diabéticos no obesos, otorgando

evidencia a favor de su relevancia sobre el metabolismo de lípidos.

Palabras Clave: Cuerpo adiposo; Adiposidad; Vitamina B 12; Adulto; Sobrepeso;

Perú (DeCS/BIREME)

ABSTRACT

Introduction: The knowledge on whether vitamin B12 influences body fat or not is still limited, especially in non-obese and non-diabetic adults. **Objective:** To assess the relationship between serum vitamin B12 and total body fat in non-diabetic and non-obese adults. **Methods:** We performed a cross-sectional study on outpatient adults 18-69 years old from a private clinic, with body mass index of 18.5-29.9 Kg/m², and without known comorbidities. Exposure variable, fasting serum vitamin B12 levels, were dichotomized in decreased (lower tertile) and normal levels (second and third tertile). Sex-adjusted total body fat, measured by bioimpedance, was categorized as normal or high. Adjusted prevalence ratios (aPR) were estimated using Poisson regression models including the confounding variables sex, age, and ferritin levels. Interaction was tested for sex, overweight, and insulin-resistance groups. **Results:** 794 patients (88.8% females and 69.4% with 18-39 years old) were included. Almost half of them were overweight. We found an association between decreased vitamin B12 and high total body fat (aPR: 1.13, 95%CI: 1.02 to 1.25), without evidence of interaction between the assessed groups. **Conclusions:** Decreased serum vitamin B12 was associated with high total body fat in non-obese and non-diabetic adults, providing evidence in favor of its relevance to lipids' metabolism.

Keywords: Fat Body; Adiposity; Vitamin B 12; Adults; Overweight; Peru (MesSH)

1. Introducción

1.1. Planteamiento del Problema

El exceso de grasa corporal en las personas ocurre cuando hay un desbalance entre el consumo y gasto de energía que supera la capacidad del tejido adiposo de almacenar energía (1,2). Esto se acompaña de la alteración del metabolismo de los lípidos que influye directamente en la salud (3). En el año 2019 se estimaba que entre el 62 y 76% de la población mundial, incluyendo niños y adultos, tenían exceso de grasa corporal (4). Si bien el exceso de grasa corporal se encuentra inmerso en la definición de obesidad (5), este término está comúnmente relacionado con el exceso de peso medido con índice de masa corporal (IMC) (6,7). El exceso de grasa corporal se encuentra asociado con mortalidad por todas las causas, mortalidad cardiovascular, hipertensión arterial, diabetes mellitus y otros factores de riesgo cardiovasculares (8–13). De esta manera, Byambasukh et al. sugieren que la medición de grasa corporal por bioimpedancia tiene mejor discriminación para predecir enfermedades cardiovasculares, en comparación con el IMC o la circunferencia abdominal (14).

Normalmente, la acumulación de ácidos grasos y triglicéridos desencadenan mayor formación de adipocitos y grasa corporal lo cual, posteriormente, aumenta el peso e IMC en adultos causando obesidad (15). Sin embargo, es posible identificar grasa corporal elevada y alteraciones metabólicas en adultos no obesos (16), incluyendo población hispana (17–19). Respecto a este grupo, los adultos no obesos con grasa corporal elevada también son susceptibles a las mismas enfermedades cardiovasculares, que la población con obesidad (20–22). Incluso entre las personas

no obesas, aquellas que tienen sobrepeso poseen trastornos similares a las personas con obesidad (23), y también tienen mayor riesgo de muerte en comparación con los individuos “normopeso” (24).

Por otro lado, las alteraciones en los niveles de micronutrientes séricos se presentan con frecuencia en las personas con exceso de grasa corporal, y se ha sugerido que estas podrían participar en la génesis del aumento de la grasa corporal (25). Por ejemplo, la deficiencia de vitamina B12 podría causar una acumulación de grasa corporal, pues a nivel molecular altera procesos determinantes de la beta-oxidación de ácidos grasos y la adipogénesis, ocasionando que aumente la formación de triglicéridos y adipocitos (26). De similar manera, la disminución de vitamina B12 sérica también podría participar en la génesis otros trastornos metabólicos como diabetes gestacional, dislipidemia y resistencia a la insulina (27,28). Es así como se han reportado en análisis transversales menores niveles de vitamina B12 en adultos, niños y adolescentes, en su mayoría sin comorbilidades, con grasa corporal elevada (29–32). Sin embargo, otros análisis que incluían adultos, que en su mayoría tenían sobrepeso, obesidad o comorbilidades, no reportaron encontrar esta asociación entre vitamina B12 y grasa corporal, y viceversa (33–36). Entonces, la asociación entre estas variables podría depender de las comorbilidades, IMC de la población que se estudia y la direccionalidad en la que se evalúa.

A pesar de que se ha observado la asociación de estas variables en algunos estudios, aún es limitada la información sobre si los niveles de vitamina B12 influyen sobre la grasa corporal, específicamente en los adultos no diabéticos no obesos. Aunque esta población se encuentra en un periodo inicial de la historia natural de la

enfermedad (previa a desarrollar enfermedades metabólicas y cardiovasculares como diabetes e hipertensión) (37), si estos tienen exceso de grasa corporal, también poseen una susceptibilidad a desarrollar desenlaces negativos en su salud similar a las personas obesas o con diabetes, pero que generalmente están subdiagnosticados (38) por ser asintomáticos y la poca disponibilidad de instrumentos para medir grasa corporal en la práctica clínica usual.

1.2. Antecedentes

La asociación de los niveles de vitamina B12 con grasa corporal fue evaluada en diferentes poblaciones con resultados discrepantes entre sí. La mayoría de los estudios que encontraron una asociación entre estas variables incluían más frecuentemente personas no obesas sin comorbilidades. Por ejemplo, un análisis transversal en una muestra poblacional de adultos daneses con promedio de 50 años, 25.2 kg/m² de IMC y en su mayoría normopeso, observó que una disminución de aproximadamente 20% en el nivel de vitamina B12 se asoció con un aumento en el porcentaje de grasa corporal (29). De similar manera, un estudio transversal en niños mexicanos sanos en Estados Unidos encontró que los niveles de vitamina B12 tienen una asociación lineal inversa con la masa de grasa corporal total ($p < 0.01$), ajustada por edad, sexo, ingreso económico, marcadores inflamatorios, actividades sedentarias, y consumo de suplementos (39). A su vez, en un estudio transversal con adolescentes europeos sin comorbilidades y en su mayoría normopeso, quienes tenían menores niveles promedio de vitamina B12 se encontraban en el grupo con mayor porcentaje de grasa corporal total, tanto en mujeres ($p = 0.01$), como en varones ($p = 0.01$) (40). Además, un estudio de cohorte

en gestantes describió que la deficiencia de vitamina B12 sérica (<150 pmol/L) a partir de la semana 30 de embarazo se asoció con un mayor valor de la sumatoria del pliegue cutáneo de sus hijos al nacer y a los cinco años de seguimiento, ajustado por edad materna, estado socioeconómico, paridad, IMC, e historia familiar de diabetes mellitus (32). La sumatoria del pliegue cutáneo es una forma indirecta de poder medir la grasa corporal en infantes (41), aunque su precisión puede depender de la cantidad de grasa corporal total (42)

Por otro lado, considerando la asociación inversa de grasa corporal y vitamina B12, un análisis transversal de pacientes con trasplante renal de Brasil reportó que el aumento en una unidad de porcentaje de grasa corporal total en mujeres aumenta 1.20 veces los *odds* de tener deficiencia de vitamina B12 (<200 pg/mL), ajustado por edad, tasa de filtración glomerular, y tiempo desde el trasplante (43). De similar manera, un estudio transversal en adultos diabéticos en tratamiento con metformina en Ghana, con un IMC promedio de 28.6 kg/m², reportó que aquellos con niveles muy altos de grasa corporal tienen 2.98 veces los *odds* de tener deficiencia de vitamina B12 (<100 pg/mL), en comparación con quienes tienen niveles normales de grasa corporal, ajustado por edad, sexo, sobrepeso, anemia, insulina sérica, diabetes mellitus, y duración de uso de metformina (44).

Por otro lado, la mayoría de los estudios que reportan no haber encontrado una asociación estadísticamente significativa, fueron realizados en personas con obesidad o adultos mayores con y sin alguna comorbilidad. Por ejemplo, un estudio transversal en adultos de Turquía con obesidad o sobrepeso y sin otras comorbilidades encontró una correlación débil entre niveles de vitamina B12 y

grasa corporal total, con un r de Pearson de -0.230. Sin embargo, esta asociación no se mantuvo en el análisis con regresión lineal (34). Por su parte, otros análisis transversales que incluían adultos y adultos mayores obesos o con sobrepeso sin comorbilidades no encontraron asociación entre vitamina B12 sérica y grasa corporal (33,45), ni la asociación inversa entre grasa corporal y vitamina B12 (36). Además, otros estudios de cohorte en gestantes no encontraron asociación entre los niveles de vitamina B12, medido en las semanas 12 y 18 de gestación, con el nivel de grasa corporal en sus hijos a los seis (46) y diez años de seguimiento (47). De la misma manera, tampoco encontraron la asociación entre el cambio de grasa corporal con el cambio de la vitamina B12 sérica durante el seguimiento por cuatro semanas en mujeres postmenopáusicas entre 49 y 78 años con IMC promedio de 27.8 Kg/m² (35).

A pesar de ello, estudios genéticos con aleatorización mendeliana sugieren una relación causal entre diferentes polimorfismos genéticos, que regulan los niveles de vitamina B12, con las enfermedades metabólicas como diabetes mellitus e hipercolesterolemia (48), las cuales se asocian con los niveles de grasa corporal alto. Sin embargo, en uno de dichos estudios, no se ha encontrado la relación causal entre un grupo de polimorfismos de un solo nucleótido, que regulan las concentraciones de vitamina B12, y los niveles de grasa corporal (49). Por su parte, un análisis secundario de un ensayo clínico que evaluaba la suplementación diaria por dos años de vitamina B12 (500 µg) y ácido fólico (400 µg) en adultos mayores de 65 años o más con hiperhomocisteinemia y donde la mayoría tenía

sobrepeso, obesidad o comorbilidad, no encontró algún efecto en el cambio del índice de masa grasa corporal, medida con absorciometría dual de rayos X (45).

A nivel local, la población peruana normopeso tiene un alto porcentaje de grasa corporal (50), ocasionando una obesidad principalmente central (51). Un análisis transversal de Guarnizo-Poma y colaboradores (52), en un grupo de adultos eutiroides no diabéticos, reportó que aquellos con mayores niveles de vitamina B12 tienen menor prevalencia de síndrome metabólico, y también observó diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de grasa corporal y los niveles de vitamina B12 categorizados en terciles. Este último hallazgo, sólo fue significativo en mujeres. Además, en este análisis se incluyó pacientes no obesos y obesos, y para la asociación entre vitamina B12 y grasa corporal no se consideraron posibles variables confusoras como edad y trastornos que causan malabsorción, a pesar estos que se encuentran relacionadas a ambas variables (53–55).

Finalmente, según los antecedentes evaluados, no queda claro si los niveles de vitamina B12 influyen sobre la grasa corporal total. Sin embargo, se observa que la mayoría de los estudios que encontraron una asociación entre estas variables, usualmente incluían más personas no obesas y sin comorbilidades. Pero, no se encontraron estudios que incluyan exclusivamente adultos no obesos y sin comorbilidades.

1.3. Justificación

Se estima que la obesidad y sus consecuencias podrían costar entre 1.7 a 10.1 billones de dólares en el 2050 en países Latinoamericanos como México (56) y

Brasil (57). Además, en Perú en el año 2015, la diabetes y las enfermedades cardiovasculares, las cuales están consideradas como consecuencias de la obesidad, costaron 19.81 y 39.90 millones, respectivamente (58). Entonces, entender las causas y procesos tempranos del desarrollo de la obesidad y acumulación de grasa corporal es importante para prevenir sus consecuencias. En ese sentido, los adultos no obesos, según los parámetros de IMC, podrían pensar que están sanos (59). Pero, se ha observado que adultos hispanos con un IMC normal, comúnmente ya tienen un exceso de grasa corporal (60). Por lo tanto, saber si una persona no diabética y no obesa tiene altos niveles de grasa corporal es importante, porque también podrían tener alteraciones metabólicas que se relacionen con mayor morbimortalidad por enfermedades metabólicas y cardiovasculares (18,61).

Por otro lado, de acuerdo con los antecedentes, la relación entre niveles bajos de vitamina B12 y el aumento de grasa corporal parece ser más relevante en niños, adolescentes y adultos no obesos (39,40), incluyendo en bebés delgados pero con grasa corporal elevada y con madres con vitamina B12 baja (46). Esto es diferente en adultos en su mayoría con obesidad y sobrepeso (33,35). Entonces, el rol de la vitamina B12 podría ser más importante durante el inicio del aumento de la grasa corporal en adultos no diabéticos que aún no tienen obesidad, según IMC, pero que podrían ya tener alteraciones metabólicas. Entonces, los niveles bajos de vitamina B12 podrían ser un marcador indirecto para sospechar en niveles altos de grasa corporal, especialmente en la población no obesa según su IMC, aparentemente sin comorbilidades. Por lo tanto, queremos determinar en el

presente trabajo la asociación entre los niveles de vitamina B12 y el porcentaje de grasa corporal total elevado en una muestra de adultos no diabéticos no obesos en Lima, Perú. El estudio aportará mayor evidencia sobre la asociación entre los niveles bajos de vitamina B12 y la grasa corporal elevada en una población no diabética no obesa, previamente no estudiada.

1.4.Marco Teórico

1.4.1. Exceso de grasa corporal y obesidad

Se estima que la prevalencia de adultos de 20 años con exceso de grasa corporal en Estados Unidos es de 91%, y de 69% en niños de 2 a 19 años (38). Mientras que, en países hispanohablantes, incluyendo España, la prevalencia de personas con exceso de grasa corporal es de 74% en varones y 76 % en mujeres (19). En Perú, un estudio realizado en una población urbana estimó que el 85,9% de adultos de 30 años a más tenían niveles altos de grasa corporal, medida con la sumatoria de pliegues cutáneos (62). Mientras que otro estudio realizado en una muestra no probabilística de estudiantes universitarios, incluyendo menores de 18 años, reporta una prevalencia de exceso de grasa corporal de 54.6%, medida con bioimpedancia (63).

El exceso de grasa corporal se conoce como obesidad (5). El IMC es la medida recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para definir obesidad y sobrepeso. Sin embargo, la medición única del IMC tiene limitaciones para poder definir obesidad, pues no refleja precisamente cambios en los niveles de grasa corporal o masa muscular, ni tampoco la diferencia de grasa corporal entre sexos (64). El IMC mide la grasa corporal total y al mismo tiempo la masa

libre de grasa (65). Es así que los puntos de corte que se usan normalmente tienen baja sensibilidad para el diagnóstico de obesidad evaluado con métodos que miden exclusivamente adiposidad (66). En consecuencia, la grasa corporal total medida por bioimpedancia podría ser más precisa que el IMC para definir obesidad, especialmente en los adultos sin comorbilidades (11).

1.4.2. Medición de grasa corporal

El tejido adiposo o grasa corporal está presente principalmente en dos compartimentos corporales: el tejido celular subcutáneo o la grasa visceral. De ellos, el tejido celular subcutáneo es el compartimento más grande constituido por adipocitos llenos de triglicéridos (67). De esta manera, existen diversas maneras de medir la grasa corporal. Entre ellas, pueden ser diferentes medidas antropométricas, bioimpedancia, pletismografía, ultrasonido, tomografía, resonancia magnética (68). Sin embargo, el *gold-standard* es la absorciometría con rayos X de doble energía (69).

La bioimpedancia calcula los componentes del cuerpo mediante la medición de la resistencia de cada componente al paso de la corriente eléctrica. Así, permite determinar el porcentaje de grasa corporal mediante el cálculo del agua corporal total, agua extracelular y la masa libre de grasa en el cuerpo (68,70). Para la realización de la bioimpedancia, el participante debe pararse sobre los electrodos con los pies desnudos y con la menor cantidad de ropa posible. Luego, el profesional de la salud debe ingresar datos de edad, sexo y altura al dispositivo portátil. Este calcula los componentes del cuerpo usando diferentes fórmulas y obtiene como resultado el porcentaje de grasa corporal (71). La bioimpedancia es

comparable con otros métodos de medición de composición corporal como la absorciometría con rayos X de doble energía, tomografía computarizada, o resonancia magnética en poblaciones de adultos sanos (72,73). Algunas fórmulas usadas por los equipos fueron validadas en algunas poblaciones hispanas (74–76).

1.4.3. Vitamina B12 y grasa corporal

Niveles bajos de vitamina B12 han sido reportados en pacientes con alto IMC (34,77). La vitamina B12 se entiende como un grupo de cobalaminas que son biológicamente activas en humanos. La fuente animal es la principal para los humanos, es sintetizada por microorganismos y absorbida a nivel del íleo terminal (78). La vitamina B12, luego de ser absorbida, se convierte en dos coenzimas: metilcobalamina y adenosilcobalamina (43,79). La metilcobalamina participa en la remetilación de la homocisteína en metionina, en el citoplasma celular (80). El déficit de vitamina B12 causaría una hiperhomocisteinemia, la cual, a su vez, provocaría disfunción endotelial, aterosclerosis y enfermedad cardiovascular (81).

Por otro lado, la adenosilcobalamina facilita la conversión del metilmalonil-CoA a Succinil-CoA en la mitocondria. Cuando la vitamina B12 disminuye, esta conversión disminuye, y el metilmalonil-CoA no convertido, bloquea a la enzima carnitina palmitoiltransferasa, la cual inicia la beta-oxidación de ácidos grasos, haciendo que estos últimos se acumulen y no se metabolicen (82). En consecuencia, la deficiencia de vitamina B12 podrían aumentar los niveles de ácidos grasos, acumulándose en los adipocitos, formando así mayor tejido adiposo (83).

1.5.Pregunta de investigación

¿En adultos no diabéticos y no obesos, aquellos con menor nivel de vitamina B12 tendrán mayor proporción de grasa corporal total elevada, en comparación con aquellos que tienen mayor nivel de vitamina B12?

2. Objetivos

2.1.Objetivo General

Determinar la asociación entre el nivel de vitamina B12 y el de la grasa corporal total en adultos no diabéticos y no obesos.

2.2.Objetivos Secundarios

Evaluar si las variables sexo, sobrepeso y resistencia a la insulina son modificadores de efecto en la asociación entre los niveles de vitamina B12 y grasa corporal total elevada en adultos

3. Metodología:

3.1. Diseño y contexto del estudio

Estudio transversal y análisis secundario de una base de datos de adultos que acudieron al consultorio externo de endocrinología y ginecología de una clínica privada desde enero 2012 a diciembre 2018.

Esta base de datos proviene del registro de historias clínicas del consultorio externo de endocrinología y ginecología de la clínica privada “Instituto Médico de la Mujer” (IMM). Este registro de historias clínicas se recolectaba en pacientes nuevos con factores de riesgo cardiovascular. Inicialmente se recolectó información del 2012-2014, y se actualizaba la base de datos cada dos años. La última actualización fue hasta diciembre del 2018. Este proceso de recolección de datos se llevaba a cabo por investigadores del IMM, quienes extraían la información relevante de las historias clínicas directamente a una base de datos en el programa Microsoft Excel (Microsoft). Análisis previos de la mencionada base de datos han sido publicados buscando evaluar la asociación entre vitamina B12 (52) con resistencia a la insulina y síndrome metabólico, pero en adultos eutiroideos, no diabéticos, con y sin obesidad.

El IMM se encuentra en el distrito de San Isidro, en Lima Metropolitana, Perú, y se enfoca en la prevención, diagnóstico, y cuidado de diferentes enfermedades como sobrepeso-obesidad, diabetes mellitus, desórdenes autoinmunes, trastornos gastrointestinales, fatiga, dolor crónico, y salud femenina, por médicos endocrinólogos y ginecólogos. Principalmente atiende a pacientes de estrato socioeconómico medio y alto. En IMM además realiza diversos estudios de

laboratorios (medición de insulina, glucosa, cortisol salival, perfil lipídico, perfil hepático, perfil tiroideo, y vitaminas séricas) y antropométricos (IMC, índice cadera-cintura, y grasa corporal total) a la mayoría de sus pacientes.

3.2.Población, muestra u objeto de estudio

3.2.1. Población y criterios de selección

La población estuvo conformada por adultos sin antecedentes de enfermedades que acudieron por primera vez al consultorio externo de endocrinología y ginecología de la clínica privada IMM durante los años 2012 al 2018. Se eligió estas dos especialidades médicas porque son las responsables de solicitar los estudios de laboratorio y medidas antropométricas necesarios para la base de datos del sistema de vigilancia epidemiológica.

Los pacientes acudían generalmente con el objetivo de realizar una evaluación general de su salud. El médico era responsable de la decisión sobre qué exámenes de laboratorio y medidas antropométricas le indicaba al paciente. Esto era considerando posibles factores de riesgo familiares y personales que fueron identificados en la anamnesis o examen físico del paciente. El paciente realizaba dichas pruebas dentro de los 30 días posteriores a la fecha de la primera consulta.

La base de datos original contiene la información de adultos de 18 años a más que acudían por primera vez al consultorio externo de endocrinología o de ginecología durante los años 2012 al 2018. Se excluyeron a mujeres embarazadas y a personas con diagnósticos anteriores de diabetes mellitus, hipotiroidismo o hipertiroidismo.

Para el análisis del presente trabajo de investigación, se excluyó de la base de datos a los registros de pacientes con 60 años a más, y a quienes tenían presión arterial sistólica de 140 mmHg o más, y/o una medición de presión arterial diastólica de 90 mmHg o más en la medición durante la consulta médica (84). También se excluyó a quienes tenían un IMC menor a 18.5 Kg/m² o mayor a 29.9 Kg/m², quienes tenían cualquier prueba diagnóstica de diabetes mellitus (Glucosa en ayunas \geq 126 mg/dL, test de tolerancia a la prueba oral de glucosa \geq 200 mg/dL a los 120 minutos, o HbA1c \geq 6.5%,) (85) y quienes tenían algún valor de hormonas tiroideas fuera de los rangos normales (T3 libre: 2.3–4.2 pg/mL, T4 libre: 0.89–1.76 ng/dL, o TSH: 0,4–5 μ U/mL) (86). Finalmente, se excluyó las observaciones sin registro de edad, sexo, ferritina, grasa corporal total, y/o medición de vitamina B12, debido a que fueron las variables que se utilizaron en el análisis principal (dependiente, independiente y confusoras).

3.2.2. Muestra y muestreo

Para el estudio primario se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia. Se incluyó en la base de datos primaria a todas las historias clínicas que se encontraban disponibles y cumplían los criterios de selección del estudio primario.

3.3.Procedimientos y técnicas

3.3.1. Procesamiento y limpieza de base de datos

Una vez obtenida la base de datos primaria, en primer lugar, se buscaron observaciones duplicadas de acuerdo con el número de historia clínica. De encontrar duplicados, se revisaron las observaciones para evaluar la similitud.

Cuando se encontró similitud de los datos en las observaciones duplicadas, se eliminó el registro más antiguo o con menos datos. De lo contrario, se consideró como un error en el registro de la historia clínica y ambas observaciones se consideraron como independientes.

Después, se asignó un código de identificación a cada observación en la base de datos usando números ascendentes, para anonimizar la base de datos, antes de iniciar al análisis estadístico formal. La correlación entre el código de identificación y número de historia clínica fue entregada al investigador dueño de la base de datos primaria. Finalmente, se eliminó el número de historia clínica de la base de datos primaria.

Se crearon nuevas variables a partir de cada una de las variables de interés: Nivel de vitamina B12, nivel de grasa corporal total, sexo, edad, ferritina, sobrepeso, resistencia a la insulina, triglicéridos, colesterol total, colesterol LDL y colesterol HDL. Por otro lado, además se crearon nuevas variables que sean útiles para realizar los criterios de selección del estudio de tesis: índice de masa corporal, glucosa en ayunas, glucosa a los 120 minutos, HbA1c, TSH, T4 libre y T3 libre. Se eliminaron todas las observaciones de la base de datos primaria que no cumplieran con los criterios de selección. Adicionalmente, se eliminaron todas las observaciones que no tenían registro de edad, sexo, ferritina, grasa corporal total, o vitamina B12. Los códigos utilizados para la limpieza de la base de datos se encuentran disponibles en el Anexo 2.

3.3.2. Construcción de variables

Desenlace: Grasa corporal total

El porcentaje de grasa corporal total fue medida por bioimpedancia eléctrica de 8 electrodos con un equipo InBody 270 Body Composition Analyzer (Biospace Co, Seúl, Corea). La medición fue única y fue realizada durante la evaluación clínica en la consulta por el médico tratante correctamente entrenado en su uso. Esta medición se dicotomizó en porcentaje de grasa corporal total elevada o normal usando puntos de corte según el sexo (mayor o igual de 35% en mujeres y mayor igual de 25% en varones (87,88). En adultos hispanos, este punto de corte con la bioimpedancia tiene sensibilidad y especificidad de 74.1% y 85.1% en mujeres y 80.6% y 83.1% en varones, respectivamente, para definir obesidad con los mismos puntos de corte (89), pero teniendo como referencia el cálculo grasa corporal usando un modelo de cuatro compartimentos corporales (grasa, agua, mineral y residual) (90).

Exposición: vitamina B12

La medición de vitamina B12 se realizó en una muestra de sangre venosa del paciente en ayuno de 8 horas. La muestra de sangre venosa para esta y las demás pruebas de laboratorio fue tomada dentro de los 30 días post consulta médica. Para su medición se usó un equipo Cobas e411 (Roche Diagnostics Deutschland GmbH, Mannheim, Alemania), que utiliza el método de inmunoensayo de electroquimioluminiscencia como método de cuantificación (91). Se obtuvo como resultado los niveles de vitamina B12 en pmol/L. Debido a que no hay un punto de corte totalmente definido para considerar deficiencia de vitamina B12 (92), y esta varía según la edad y tipo de dieta (93), se categorizó como nivel disminuido de vitamina B12 a las personas que se encontraban en el tercil inferior

del total de observaciones con medición de vitamina B12, y como nivel de vitamina B12 normal a las personas que se encuentran en el tercil medio y superior del total de observaciones con medición de vitamina B12, de manera similar que un antecedente local (52).

Otras variables

Adicionalmente, se usaron otras variables para el análisis. Entre ellas está el sexo (masculino y femenino), la edad, la cual fue categorizada cada diez años (18 a 29, 30 a 39, 40 a 49, y 50 a 59 años). Luego, se generó la variable resistencia a la insulina. En primer lugar, se generó la variable índice de HOMA, calculado con la siguiente fórmula: $(\text{Glucosa en ayunas [mg/dL]} * \text{Insulina en ayunas [uU/mL]}) / 405$ (94). Luego, se utilizó un puntaje de 2.9 o más para definir resistencia a la insulina en el índice HOMA, la cual fue evaluada en adultos de una región urbanizada de Lima, Perú con un área bajo la curva de 0.69 para la predicción de diabetes mellitus tipo 2 (95).

También se generó la variable de ferritina categorizada según los puntos de corte propuestos por la OMS para mediciones poblacionales. Se consideró tres categorías: disminución de reserva de hierro (<15 mg/dL), normal (15 a 150 mg/dL en mujeres y 15 a 200 mg/dL en varones), y riesgo de exceso de reserva de hierro (>150 mg/dL en mujeres y >200 mg/dL en varones) (96).

Además, los niveles de triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL y colesterol LDL, se dicotomizaron en “normal” y “elevado” (“disminuido” en el caso de colesterol HDL), de acuerdo con las recomendaciones de la guía para el manejo de colesterol sérico del Colegio Americano de Cardiología. Así, se consideró

como niveles elevados a los triglicéridos ≥ 150 mg/dL, colesterol total ≥ 200 mg/dL y colesterol LDL ≥ 100 mg/dL. Se consideró como niveles disminuidos al colesterol HDL $<$ de 40 mg/dL en varones y $<$ de 50 mg/dL en mujeres (87). Posteriormente, se realizó un proceso de limpieza para todas las variables a considerar en el análisis del estudio de tesis. Esto se realizó observando los valores extremos de las variables numéricas y usando gráficos de cajas y bigotes. Se valoró cada caso en particular para encontrar un posible valor no plausible. Los valores no plausibles fueron tratados como datos faltantes y eliminados del análisis formal del estudio de tesis. Una vez concluido el control de la calidad de la base de datos se procedió al análisis estadístico. Los códigos utilizados para la creación de variables se encuentran disponibles en el Anexo 2.

3.4.Consideraciones éticas

El presente estudio es un análisis secundario de base de datos, sin tener contacto con sujetos humanos ni animales. Se cuenta con la autorización para el uso de la base de datos (Anexo 1). Como se explicó en la sección de procesamiento de los datos, se anonimizó la base de datos, previo al análisis del presente estudio. La relación entre número de identificación y número de historia clínica fue entregada al investigador dueño de la base de datos primaria.

Este protocolo se registró en el Sistema Descentralizado de Información y Seguimiento a la Investigación (SIDISI) – Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología (DUICT) con número 203499, y fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (CIE-UPCH) (Constancia 541 – 30 – 20).

3.5. Análisis estadístico

3.5.1. Análisis de potencia

Debido a que es un análisis secundario de datos, se realizó el cálculo de la potencia estadística de la muestra obtenida para el presente estudio, mediante el programa estadístico Epidat v.4.2 (Dirección Xeral de Saúde Pública da Consellería de Sanidade, Galicia, España). Se compararon las proporciones independientes de grasa corporal total elevada entre los grupos de vitamina B12 normal (n=532) (n=331, 62.2%) y vitamina B12 disminuido (n=262) (n=183, 69.9%), obteniendo una potencia estadística de 53.79%.

3.5.2. Análisis estadístico para responder objetivos

Análisis descriptivo y bivariado

Se reportaron la mediana y rango intercuartílico (RIC) de las variables numéricas, porque no tenían distribución normal. La distribución normal de las variables numéricas se evaluó de diferentes maneras, incluyendo la similitud de la media y mediana, curtosis menor a tres, sesgo cercano a cero y con gráficos de histograma y cuantil-cuantil. Las variables categóricas se describieron como frecuencias absolutas y relativas.

Para el análisis bivariado se evaluó la asociación entre el nivel de vitamina B12 (normal o disminuido) y el nivel de grasa corporal total dicotomizada usando la prueba de Chi cuadrado. Adicionalmente, se evaluó la asociación de cada covariable categorizada con los dos grupos de grasa corporal total. Para ello, también se realizaron pruebas de chi cuadrado.

Análisis principal

El objetivo principal del estudio de tesis fue evaluado a través del cálculo de razones de prevalencia (RP) y sus intervalos de confianza al 95% (IC 95%) de nivel de grasa corporal total elevado según el nivel de vitamina B12 utilizando un análisis de regresión de Poisson con varianzas robustas, ajustado por las variables confusoras: edad, sexo y ferritina. Estas variables fueron identificadas usando un gráfico acíclico dirigido (97).

Análisis secundarios

Para la evaluación de los objetivos secundarios se siguió las recomendaciones de Knol y VanderWeele para la presentación de análisis de modificación de efectos (98). Se calculó las RP ajustadas e IC 95% de tener grasa corporal total elevada según el nivel de vitamina B12, por cada estrato de las posibles covariables modificadoras de efecto (sobrepeso, resistencia a la insulina, y ser varón). Luego, se calculó las RP ajustadas e IC 95% de tener grasa corporal total elevada, por cada estrato de vitamina B12 y las posibles covariables modificadoras de efecto (vitamina B12 x sobrepeso, vitamina B12 x resistencia a la insulina, y vitamina B12 x varón). La modificación de efecto se evaluó en las escalas de interacción multiplicativa y aditiva. Para la interacción multiplicativa se calculó la razón de RP ajustadas e IC 95% (Ecuación 1) usando un término de interacción (##) en el modelo de regresión de Poisson ajustado por variables confusoras. Se consideró que no se observó interacción multiplicativa cuando el IC 95% calculado contiene el 1. Mientras que para la interacción aditiva se calculó el exceso de RP debido a la interacción (RERI, por sus siglas en inglés) e IC 95% (Ecuación 2),

ajustado por variables confusoras, usando el comando *ic*. Se consideró que no se observó interacción aditiva cuando el IC 95% calculado contiene el 0 (99).

$$\text{(Ecuación 1) } \dots\dots\dots \frac{RP_{11}}{RP_{10} * RP_{01}}$$

$$\text{(Ecuación 2) } \dots\dots\dots RP_{11} - RP_{10} - RP_{01} - 1$$

Donde:

RP₁₁: Razón de prevalencia del subgrupo de vitamina B12 disminuida con la exposición de la posible variable modificadora de efecto.

RP₁₀: Razón de prevalencia del subgrupo de vitamina B12 disminuida sin la exposición de la posible variable modificadora de efecto.

RP₀₁: Razón de prevalencia del subgrupo de vitamina B12 normal con la exposición de la posible variable modificadora de efecto.

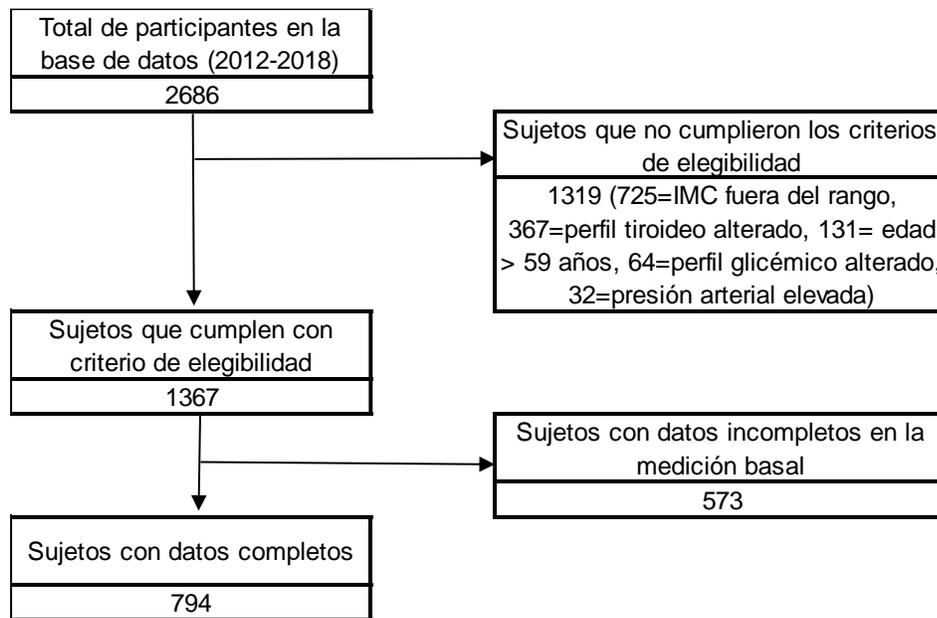
Adicionalmente se realizaron análisis de sensibilidad en la que se utilizaron diferentes modelos de regresión, considerando diferentes presentaciones de la variable exposición vitamina B12. Se calcula los coeficientes β crudos y ajustados y sus IC 95% en una regresión lineal múltiple entre niveles de vitamina B12 (cuantitativos, en pmol/L) y porcentaje de grasa corporal total (cuantitativo, en %), ajustado por variables confusoras, previa evaluación de supuestos (100). Además, también se calcularon las RP ajustadas y sus IC 95%, usando a la variable vitamina B12 categorizada en terciles, y dicotomizada de acuerdo con el punto de corte <203 pg/mL (<150 pmol/L), propuestos por la OMS en el 2008 para definir deficiencia de vitamina B12 (101). Todos los coeficientes y RP ajustados fueron controlados por las variables edad, sexo y ferritina.

En todos los análisis inferenciales, se consideró como estadísticamente significativo a un valor $p < 0,05$. En caso de la evaluación mediante interacción multiplicativa y aditiva se mantuvo el mismo nivel de significancia, porque su modificación no afectaba de manera importante el error tipo II (102). Todo el análisis estadístico previamente mencionado se realizó con el paquete estadístico STATA MP v16 (Statacorp, Texas, Estados Unidos).

4. Resultados

La base de datos original contenía 2686 observaciones, de los cuales 1319 fueron excluidos porque no cumplían los criterios de elegibilidad. Luego, 573 observaciones fueron excluidas porque tenían datos incompletos en las variables de interés (319 no tenían registro de vitamina B12, 227 de grasa corporal, y 27 de ferritina). Finalmente, se realizó el análisis con 794 observaciones, que corresponde al 29,8% de la base de datos primaria (Figura 1). Los individuos analizados tenían diferencias estadísticamente significativas en la mediana de edad (34 vs 36 años) y la frecuencia de triglicéridos elevados (23.2% y 43.1%) en comparación con los individuos excluidos por no tener datos completos de las variables de interés (Anexo 3).

Figura 1. Flujograma de selección de participantes del estudio.



Se analizó una muestra de 794 adultos no diabéticos no obesos que en su mayoría fueron mujeres (88.8%) quienes tenían una mediana de edad de 34 (RIC: 27 a 40) años, mientras que los varones tenían una mediana de edad de 39 (RIC: 29 a 46) años. La

mediana de IMC fue de 24.8 Kg/m² (RIC: 22.6 a 27.1). Casi la mitad de la muestra tenía sobrepeso y casi un cuarto de ella resistencia a la insulina. Las medianas de colesterol total, triglicéridos, colesterol LDL y HDL fue de 190 mg/dL (RIC: 165 a 219), 97 mg/dL (RIC: 71 a 145), 108 mg/dL (RIC: 87 a 133) y 54 mg/dL (RIC: 44 a 66), respectivamente. La mayoría de los individuos analizados tenían resultados normales de laboratorio, a excepción de los niveles de colesterol LDL. La mediana de vitamina B12 fue 415.6 pmol/L (RIC: 304.8 a 573.2), y la del porcentaje de grasa corporal total fue 36.5% (RIC: 31.5 a 40.4). La prevalencia de personas con porcentaje de grasa corporal total elevada fue de 64.7% y la prevalencia de personas con niveles disminuidos de vitamina B12 fue 33.0%. El rango del nivel de vitamina B12 en este último grupo era de 18.0 a 344.5 pmol/L (Tabla 1).

Tabla 1. Características de adultos no diabéticos no obesos eutiroideos de consultorio externo en una clínica privada de Lima, Perú durante el periodo 2015-2018 (n=794)

Características	N (%)
Sexo	
Femenino	705 (88.8)
Masculino	89 (11.2)
Edad (años)	
18 a 29	281 (35.4)
30 a 39	278 (35.0)
40 a 49	145 (18.3)
50 a 59	90 (11.3)
Triglicéridos séricos*	
Normal	285 (76.8)
Elevado	86 (23.2)
Colesterol total*	
Normal	207 (60.0)

Elevado	138 (40.0)
Colesterol LDL*	
Normal	137 (40.1)
Elevado	205 (59.9)
Colesterol HDL*	
Normal	248 (68.3)
Disminuido	115 (31.7)
Ferritina	
Disminución de reserva de hierro	123 (15.5)
Normal	587 (73.9)
Riesgo de sobrecarga de hierro	84 (10.6)
Sobrepeso	
Peso normal	405 (51.0)
Sobrepeso	389 (49.0)
Resistencia a la insulina*	
No	578 (76.8)
Sí	175 (23.2)
Vitamina B12 sérica	
Normal (>344.5 pmol/L)	532 (67.0)
Disminuido (≤344.5 pmol/L)	262 (33.0)
Nivel de grasa corporal total	
Normal	280 (35.3)
Elevada	514 (64.7)

* Variables suman menos de 794 por datos faltantes.

En el análisis bivariado, se encontró que el porcentaje de presencia de grasa corporal total elevada en las personas con nivel disminuido de vitamina B12 (69.9%) fue diferente a la de aquellos con nivel normal de vitamina B12 (62.2%). En aquellos adultos con triglicéridos y colesterol LDL elevados, los porcentajes de niveles de grasa corporal total elevada fueron mayores. Finalmente, se encontró mayor frecuencia de adultos con grasa corporal total elevada en el grupo de adultos con sobrepeso y resistencia a la insulina (Tabla 2).

Tabla 2. Características asociadas a nivel de grasa corporal total en el análisis

bivariado (n=794)

Características	Nivel de grasa corporal total		Valor p*
	Normal (n=280) n (%)	Elevado (n=514) n (%)	
Sexo			0.186
Femenino	243 (34.5)	462 (65.5)	
Masculino	37 (41.6)	52 (58.4)	
Edad			0.181
18 a 29	112 (39.9)	169 (60.1)	
30 a 39	96 (34.5)	182 (65.5)	
40 a 49	44 (30.3)	101 (69.7)	
50 a 59	28 (31.1)	62 (68.9)	
Triglicéridos séricos**			0.018
Normal	98 (34.4)	187 (65.6)	
Elevado	18 (20.9)	68 (79.1)	
Colesterol total**			0.114
Normal	69 (33.3)	138 (66.7)	
Elevado	35 (25.4)	103 (74.6)	
Colesterol LDL**			0.011
Normal	51 (37.2)	86 (62.8)	
Disminuido	50 (24.4)	155 (75.6)	
Colesterol HDL**			0.021
Normal	86 (34.7)	162 (65.3)	
Disminuido	26 (22.6)	89 (77.4)	
Ferritina			0.852
Disminución de reserva de hierro	46 (37.4)	77 (62.6)	
Normal	204 (34.8)	383 (65.3)	
Riesgo de sobrecarga de hierro	30 (35.7)	54 (64.3)	
Sobrepeso			<0.001
Sobrepeso	43 (11.1)	346 (89.0)	
Peso normal	237 (58.5)	168 (41.5)	
Resistencia a la insulina**			<0.001

Sí	28 (16.0)	147 (84.0)
No	236 (40.8)	342 (59.2)
Vitamina B12		0.034
Disminuido (≤ 344.5 pmol/L)	79 (30.2)	183 (69.9)
Normal (> 344.5 pmol/L)	201 (37.8)	331 (62.2)

* Prueba de Chi-cuadrado; ** Variables suman menos de 794 por datos faltantes.

En el análisis de regresión bivariado, se encontró que tener niveles disminuidos de vitamina B12 aumenta la probabilidad de tener grasa corporal total elevada en 12% (IC 95%: 1 a 25%). Considerando un enfoque epidemiológico, la asociación de interés y su intervalo de confianza entre vitamina B12 y grasa corporal total elevada no cambia cuando es ajustada por las variables confusoras sexo, edad categorizada cada diez años y ferritina (Tabla 3). Por otro lado, en la evaluación de modificación de efecto, la interacción multiplicativa y aditiva de vitamina B12 con sobrepeso, resistencia a la insulina y sexo no ocasionaba un cambio significativo en el efecto a la grasa corporal total elevada, entre sus respectivas categorías (Anexo 4)

Tabla 3. Asociación entre nivel de vitamina B12 y grasa corporal total elevada

Características	Análisis bivariado		Regresión múltiple*	
	RP	IC 95%	RP	IC 95%
Vitamina B12				
Disminuido (≤ 344.5 pmol/L)	1.12	1.01 a 1.25	1.13	1.02 a 1.25
Normal	Ref.		Ref.	

* Ajustado por sexo, edad, y ferritina; RP: Razón de prevalencias; IC 95%: Intervalo de confianza al 95%

En el análisis de sensibilidad realizando un cálculo de regresión lineal entre niveles de vitamina B12 y grasa corporal, ajustado por edad, sexo y niveles de ferritina, se obtiene un coeficiente de -0.003 (IC95%: -0.004 a -0.001) para niveles de vitamina B12.

Mientras que, en el análisis de regresión de Poisson, considerando como variable de exposición a la deficiencia de vitamina B12 (<150 pmol/L), se encontró una RPa 1.28 (IC95%: 1.04 a 1.56). A su vez, se observó un aparente aumento en el RPa en el primer tercil de vitamina B12, en comparación con el segundo tercil (Tabla 4).

Tabla 4. Análisis de sensibilidad de la asociación entre nivel de vitamina B12 y grasa corporal elevada

Variable	Análisis bivariado		Regresión múltiple*	
	β	IC 95%	β	IC 95%
Vitamina B12 (pmol/L)	-0.002	-0.004 a -0.001	-0.003	-0.004 a -0.001
Vitamina B12**				
Primer tercil	1.24	1.09 a 1.42	1.25	1.09 a 1.42
Segundo tercil	1.21	1.06 a 1.38	1.21	1.06 a 1.39
Tercer tercil	Ref.		Ref.	
Vitamina B12**				
Disminuido (< 150 pmol/L)	1.30	1.05 a 1.60	1.28	1.04 a 1.56
Normal (\geq 150 pmol/L)	Ref.		Ref.	

*Ajustado por sexo, edad, y ferritina; **Los coeficientes y el intervalo de confianza están exponenciados: e^β ; IC 95%: Intervalo de confianza al 95%

5. Discusión

5.1. Hallazgos principales

En una muestra de adultos no obesos no diabéticos se observó que aquellos con niveles disminuidos de vitamina B12 tenían mayor frecuencia de grasa corporal total elevada, en comparación con aquellos con niveles normales de vitamina B12. No se observó variación de esta asociación cuando fue ajustada por algunas variables confusoras, o cuando se analizó entre los subgrupos de sexo, resistencia a la insulina y sobrepeso.

5.2. Explicación y comparación con otros estudios

La vitamina B12 participa en importantes pasos en el metabolismo de los ácidos grasos (82), y además aumenta la lipogénesis, la adipogénesis (26) e incluso podría participar en el desarrollo de la resistencia a la insulina (103,104). De acuerdo con nuestros resultados, la influencia de los niveles disminuidos de vitamina B12 sobre la grasa corporal total podría ser relevante en aquellos adultos que tienen grasa corporal total elevada pero que aún no llegan a ser identificados con sobrepeso ni obesidad, según su IMC. Apoyando así, la hipótesis de la influencia temprana de la disminución de vitamina B12 en la formación de grasa corporal. Así como lo sugiere un estudio que incluyó gestantes de 30 semanas (cuando se llega a velocidad de crecimiento fetal máxima (105)) y observó la asociación entre la deficiencia de vitamina B12 materna y mayor grasa corporal de sus hijos al nacer y a los cinco años (32).

Algunos estudios transversales describen que no existe una correlación ni una asociación entre los niveles de vitamina B12 y grasa corporal total en adultos con

sobrepeso u obesidad (33,34), ni entre el nivel de vitamina B12 de mujeres gestantes en el primer trimestre del embarazo, cuando la velocidad de crecimiento fetal es lenta (105), con la grasa corporal de sus hijos (46,47). De la misma manera, un ensayo clínico no encontró efecto de la suplementación de vitamina B12 y folato sobre los niveles de grasa corporal en adultos mayores con comorbilidades (45). Sin embargo, nuestro estudio sí encuentra una asociación entre estas dos variables en una muestra conformada por adultos menores de 60 años no diabéticos no obesos. Este resultado es similar a los reportados por análisis transversales realizados en adultos daneses con muy baja tasa de comorbilidades (29), adolescentes europeos sanos (40) y niños mexicanos (39), y además es apoyado por recientes hallazgos de asociación entre déficit de vitamina B12 y dislipidemia en mujeres árabes (106). Estos últimos grupos poblacionales que sí observan una asociación entre las variables tienen en común el no tener comorbilidades importantes como diabetes, obesidad e hipertensión y son en su mayoría jóvenes. A diferencia de los estudios donde no encuentran la asociación entre vitamina B12 y grasa corporal en poblaciones con comorbilidades y edad avanzada. Estos hallazgos apoyarían la hipótesis que la disminución de vitamina B12 sería particularmente importante en etapas tempranas de los trastornos del metabolismo de lípidos.

5.3. Deficiencia de vitamina B12 y grasa corporal

Nuestros hallazgos muestran que la asociación con el porcentaje de grasa corporal total elevado, considerando un punto de corte para deficiencia de vitamina B12 de <150 pmol/L, se mantiene significativa. Este resultado es similar al de un estudio

que considera el mismo punto de corte, y que describe esta asociación entre la deficiencia de vitamina B12 en mujeres gestantes y la grasa corporal de sus hijos a los cinco años (32). De similar manera, la deficiencia de vitamina B12, con punto de corte de <148 pmol/L, también se encontraba asociada con sobrepeso y obesidad en escolares sanos en India (107). Los puntos de corte para definir deficiencia de vitamina B12 y las técnicas de laboratorio para su medición son muy variables entre los estudios epidemiológicos (93), ocasionando que la comparación de sus resultados sea limitada. Sin embargo, el punto de corte <150 pmol/L, propuesto por la OMS en el 2008 para evaluar el estado nutricional en poblaciones (101), parece ser que es una de las más usadas en los estudios (93). De esta manera, estos resultados aportan evidencia a favor del punto de corte para la evaluación del estado nutricional, según el nivel de grasa corporal, en pacientes no obesos y no diabéticos. Sin embargo, es necesario que se siga evaluando la utilidad de este punto de corte y otros más, que sea válido según la variabilidad de los niveles de vitamina B12 de acuerdo con la edad, sexo y etnia de las personas (92,93).

5.4.Evaluación de la modificación del efecto

En nuestro estudio no se observó interacción de la asociación de interés con las variables de sexo, sobrepeso y resistencia a la insulina. Sin embargo, estudios previos y un enfoque fisiopatológico sugieren que los subgrupos de mujeres (92), personas con sobrepeso (108) y resistencia a la insulina tienen niveles más bajos de vitamina B12 (26), y también mayores niveles de grasa corporal (66,109,110), en comparación con los varones, personas con peso normal y sin resistencia a la

insulina, respectivamente. Por lo que el efecto entre el nivel de vitamina B12 y la grasa corporal podría ser más grande en los subgrupos mencionados, en comparación con sus respectivos controles. A pesar de que en el presente estudio se realizaron análisis multivariados y estratificados por subgrupos (111), no se puede descartar la posibilidad de estas interacciones debido al bajo poder estadístico que se tienen inherentemente en estos análisis (112).

5.5.Limitaciones y fortalezas

El presente estudio tiene como principal limitación que fue realizado usando una base de datos secundaria. Esta situación ocasionó un limitado tamaño muestral al analizar sólo el 30% de observaciones de la base de datos original. En consecuencia, el poder estadístico para responder el objetivo principal del estudio fue de casi 54%. Un bajo poder estadístico en un análisis secundario puede significar que el tamaño de la muestra no es suficiente para encontrar resultados estadísticamente significativos (113). Pero, obtener un resultado estadísticamente significativo en el presente estudio con bajo poder estadístico, puede significar que se esté sobrestimando el verdadero efecto (114), reflejado también en el amplio intervalo de confianza de las RP calculadas. Por lo que, no se recomienda utilizar los efectos observados en el presente estudio para realizar cálculos de tamaño de muestra en futuros estudios, y que en su lugar se opte por un tamaño de efecto esperado más pequeño (115). A pesar de lo mencionado, nuestros resultados son consistentes y se mantienen la direccionalidad del efecto observado con otras pruebas estadísticas (regresión lineal) y formas de clasificar la variable

independiente (vitamina B12 en terciles y vitamina B12 disminuida con punto de corte < 150 pmol/L).

Por otro lado, la muestra analizada tiene una menor frecuencia de triglicéridos altos y menor edad mediana, en comparación con los registros de personas excluidas, lo que podría haber causado sesgo de selección porque estas variables pueden influenciar el nivel de vitamina B12 (53,106) y grasa corporal (54,116). Además, la alta frecuencia de mujeres en la muestra de estudio podría también haber ocasionado sesgo de selección porque las mujeres tienen en promedio menores niveles de vitamina B12 (92) y mayores niveles de grasa corporal subcutánea pero menores niveles de grasa visceral (109). A pesar de ello, no se observó interacción de la asociación entre las variables de interés y el sexo, por lo que no se esperaba que haya diferencias de los resultados entre varones y mujeres, particularmente en la muestra de este estudio. Aun así, debido al bajo poder estadístico para analizar el objetivo secundario del estudio, no se descarta que la asociación de interés interactúe con las variables de sexo, sobrepeso y resistencia a la insulina (112).

Además, al usar una base de datos ya recolectada no se tuvo acceso a toda la información relevante como el consumo de suplementos dietéticos y los patrones alimentarios de los individuos. Así, ocasionando que no sea posible saber si los niveles de vitamina B12 medidos se encuentran sobreestimados, considerando que alrededor de un tercio de los adultos usan suplementos nutricionales en países de medianos ingresos (117,118). Sin embargo, es poco probable que esto afecte la estimación del efecto porque se recolectó la información de pacientes que acuden por primera vez a la atención médica y que probablemente no cuentan con

suplementación nutricional, y porque se clasificó la vitamina B12 en terciles, haciendo que esta no dependa de su valor intrínseco. Por otro lado, la medición del nivel de grasa corporal y la extracción de datos de las historias clínicas para generar la base de datos fue realizada sólo una vez por individuo, dejando una posibilidad para tener errores en la medición de variables y en su registro. Sin embargo, este proceso fue supervisado por los investigadores principales del estudio original y durante el análisis de datos se buscó activamente valores no plausibles para la vida humana. Además, el grupo de individuos excluidos por no poseer las mediciones de las variables de interés, en su mayoría, no tiene diferentes estadísticamente significativos en comparación con los individuos analizados.

Usar una base de datos proveniente de una clínica privada podría ocasionar sesgo de selección, pues los pacientes que acudan a la clínica, a pesar de no tener ninguna comorbilidad, muchas veces pueden acudir con la intención de recibir tratamientos de pérdida de peso y en su mayoría podrían tener algún factor de riesgo que condiciona tener niveles más altos de grasa corporal total que el resto de la población, es así como casi la mitad de la muestra analizada tienen niveles alterados de lípidos. Además, al no tener un proceso estandarizado para solicitar la medición de las variables de interés, considerando un criterio clínico, podría causar que se haya tenido información sólo de aquellos individuos que posean factores de riesgo para trastornos metabólicos. Sin embargo, al seleccionar a las personas no diabéticas y no obesas en el estudio podría disminuir la influencia de estos factores sobre el efecto evaluado.

Por otra parte, para la variable vitamina B12 se usó un punto de corte basado en terciles, lo cual no representaría adecuadamente el concepto de deficiencia de vitamina B12. Sin embargo, este concepto no está completamente definido, ni el método diagnóstico, ni el punto de corte universal más adecuado, a pesar que se sugiere que podría estar entre 130 y 220 pmol/L (92,119). Es por ello, que se está considerando al tercil inferior como un nivel disminuido de vitamina B12, mas no de deficiencia, para esta muestra en particular con un punto de corte de 344.5 pmol/L. Además, en el análisis de sensibilidad con un punto de corte de 150 pmol/L los resultados se mantienen constantes. Por otro lado, el punto de corte para definir grasa corporal total elevada tal vez no tenga alta sensibilidad o especificidad, sin embargo es un punto de corte considerado para población hispana y que tiene como objetivo principal identificar adultos en riesgo de desarrollar trastornos metabólicos pero que tienen un IMC normal (120). Adicionalmente, en el presente estudio se categorizaron las variables principales lo cual podría aumentar la probabilidad de encontrar una asociación estadística entre ambas (121). Sin embargo, la significancia estadística se mantiene, aun cuando se analiza ambas variables en su naturaleza numérica.

Finalmente, el diseño transversal del estudio no permite describir una relación causal y unidireccional entre las variables estudiadas. Es posible que también los niveles disminuidos de vitamina B12 podrían ser consecuencia del exceso de peso y grasa corporal por una dieta inadecuada y alteración de la absorción y excreción de vitamina B12 (45,122). Tal como se observó en estudios transversales en adultos con trasplante renal (43) o diabetes (44). Pero, esta asociación tampoco es

complemente clara porque un estudio de cohorte en mujeres postmenopáusicas reporta que el cambio de grasa corporal no tiene efecto sobre el cambio de los niveles de vitamina B12 a las cuatro semanas (35). Nuestros resultados podrían deberse a un efecto de causalidad reversa en donde el desorden alimenticio y metabólico que tienen las personas cause la disminución de la vitamina B12. Sin embargo, la población estudiada son adultos sin comorbilidades que aún no tienen suficiente exceso de grasa corporal para ser catalogados como obesos, según el IMC. Por lo que el probable efecto de una dieta inadecuada y malabsorción sería pequeño para que cause deficiencia de vitamina B12 en este tipo de personas sin comorbilidades (92). Adicionalmente, a pesar del análisis ajustado por edad, sexo y ferritina, no se observa algún cambio en los efectos e intervalos de confianza en el análisis multivariado, por lo que estas variables no serían consideradas como variables confusoras, desde el punto de vista estadístico, en esta base de datos. Adicionalmente, queda la consideración del sesgo de confusión residual, pues no se pudieron evaluar variables confusoras como el síndrome de malabsorción y gastritis (55,123). Sin embargo, se utilizó los niveles de ferritina como una variable *proxy* de estas variables confusoras.

5.6.Implicancias

El presente estudio fue realizado en una población previamente no evaluada por los antecedentes encontrados. La asociación observada en adultos no diabéticos y no obesos aporta evidencia a favor de que la disminución de vitamina B12 en el posible aumento de la grasa corporal. Podría ser meritorio continuar con las evaluaciones y mediciones en estudios longitudinales con mayor tamaño muestral, que evalúen la

relación causal entre los niveles séricos de vitamina B12 y grasa corporal, especialmente durante fases tempranas del síndrome metabólico o en adultos completamente sanos, sin factores de riesgo cardiovasculares o endocrinos.

6. Conclusiones

Se evidencia una leve asociación entre nivel disminuido de vitamina B12 y grasa corporal total elevada en adultos no diabéticos no obesos. La disminución en niveles séricos de vitamina B12 podría participar en la alteración temprana del metabolismo de lípidos. Se sugiere realizar más estudios para confirmar este resultado en adultos sin comorbilidades e índice de masa corporal por debajo de 30 o 25 Kg/m².

7. Recomendaciones

Nuestros resultados clínicos ofrecen evidencia a favor de la hipótesis de la relevancia de los niveles de vitamina B12 en el metabolismo de la grasa corporal, especialmente en aquellos adultos sin comorbilidades como diabetes u obesidad. Se sugieren futuros estudios de cohorte con una muestra mejor controlada para confirmar nuestros hallazgos y demostrar una temporalidad en la relación entre estas dos variables. Además, se sugiere estandarizar el punto de corte para definir la deficiencia de vitamina B12 y la grasa corporal elevada, y considerar evaluar diferentes puntos de corte para estas definiciones.

8. Referencias bibliográficas:

1. Hill JO, Wyatt HR, Peters JC. Energy Balance and Obesity. *Circulation*. 3 de julio de 2012;126(1):126-32.
2. Suganami T, Tanaka M, Ogawa Y. Adipose tissue inflammation and ectopic lipid accumulation. *Endocr J*. 2012;59(10):849-57.
3. Maffetone PB, Rivera-Dominguez I, Laursen PB. Overfat and Underfat: New Terms and Definitions Long Overdue. *Front Public Health*. 2017;4:279.
4. Maffetone PB, Laursen PB. Revisiting the Global Overfat Pandemic. *Front Public Health*. 2020;8:51.
5. International Classification of Diseases 11th Revision [Internet]. Geneva: WHO; c2019 [citado 18 abril 2020]. 5B81 Obesity [aprox. 1 pantalla]. Disponible en: <https://icd.who.int/browse11/l-m/en#/http://id.who.int/icd/entity/149403041>.
6. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. *Lancet*. 16 de diciembre de 2017;390(10113):2627-42.
7. World Health Organization. Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. Report of a WHO Consultation (WHO Technical Report Series 894) [Internet]. Geneva: WHO; 2000. [citado 17 abril 2020]. Disponible en: https://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/.
8. Zeng Q, Dong SY, Sun XN, Xie J, Cui Y. Percent body fat is a better predictor of cardiovascular risk factors than body mass index. *Braz J Med Biol Res*. julio de 2012;45(7):591-600.
9. Park SK, Ryoo JH, Oh CM, Choi JM, Chung PW, Jung JY. Body fat percentage, obesity, and their relation to the incidental risk of hypertension. *J Clin Hypertens*. octubre de 2019;21(10):1496-504.
10. Ortega FB, Sui X, Lavie CJ, Blair SN. Body Mass Index, the Most Widely Used but also Widely Criticized Index: Would a Gold-Standard Measure of Total Body Fat be a Better Predictor of Cardiovascular Disease Mortality? *Mayo Clin Proc*. abril de 2016;91(4):443-55.
11. Böhm A, Heitmann BL. The use of bioelectrical impedance analysis for body composition in epidemiological studies. *Eur J Clin Nutr*. enero de 2013;67(S1):S79-85.

12. Chang SH, Beason TS, Hunleth JM, Colditz GA. A systematic review of body fat distribution and mortality in older people. *Maturitas*. julio de 2012;72(3):175-91.
13. Gupta P, Lanca C, Gan ATL, Soh P, Thakur S, Tao Y, et al. The Association between Body Composition using Dual energy X-ray Absorptiometry and Type-2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational studies. *Sci Rep*. 2 de septiembre de 2019;9.
14. Byambasukh O, Eisenga MF, Gansevoort RT, Bakker SJ, Corpeleijn E. Body fat estimates from bioelectrical impedance equations in cardiovascular risk assessment: The PREVEND cohort study. *Eur J Prev Cardiol*. junio de 2019;26(9):905-16.
15. Klop B, Elte JWF, Cabezas MC. Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients*. 12 de abril de 2013;5(4):1218-40.
16. Oliveros E, Somers VK, Sochor O, Goel K, Lopez-Jimenez F. The Concept of Normal Weight Obesity. *Prog Cardiovasc Dis*. enero de 2014;56(4):426-33.
17. Madeira FB, Silva AA, Veloso HF, Goldani MZ, Kac G, Cardoso VC, et al. Normal Weight Obesity Is Associated with Metabolic Syndrome and Insulin Resistance in Young Adults from a Middle-Income Country. *PLOS ONE*. 28 de marzo de 2013;8(3):e60673.
18. Benziger CP, Bernabé-Ortiz A, Gilman RH, Checkley W, Smeeth L, Málaga G, et al. Metabolic Abnormalities Are Common among South American Hispanics Subjects with Normal Weight or Excess Body Weight: The CRONICAS Cohort Study. *PloS One*. 2015;10(11):e0138968.
19. Maffetone P. Overfat in the Hispanic World [Internet]. Dr. Phil Maffetone. 2021 [citado 16 de abril de 2022]. Disponible en: <https://philmaffetone.com/overfat-in-the-hispanic-world/>
20. Fan J, Song Y, Chen Y, Hui R, Zhang W. Combined effect of obesity and cardio-metabolic abnormality on the risk of cardiovascular disease: A meta-analysis of prospective cohort studies. *Int J Cardiol*. 12 de octubre de 2013;168(5):4761-8.
21. Yang HK, Han K, Kwon HS, Park YM, Cho JH, Yoon KH, et al. Obesity, metabolic health, and mortality in adults: a nationwide population-based study in Korea. *Sci Rep*. 22 de julio de 2016;6(1):30329.
22. Aung K, Lorenzo C, Hinojosa MA, Haffner SM. Risk of developing diabetes and cardiovascular disease in metabolically unhealthy normal-weight and metabolically healthy obese individuals. *J Clin Endocrinol Metab*. febrero de 2014;99(2):462-8.

23. Hirsch KR, Smith-Ryan AE, Blue MNM, Mock MG, Trexler ET, Ondrak KS. Metabolic Characterization of Overweight and Obese Adults. *Phys Sportsmed.* noviembre de 2016;44(4):362-72.
24. GBD 2015 Obesity Collaborators, Afshin A, Forouzanfar MH, Reitsma MB, Sur P, Estep K, et al. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *N Engl J Med.* 06 de 2017;377(1):13-27.
25. Thomas-Valdés S, Tostes M das GV, Anunciação PC, da Silva BP, Sant'Ana HMP. Association between vitamin deficiency and metabolic disorders related to obesity. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 13 de octubre de 2017;57(15):3332-43.
26. Boachie J, Adaikalakoteswari A, Samavat J, Saravanan P. Low Vitamin B12 and Lipid Metabolism: Evidence from Pre-Clinical and Clinical Studies. *Nutrients.* 29 de junio de 2020;12(7).
27. Knight BA, Shields BM, Brook A, Hill A, Bhat DS, Hattersley AT, et al. Lower Circulating B12 Is Associated with Higher Obesity and Insulin Resistance during Pregnancy in a Non-Diabetic White British Population. *PloS One.* 2015;10(8):e0135268.
28. Mahalle N, Kulkarni MV, Garg MK, Naik SS. Vitamin B12 deficiency and hyperhomocysteinemia as correlates of cardiovascular risk factors in Indian subjects with coronary artery disease. *J Cardiol.* 1 de abril de 2013;61(4):289-94.
29. Allin KH, Friedrich N, Pietzner M, Grarup N, Thuesen BH, Linneberg A, et al. Genetic determinants of serum vitamin B12 and their relation to body mass index. *Eur J Epidemiol.* febrero de 2017;32(2):125-34.
30. da Silva Pontes KS, Torres Klein MRS, Silva da Costa M, de Carvalho Rosina KT, Medeiros Mena Barreto AP, Barreto Silva MI, et al. Vitamin B12 status in kidney transplant recipients: association with dietary intake, body adiposity and immunosuppression. *Br J Nutr.* 28 de agosto de 2019;122(4):450-8.
31. Knight BA, Shields BM, Hattersley AT, Yajnik CR. PMM.52 Lower circulating B12 in pregnancy is associated with higher maternal adiposity and insulin resistance in non-diabetic Caucasian women during and after pregnancy. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed.* 1 de junio de 2014;99(Suppl 1):A140-A140.
32. Krishnaveni G, Hill J, Veena S, Bhat D, Wills A, Chachyamma K, et al. Low plasma vitamin B12 and high folate concentrations in pregnancy are associated with gestational diabetes and incident diabetes. *Diabetologia.* noviembre de 2009;52(11):2350-8.

33. Lind MV, Lauritzen L, Vestergaard H, Hansen T, Pedersen O, Kristensen M, et al. One-carbon metabolism markers are associated with cardiometabolic risk factors. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2018;28(4):402-10.
34. Baltaci D, Kutlucan A, Turker Y, Yilmaz A, Karacam S, Deler H, et al. Association of vitamin B12 with obesity, overweight, insulin resistance and metabolic syndrome, and body fat composition; primary care-based study. *Med Glas.* agosto de 2013;10(2):203-10.
35. Mahabir S, Ettinger S, Johnson L, Baer DJ, Clevidence BA, Hartman TJ, et al. Measures of adiposity and body fat distribution in relation to serum folate levels in postmenopausal women in a feeding study. *Eur J Clin Nutr.* mayo de 2008;62(5):644-50.
36. Geiker NRW, Veller M, Kjoelbaek L, Jakobsen J, Ritz C, Raben A, et al. Effect of low energy diet for eight weeks to adults with overweight or obesity on folate, retinol, vitamin B12, D and E status and the degree of inflammation: a post hoc analysis of a randomized intervention trial. *Nutr Metab.* 10 de abril de 2018;15:24.
37. De Lorenzo A, Romano L, Di Renzo L, Di Lorenzo N, Cennamo G, Gualtieri P. Obesity: A preventable, treatable, but relapsing disease. *Nutrition.* 1 de marzo de 2020;71:110615.
38. Maffetone PB, Rivera-Dominguez I, Laursen PB. Overfat Adults and Children in Developed Countries: The Public Health Importance of Identifying Excess Body Fat. *Front Public Health.* 2017;5.
39. Gunanti IR, Marks GC, Al-Mamun A, Long KZ. Low serum vitamin B-12 and folate concentrations and low thiamin and riboflavin intakes are inversely associated with greater adiposity in Mexican American children. *J Nutr.* diciembre de 2014;144(12):2027-33.
40. Iglesia I, González-Gross M, Huybrechts I, De Miguel-Etayo P, Molnar D, Manios Y, et al. Associations between insulin resistance and three B-vitamins in European adolescents: the HELENA study. *Nutr Hosp.* 05 de 2017;34(3):568-77.
41. Schmelzle HR, Fusch C. Body fat in neonates and young infants: validation of skinfold thickness versus dual-energy X-ray absorptiometry. *Am J Clin Nutr.* 1 de noviembre de 2002;76(5):1096-100.
42. Kouwenhoven SMP, Antl N, Twisk JWR, Koletzko BV, Finken MJJ, van Goudoever JB. Methods to Assess Fat Mass in Infants and Young Children: A Comparative Study Using Skinfold Thickness and Air-Displacement Plethysmography. *Life.* 20 de enero de 2021;11(2):75.

43. Pontes KS da S, Klein MRST, da Costa MS, Rosina KT de C, Barreto APMM, Silva MIB, et al. Vitamin B12 status in kidney transplant recipients: association with dietary intake, body adiposity and immunosuppression. *Br J Nutr.* agosto de 2019;122(04):450-8.
44. Yakubu M, Laing EF, Nsiah P, Anthony R, Acheampong E, Asamoah SK, et al. Vitamin B-12 deficiency in type 2 diabetic patients on metformin: a cross-sectional study from South-Western part of Ghana. *Alex J Med.* 2 de enero de 2019;55(1):58-67.
45. Oliai Araghi S, Braun KVE, van der Velde N, van Dijk SC, van Schoor NM, Zillikens MC, et al. B-vitamins and body composition: integrating observational and experimental evidence from the B-PROOF study. *Eur J Nutr.* abril de 2020;59(3):1253-62.
46. Yajnik CS, Deshpande SS, Jackson AA, Refsum H, Rao S, Fisher DJ, et al. Vitamin B12 and folate concentrations during pregnancy and insulin resistance in the offspring: the Pune Maternal Nutrition Study. *Diabetologia.* enero de 2008;51(1):29-38.
47. Monasso GS, Santos S, Geurtsen ML, Heil SG, Felix JF, Jaddoe VWV. Associations of Early Pregnancy and Neonatal Circulating Folate, Vitamin B-12, and Homocysteine Concentrations with Cardiometabolic Risk Factors in Children at 10 y of Age. *J Nutr.* 23 de marzo de 2021;151(6):1628-36.
48. Vimalleswaran KS. GeNuIne (gene-nutrient interactions) Collaboration: towards implementing multi-ethnic population-based nutrigenetic studies of vitamin B12 and D deficiencies and metabolic diseases. *Proc Nutr Soc.* 22 de septiembre de 2021;1-11.
49. Moen GH, Qvigstad E, Birkeland KI, Evans DM, Sommer C. Are serum concentrations of vitamin B-12 causally related to cardiometabolic risk factors and disease? A Mendelian randomization study. *Am J Clin Nutr.* 01 de 2018;108(2):398-404.
50. Zegarra-Lizana PA, Ramos-Orosco EJ, Guarnizo-Poma M, Pantoja-Torres B, Paico-Palacios S, Del Carmen Ranilla-Seguin V, et al. Relationship between body fat percentage and insulin resistance in adults with Bmi values below 25 Kg/M2 in a private clinic. *Diabetes Metab Syndr.* octubre de 2019;13(5):2855-9.
51. Patel SA, Ali MK, Alam D, Yan LL, Levitt NS, Bernabe-Ortiz A, et al. Obesity and its Relation With Diabetes and Hypertension: A Cross-Sectional Study Across 4 Geographical Regions. *Glob Heart.* marzo de 2016;11(1):71-79.e4.
52. Guarnizo-Poma M, Urrunaga-Pastor D, Montero-Suyo C, Lazaro-Alcantara H, Paico-Palacios S, Pantoja-Torres B, et al. Association between serum vitamin

- B12 levels and metabolic syndrome in a euthyroid population. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev.* noviembre de 2018;12(6):943-8.
53. Nilsson-Ehle H. Age-related changes in cobalamin (vitamin B12) handling. Implications for therapy. *Drugs Aging.* abril de 1998;12(4):277-92.
 54. Kuk JL, Saunders TJ, Davidson LE, Ross R. Age-related changes in total and regional fat distribution. *Ageing Res Rev.* octubre de 2009;8(4):339-48.
 55. Li W, Richard D. Effects of Bariatric Surgery on Energy Homeostasis. *Can J Diabetes.* agosto de 2017;41(4):426-31.
 56. Rtveldze K, Marsh T, Barquera S, Sanchez Romero LM, Levy D, Melendez G, et al. Obesity prevalence in Mexico: impact on health and economic burden. *Public Health Nutr.* enero de 2014;17(1):233-9.
 57. Rtveldze K, Marsh T, Webber L, Kilpi F, Levy D, Conde W, et al. Health and economic burden of obesity in Brazil. *PloS One.* 2013;8(7):e68785.
 58. Bloom DE, Chen S, McGoven ME. The economic burden of noncommunicable diseases and mental health conditions: results for Costa Rica, Jamaica, and Peru. *Rev Panam Salud Publica.* 2018;42:e18.
 59. Bui AL, Moscoso MG, Bernabe-Ortiz A, Checkley W, Gilman RH, Smeeth L, et al. A secondary analysis examining the concordance of self-perception of weight and actual measurement of body fat percentage: The CRONICAS Cohort Study. *BMC Obes.* 2019;6:9.
 60. Wong WW, Strizich G, Heo M, Heymsfield SB, Himes JH, Rock CL, et al. Relationship between body fat and BMI in a US hispanic population-based cohort study: Results from HCHS/SOL. *Obesity.* 2016;24(7):1561-71.
 61. Schulze MB. Metabolic health in normal-weight and obese individuals. *Diabetologia.* 2019;62(4):558-66.
 62. Ruiz-Alejos A, Carrillo-Larco RM, Miranda JJ, Gilman RH, Smeeth L, Bernabé-Ortiz A. Skinfold thickness and the incidence of type 2 diabetes mellitus and hypertension: an analysis of the PERU MIGRANT Study. *Public Health Nutr.* enero de 2020;23(1):63-71.
 63. Quiliche Castañeda RB, Turpo-Chaparro J, Torres JH, Saintila J, Ruiz Mamani PG. Overweight and Obesity, Body Fat, Waist Circumference, and Anemia in Peruvian University Students: A Cross-Sectional Study. *J Nutr Metab.* 8 de diciembre de 2021;2021:5049037.

64. Gurunathan U, Myles PS. Limitations of body mass index as an obesity measure of perioperative risk. *BJA Br J Anaesth.* 1 de marzo de 2016;116(3):319-21.
65. Allison DB, Faith MS, Heo M, Kotler DP. Hypothesis concerning the U-shaped relation between body mass index and mortality. *Am J Epidemiol.* 15 de agosto de 1997;146(4):339-49.
66. Okorodudu DO, Jumean MF, Montori VM, Romero-Corral A, Somers VK, Erwin PJ, et al. Diagnostic performance of body mass index to identify obesity as defined by body adiposity: a systematic review and meta-analysis. *Int J Obes.* mayo de 2010;34(5):791-9.
67. Heymsfield SB, Wadden TA. Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *N Engl J Med.* 19 de enero de 2017;376(3):254-66.
68. Shuster A, Patlas M, Pinthus JH, Mourtzakis M. The clinical importance of visceral adiposity: a critical review of methods for visceral adipose tissue analysis. *Br J Radiol.* enero de 2012;85(1009):1-10.
69. Geliebter A, Atalayer D, Flancbaum L, Gibson CD. Comparison of body adiposity index (BAI) and BMI with estimations of % body fat in clinically severe obese women. *Obes Silver Spring Md.* marzo de 2013;21(3):493-8.
70. Jaffrin MY. Body composition determination by bioimpedance: an update. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* septiembre de 2009;12(5):482-6.
71. Jayanama K, Putadechakun S, Srisuwarn P, Vallibhakara SAO, Chattranukulchai Shantavasinkul P, Sritara C, et al. Evaluation of Body Composition in Hemodialysis Thai Patients: Comparison between Two Models of Bioelectrical Impedance Analyzer and Dual-Energy X-Ray Absorptiometry. *J Nutr Metab.* 5 de agosto de 2018;2018.
72. Fosbøl MØ, Zerahn B. Contemporary methods of body composition measurement. *Clin Physiol Funct Imaging.* marzo de 2015;35(2):81-97.
73. Sergi G, De Rui M, Stubbs B, Veronese N, Manzato E. Measurement of lean body mass using bioelectrical impedance analysis: a consideration of the pros and cons. *Aging Clin Exp Res.* agosto de 2017;29(4):591-7.
74. Bosy-Westphal A, Schautz B, Later W, Kehayias JJ, Gallagher D, Müller MJ. What makes a BIA equation unique? Validity of eight-electrode multifrequency BIA to estimate body composition in a healthy adult population. *Eur J Clin Nutr.* enero de 2013;67 Suppl 1:S14-21.

75. Beeson WL, Batech M, Schultz E, Salto L, Firek A, Deleon M, et al. Comparison of body composition by bioelectrical impedance analysis and dual-energy X-ray absorptiometry in Hispanic diabetics. *Int J Body Compos Res.* 2010;8(2):45-50.
76. Forrester JE, Sheehan HMB, Joffe TH. A validation study of body composition by bioelectrical impedance analysis in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and HIV-negative Hispanic men and women. *J Am Diet Assoc.* marzo de 2008;108(3):534-8.
77. Laillou A, Yakes E, Le TH, Wieringa FT, Le BM, Moench-Pfanner R, et al. Intra-Individual Double Burden of Overweight and Micronutrient Deficiencies among Vietnamese Women. *PLoS ONE.* 15 de octubre de 2014;9(10).
78. Watanabe F. Vitamin B 12 Sources and Bioavailability. *Exp Biol Med.* noviembre de 2007;232(10):1266-74.
79. Giedyk M, Goliszewska K, Gryko D. Vitamin B12 catalysed reactions. *Chem Soc Rev.* 26 de mayo de 2015;44(11):3391-404.
80. Hannibal L, Blom HJ. Homocysteine and disease: Causal associations or epiphenomenons? *Mol Aspects Med.* 2017;53:36-42.
81. Esse R, Barroso M, Tavares de Almeida I, Castro R. The Contribution of Homocysteine Metabolism Disruption to Endothelial Dysfunction: State-of-the-Art. *Int J Mol Sci.* 17 de febrero de 2019;20(4).
82. Deshmukh U, Katre P, Yajnik CS. Influence of Maternal Vitamin B-12 and Folate on Growth and Insulin Resistance in the Offspring. En: Bhatia J, Bhutta ZA, Kalhan SC, editores. *Nestlé Nutrition Institute Workshop Series.* Basel: S. KARGER AG; 2013. p. 145-56.
83. Ebbert JO, Jensen MD. Fat Depots, Free Fatty Acids, and Dyslipidemia. *Nutrients.* 7 de febrero de 2013;5(2):498-508.
84. Unger T, Borghi C, Charchar F, Khan NA, Poulter NR, Prabhakaran D, et al. 2020 International Society of Hypertension Global Hypertension Practice Guidelines. *Hypertension.* junio de 2020;75(6):1334-57.
85. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2021. *Diabetes Care.* 4 de diciembre de 2020;44(Supplement_1):S15-33.
86. Vyakaranam S, Vanaparthi S, Nori S, Palarapu S, Bhongir AV. Study of Insulin Resistance in Subclinical Hypothyroidism. *Int J Health Sci Res.* septiembre de 2014;4(9):147-53.

87. Grundy Scott M., Stone Neil J., Bailey Alison L., Beam Craig, Birtcher Kim K., Blumenthal Roger S., et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCN A Guideline on the Management of Blood Cholesterol: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*. 18 de junio de 2019;139(25):e1082-143.
88. Macek P, Biskup M, Terek-Derszniak M, Stachura M, Krol H, Gozdz S, et al. Optimal Body Fat Percentage Cut-Off Values in Predicting the Obesity-Related Cardiovascular Risk Factors: A Cross-Sectional Cohort Study. *Diabetes Metab Syndr Obes Targets Ther*. 12 de mayo de 2020;13:1587-97.
89. Nickerson BS. Evaluation of Obesity Cutoff Values in Hispanic Adults: Derivation of New Standards. *J Clin Densitom*. 2021;24(3):388-96.
90. Wang Z, Shen W, Withers RT, Heymsfield SB. Human body composition. En: *Multicomponent Molecular-Level Models of Body Composition Analysis*. Illinois: Human Kinetics Publishers; 2005.
91. Cobas. Vitamin B12 II. Roche Diagnostics. 2017. Disponible en: http://labogids.sintmaria.be/sites/default/files/files/vb12_ii_2017-05_v3.pdf.
92. Green R, Allen LH, Bjørke-Monsen AL, Brito A, Guéant JL, Miller JW, et al. Vitamin B 12 deficiency. *Nat Rev Dis Primer*. 29 de junio de 2017;3(1):1-20.
93. Aparicio-Ugarriza R, Palacios G, Alder M, González-Gross M. A review of the cut-off points for the diagnosis of vitamin B12 deficiency in the general population. *Clin Chem Lab Med*. julio de 2015;53(8):1149-59.
94. Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity. *Diabetes Care*. 1 de enero de 2000;23(1):57-63.
95. Carrillo-Larco RM, Miranda JJ, Gilman RH, Checkley W, Smeeth L, Bernabe-Ortiz A, et al. The HOMA-IR Performance to Identify New Diabetes Cases by Degree of Urbanization and Altitude in Peru: The CRONICAS Cohort Study. *J Diabetes Res*. 16 de diciembre de 2018;2018:7434918.
96. Organización Mundial de la Salud. Concentraciones de ferritina para evaluar el estado de nutrición en hierro en las poblaciones. Geneva: WHO; 2011. Disponible en: https://www.who.int/vmnis/indicators/serum_ferritin_es.pdf.
97. Digitale JC, Martin JN, Glymour MM. Tutorial on directed acyclic graphs. *J Clin Epidemiol*. 1 de febrero de 2022;142:264-7.

98. Knol MJ, VanderWeele TJ. Recommendations for presenting analyses of effect modification and interaction. *Int J Epidemiol.* abril de 2012;41(2):514-20.
99. VanderWeele TJ, Knol MJ. A Tutorial on Interaction. *Epidemiol Methods.* 1 de diciembre de 2014;3(1):33-72.
100. Meuleman B, Loosveldt G, Emonds V. Regression analysis: Assumptions and diagnostics. En: *The SAGE Handbook of Regression Analysis and Causal Inference.* UK: SAGE UK; 2014.
101. de Benoist B. Conclusions of a WHO Technical Consultation on Folate and Vitamin B12 Deficiencies. *Food Nutr Bull.* junio de 2008;29(2_suppl1):S238-44.
102. Durand CP. Does raising type 1 error rate improve power to detect interactions in linear regression models? A simulation study. *PloS One.* 2013;8(8):e71079.
103. Rasmussen BB, Holmbäck UC, Volpi E, Morio-Liondore B, Paddon-Jones D, Wolfe RR. Malonyl coenzyme A and the regulation of functional carnitine palmitoyltransferase-1 activity and fat oxidation in human skeletal muscle. *J Clin Invest.* 1 de diciembre de 2002;110(11):1687-93.
104. Herrero L, Rubí B, Sebastián D, Serra D, Asins G, Maechler P, et al. Alteration of the Malonyl-CoA/Carnitine Palmitoyltransferase I Interaction in the β -Cell Impairs Glucose-Induced Insulin Secretion. *Diabetes.* 1 de febrero de 2005;54(2):462-71.
105. Grantz KL, Kim S, Grobman WA, Newman R, Owen J, Skupski D, et al. Fetal growth velocity: the NICHD fetal growth studies. *Am J Obstet Gynecol.* septiembre de 2018;219(3):285.e1-285.e36.
106. Al-Musharaf S, Aljuraiban GS, Danish Hussain S, Alnaami AM, Saravanan P, Al-Daghri N. Low Serum Vitamin B12 Levels Are Associated with Adverse Lipid Profiles in Apparently Healthy Young Saudi Women. *Nutrients.* 10 de agosto de 2020;12(8).
107. Chakraborty S, Chopra M, Mani K, Giri AK, Banerjee P, Sahni NS, et al. Prevalence of vitamin B12 deficiency in healthy Indian school-going adolescents from rural and urban localities and its relationship with various anthropometric indices: a cross-sectional study. *J Hum Nutr Diet.* agosto de 2018;31(4):513-22.
108. Wiebe N, Field CJ, Tonelli M. A systematic review of the vitamin B12, folate and homocysteine triad across body mass index: Systematic review of B12 concentrations. *Obes Rev.* noviembre de 2018;19(11):1608-18.

109. Demerath EW, Sun SS, Rogers N, Lee M, Reed D, Choh AC, et al. Anatomical patterning of visceral adipose tissue: race, sex, and age variation. *Obes Silver Spring Md.* diciembre de 2007;15(12):2984-93.
110. Ahmed B, Sultana R, Greene MW. Adipose tissue and insulin resistance in obese. *Biomed Pharmacother.* 1 de mayo de 2021;137:111315.
111. Hayward RA, Kent DM, Vijan S, Hofer TP. Multivariable risk prediction can greatly enhance the statistical power of clinical trial subgroup analysis. *BMC Med Res Methodol.* 13 de abril de 2006;6(1):18.
112. Brookes ST, Whitely E, Egger M, Smith GD, Mulheran PA, Peters TJ. Subgroup analyses in randomized trials: risks of subgroup-specific analyses; power and sample size for the interaction test. *J Clin Epidemiol.* marzo de 2004;57(3):229-36.
113. Dziak JJ, Dierker LC, Abar B. The Interpretation of Statistical Power after the Data have been Gathered. *Curr Psychol N B NJ.* junio de 2020;39(3):870-7.
114. Gelman A, Vehtari A, Kalhan SC. Design and sample size decisions. En: *Regression and other stories.* Reino Unido: Cambridge University Press; 2021. p. 291-312.
115. Button KS, Ioannidis JPA, Mokrysz C, Nosek BA, Flint J, Robinson ESJ, et al. Power failure: why small sample size undermines the reliability of neuroscience. *Nat Rev Neurosci.* mayo de 2013;14(5):365-76.
116. Addo OY, Pereira MA, Himes JH. Comparability of skinfold thickness to DXA whole-body total fat in their associations with serum triglycerides in youths. *Eur J Clin Nutr.* septiembre de 2012;66(9):989-93.
117. Mahdavi-Roshan M, Rezazadeh A, Joukar F, Khorshidi Y, Naghipour M, Mansour-Ghanaei F. Dietary supplements consumption and its association with socioeconomic factors, obesity and main non-communicable chronic diseases in the north of Iran: the PERSIAN Guilan Cohort Study (PGCS). *BMC Nutr.* 15 de diciembre de 2021;7(1):84.
118. Sousa AG, Costa THM da. Diet and supplement assessment in a Brazilian urban population. *Rev Saúde Pública.* 24 de mayo de 2021;55:26.
119. Department of Health. Australian Government. Vitamin B12 testing. Report. 2014. Disponible en: [https://www1.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/content/7C28F0B6D06F9FFCCA257EB9001D769B/\\$File/Vitamin%20B12%20testing%20Review%20Report.pdf](https://www1.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/content/7C28F0B6D06F9FFCCA257EB9001D769B/$File/Vitamin%20B12%20testing%20Review%20Report.pdf).

120. Oreopoulos A, Lavie CJ, Snitker S, Romero-Corral A. More on Body Fat Cutoff Points—Reply—I. *Mayo Clin Proc.* junio de 2011;86(6):584-5.
121. Cumsille F, Bangdiwala SI. Categorización de variables en el análisis estadístico de datos: consecuencias sobre la interpretación de resultados. *Rev Panam Salud Publica Pan Am J Public Health.* noviembre de 2000;8(5):348-54.
122. O’Leary F, Samman S. Vitamin B12 in health and disease. *Nutrients.* marzo de 2010;2(3):299-316.
123. Kryssia IRC, Marilisa F, Antonino N, Chiara M, Antonio N, Gioacchino L, et al. Clinical manifestations of chronic atrophic gastritis. *Acta Bio Medica Atenei Parm.* 2018;89(Suppl 8):88-92.

9. Anexos

Anexo 1. Documento de permiso o autorización de uso de base de datos



Lima, 22 de octubre del 2020

Señor,
Christopher Alexander Alarcón Ruiz
Médico cirujano, maestrando de la
Universidad Peruana Cayetano Heredia
Lima, Perú

Presente.

Estimados,

Por la presente quisiera hacer de su conocimiento que conozco amplia y detalladamente el proyecto de investigación titulado "Asociación entre nivel de vitamina B12 y grasa corporal en adultos sanos no obesos ", realizado en la institución en la que ejerzo el cargo de gerente general.

Por lo expuesto no tengo inconveniente alguno en brindarles las facilidades de ingresar a nuestra institución a que realicen el trabajo mencionado y permitirles usar la base de datos de nuestros pacientes que han sido atendidos entre los años 2012 y 2019, la cual fue recolectada utilizando los registros electrónicos de análisis de laboratorio y las historias clínicas con fines de vigilancia epidemiológica y gestión. Los datos fueron obtenidos sin identificadores por personal que no participará de la investigación, teniendo las consideraciones éticas respectivas para resguardar el anonimato de los participantes.

Atentamente,



Herbert Lazaro Alcantara
Gerente General
Instituto Médico de la Mujer
Lima, Perú

Anexo 2. Libro de códigos utilizados para la limpieza de la base de datos

```
cd "C:\Users\USUARIO\Dropbox\Tesis_UPCH\2. Base de datos"
clear
set more off
use base_IMM_2020, clear

***** Limpieza de base de datos *****
describe // 29 variables
count // 2686 observaciones

**Eliminar duplicados los registros duplicados si los hubiere.
duplicates report nohistoriaclinica // 1 Duplicado
duplicates list nohistoriaclinica // Observaciones 1219 (H-1450) y 1643 (H-1450)
list if nohistoriaclinica=="H-1450" // Se revisa la similitud. No son iguales, se trata
de un error del registro de la HC. No se elimina "observación duplicada"

**Criterios de exclusion
*** IMC. Criterio de exclusion: IMC < 18.5 o > 29.99. Eliminados 725
gen imcn =.
replace imcn=imc
keep if (imcn>=18.5 & imcn<=29.99) | imcn==.

*** Glicemia basal en ayunas. Criterio de exclusion: G0 >=126, Eliminados 41
gen g0n =.
replace g0n=g0
keep if g0n<126 | g0n==.

*** Hb glicosilada. Criterio de exclusion: Hb glicosilada >=6.5%, Eliminados 17
gen hbgli=.
replace hbgli=hbglicada
keep if hbgli<6.5 | hbgli==.

** Glicemia a 120 minutos. Criterio de exclusion: G120>=200, Eliminados 6
gen g120n =.
replace g120n=g120
keep if g120n<200 | g120n==.

*** Niveles de TSH. Criterio de exclusión: TSH >5 o <0.4, Eliminados 243
gen tshn =.
replace tshn=tsh
keep if (tshn>=0.4 & tshn<=5) | tshn==.

*** T3 libre. Criterio de exclusion: T3 libre >4.2 o <2.3, Eliminados 82
gen t3ln =.
```

```
replace t3ln=t3l
keep if (t3ln>=2.3 & t3ln<=4.2) | t3ln==.
```

```
*** T4 libre. Criterio de exclusion: T4 libre >1.76 o <0.89, Eliminados 42
```

```
gen t4ln =.
replace t4ln=t4l
keep if (t4ln>=0.89 & t4ln<=1.76) | t4ln==.
```

```
** Eliminar HTA, Eliminados 32
```

```
drop if pas>=140 & pas!=.
drop if pad>=90 & pad!=.
```

```
** Eliminar más de 59 años, Eliminados 131
```

```
drop if edad>59 & edad!=.
```

```
*** Identificar observaciones con missing de variable dependiente e independiente
```

```
genera miss=0
replace miss=1 if vitb12==. | gc==. | ferritina==. | sexo==.
label define miss 1 "Missing" 0 "Completo"
label value miss miss
tab miss // Observaciones con variable dependiente e independiente principal
completa = 897 observaciones
```

```
***** Crear variables necesarias para el análisis *****
```

```
*** Edad
```

```
gen age=.
replace age=edad
```

```
*** Edad categorizada
```

```
gen agecat=.
replace agecat=0 if age>=18 & age<30
replace agecat=1 if age>=30 & age<59
replace agecat=2 if age>=60 & age!=.
```

```
*** Edad categorizada 2
```

```
gen agecat2=.
replace agecat2=0 if age>=18 & age<30
replace agecat2=1 if age>=30 & age<49
replace agecat2=2 if age>=50 & age!=.
```

```
*** Edad categorizada 3
```

```
gen agecat3=.
replace agecat3=0 if age>=18 & age<30
replace agecat3=1 if age>=30 & age<40
replace agecat3=2 if age>=40 & age<50
```

```

replace agecat3=3 if age>=50 & age!=.

*** Sexo
gen sex=.
replace sex=sexo

*** Sobrepeso
gen sobrepeso =.
replace sobrepeso=1 if imcn>=25 & imcn!=.
replace sobrepeso=0 if imcn<25

*** Ferritina
gen ferritin=.
replace ferritin=ferritina

*** Categoría ferritinas
gen fercat=.
replace fercat=0 if ferritin<15
replace fercat=1 if sexo==0 & ferritin>=15 & ferritin<=150
replace fercat=1 if sexo==1 & ferritin>=15 & ferritin<=200
replace fercat=2 if sexo==0 & ferritin>150 & ferritin!=.
replace fercat=2 if sexo==1 & ferritin>200 & ferritin!=.
bysort fercat: sum ferritin if sexo==0
bysort fercat: sum ferritin if sexo==1

*** Índice HOMA (Calculado con: Glucosa en ayunas*Insulina en ayunas/405)
gen homa=.
replace homa=g0*in0/405 if g0n!=. & in0!=.
*** Insulino resistencia
xtile homater = homa if homa!=. , nq(4)
gen irr=.
replace irr=1 if homater==4
replace irr=0 if homater==1 | homater==2 | homater==3
tab irr homater, m

*** Insulino resistencia 2
gen irr2=.
replace irr2=1 if homa>=2.9 & homa!=.
replace irr2=0 if homa<2.9 & homa!=.
bysort irr2: tabstat homa, s (min max)

*** LDL
gen ldln=.
replace ldln=ldlc
recode ldln (min/99.99=0 "Normal") (100/max=1 "Elevado") if ldln!=., gen(ldlcat)

```

```

*** HDL
gen hdln=.
replace hdln=hdlc
gen hdlcat=.
replace hdlcat=1 if sexo==1 & hdln<=39.99
replace hdlcat=1 if sexo==0 & hdln<=49.99
replace hdlcat=0 if sexo==1 & hdln>=40 & hdln!=.
replace hdlcat=0 if sexo==0 & hdln>=50 & hdln!=.
bysort hdlcat: sum hdln if sexo==0
bysort hdlcat: sum hdln if sexo==1

*** Triglicéridos
gen trig=.
replace trig=triglicéridos
recode trig (min/149.99=0 "Normal") (150/max=1 "Elevado") if trig!=., gen(trigcat)

*** Colesterol
gen colt=.
replace colt=colesterolt
replace colt=. if colt>500 // Missing a 1 valores no plausibles
recode colt (min/199.99=0 "Normal") (200/max=1 "Elevado") if colt!=., gen(coltcat)

*** Terciles de vitamina B12
xtile vitb12ter = vitb12 if vitb12!=. & miss==0, nq(3)
bysort vitb12ter: sum vitb12

*** Nivel bajo de vitamina B12: Tercil más bajo
gen defb12=.
replace defb12=1 if vitb12ter==1
replace defb12=0 if vitb12ter==2 | vitb12ter==3
tab defb12 vitb12ter, m

*** Quintiles de vitamina B12
xtile vitb12q = vitb12 if vitb12!=. & miss==1, nq(5)
bysort vitb12q: sum vitb12

*** Déficit de vitamina B12: <150
gen cutb12=.
replace cutb12=1 if vitb12<150 & vitb12!=.
replace cutb12=0 if vitb12>=150 & vitb12!=.
bysort cutb12: sum vitb12

*** % de grasa corporal elevada
gen gcele=.

```

```
replace gcele=1 if sexo==1 & gc>=25 & gc!=.
replace gcele=1 if sexo==0 & gc>=35 & gc!=.
replace gcele=0 if sexo==1 & gc<25
replace gcele=0 if sexo==0 & gc<35
bysort gcele: sum gc if sexo==0
bysort gcele: sum gc if sexo==1
```

***** Analizados vs excluidos*****

```
bysort miss : tab1 sexo agecat3 trigcat coltcat ldlcat hdlcat fercat sobrepeso irr2 gcele
bysort miss: sum age
```

```
*** Nivel bajo de vitamina B12: Tercil más bajo (Sólo los missing)
xtile vitb12term = vitb12 if vitb12!=. & miss==1, nq(3)
bysort vitb12term: sum vitb12
```

```
gen defb12m=.
replace defb12m=1 if vitb12term==1
replace defb12m=0 if vitb12term==2 | vitb12term==3
tab defb12m vitb12term, m
tab defb12m
```

** Comparación **

```
tabi 705 489\ 89 83, chi2
bysort miss: sum age, d
ranksum age, by(miss)
tabi 285 86\ 86 50, chi2
tabi 207 66\ 138 50, chi2
tabi 137 32\ 205 73, chi2
tabi 248 76\ 115 39, chi2
tabi 123 27\ 587 112\ 84 15, chi2
tabi 405 168\ 389 178, chi2
tabi 578 241\ 175 81, chi2
tabi 532 48\ 262 25, chi2
tabi 280 121\ 514 225, chi2
```

```
** Eliminar miss de GC elevada, Eliminados 227
drop if gc==.
```

```
** Eliminar miss de Vitamina B12, Eliminados 319
drop if vitb12==.
```

```
** Eliminar miss de covariables según DAG, eliminados 27
drop if ferritina==.
```

***** Etiquetado de variables *****

*** Terciles de vitamina B12

label variable vitb12ter "Terciles vitamina B12"

label define vitb12ter 1 "17.06 a 344.2" 2 "344.5 a 524.2" 3 "525 a 2000"

label value vitb12ter vitb12ter

*** Nivel bajo de vitamina B12

label variable defb12 "Nivel de vitamina B12 categorizado"

label define defb12 0 "Normal" 1 "Bajo"

label value defb12 defb12

*** % de grasa corporal elevada

label variable gcele "% Grasa corporal elevada"

label define gcele 0 "Normal" 1 "Elevada"

label value gcele gcele

*** Edad

label variable age "Edad"

*** Edad categorizada

label variable agecat "Edad categorizada"

label define agecat 0 "18 a 29" 1 "30 a 59" 2 "60 a más"

label value agecat agecat

*** Edad categorizada 2

label variable agecat2 "Edad categorizada 2"

label define agecat2 0 "18 a 29" 1 "30 a 49" 2 "50 a 59"

label value agecat2 agecat2

*** Edad categorizada 3

label variable agecat3 "Edad categorizada 3"

label define agecat3 0 "18 a 29" 1 "30 a 39" 2 "40 a 49" 3 "50 a 59"

label value agecat3 agecat3

*** Sexo

label variable sex "Sexo"

label define sex 0 "Femenino" 1 "Masculino"

label value sex sex

*** Ferritina

label variable ferritin "Ferritina sérica"

*** Ferritina Cat

label variable fercat "Ferritina sérica categórica"

```
label define fercat 0 "Deficiencia" 1 "Normal" 2 "Sobrecarga"  
label value fercat fercat
```

```
*** Índice HOMA  
label variable homa "Índice HOMA"  
*** Resistencia a la insulina  
label variable irr "Resistencia a la insulina"  
label define irr 1 "Resistencia" 0 "Normal"  
label value irr irr
```

```
*** Resistencia a la insulina  
label variable irr2 "Resistencia a la insulina 2"  
label define irr2 1 "Resistencia" 0 "Normal"  
label value irr2 irr2
```

```
*** LDL  
label variable ldcat "Colesterol LDL sérico"
```

```
*** HDL  
label variable hdcat "Colesterol HDL sérico"  
label define hdcat 1 "Disminuido" 0 "Normal"  
label value hdcat hdcat
```

```
*** Triglicéridos  
label variable trigcat "Triglicéridos sérico"
```

```
*** Colesterol  
label variable colcat "Colesterol total"
```

```
*** Presión arterial media.  
label variable pam "Presión arterial media"
```

```
***** Tabla 1 *****
```

```
tab sex  
bysort sex: sum age, d
```

```
sum age, d  
histogram age  
qnorm age
```

```
sum trig, d  
histogram trig  
qnorm trig
```

```
sum colt, d
```

histogram colt
qnorm colt

sum hdlc, d
histogram hdlc
qnorm hdlc

sum ldlc, d
histogram ldlc
qnorm ldlc

tab1 fercat sobrepeso irr defb12 gcele
bysort irr: tabstat homa, s(min max)

sum vitb12, d
sum gc, d
bysort defb12: tabstat vitb12, s(min max)

***** Tabla 2 *****

tab sex gcele, row chi2

tabstat age, s(mean median p25 p75 skew k) by(gcele)
histogram age, by(gcele)
qnorm age if gcele==1
qnorm age if gcele==0
ranksum age, by(gcele)

tab agecat3 gcele, row chi2

tab trigcat gcele, chi2 row
tab coltcat gcele, chi2 row
tab ldlcat gcele, chi2 row
tab hdlcat gcele, chi2 row

tab fercat gcele, chi2 row
tab sobrepeso gcele, chi2 row
tab irr2 gcele, chi2 row
tab defb12 gcele, chi2 row

tabstat vitb12, s(mean sd median skew k) by(gcele)
histogram vitb12, by(gcele)
qnorm vitb12 if gcele==1
qnorm vitb12 if gcele==0
ranksum vitb12, by(gcele)
tabstat vitb12, s(median p25 p75) by(gcele)

***** Tabla 3 *****

```
poisson gcele i.defb12, robust irr
poisson gcele i.agecat3, robust irr
poisson gcele i.fercat, robust irr
poisson gcele i.sex, robust irr
poisson gcele i.defb12 i.sex i.agecat3 i.fercat, robust irr
```

***** Análisis de subgrupo e interacción *****

```
ssc install ic
help ic
```

```
poisson gcele i.defb12 i.sex i.agecat3 i.fercat if sobrepeso==0, robust irr
poisson gcele i.defb12 i.sex i.agecat3 i.fercat if sobrepeso==1, robust irr
poisson gcele i.defb12#i.sobrepeso i.agecat3 i.sex i.fercat, robust irr
tab gcele defb12 if sobrepeso==1, col
tab gcele defb12 if sobrepeso==0, col
poisson gcele i.defb12##i.sobrepeso i.agecat3 i.sex i.fercat, robust irr
ic gcele defb12 sobrepeso agecat3 sex fercat, rrby(poisson)
```

```
poisson gcele i.defb12 i.sex i.agecat3 i.fercat if irr2==0, robust irr
poisson gcele i.defb12 i.sex i.agecat3 i.fercat if irr2==1, robust irr
poisson gcele i.defb12#i.irr2 i.agecat3 i.sex i.fercat, robust irr
tab gcele defb12 if irr2==1, col
tab gcele defb12 if irr2==0, col
poisson gcele i.defb12##i.irr2 i.agecat3 i.sex i.fercat, robust irr
ic gcele defb12 irr2 agecat3 sex fercat, rrby(poisson)
```

```
poisson gcele i.defb12 i.agecat3 i.fercat if sex==0, robust irr
poisson gcele i.defb12 i.agecat3 i.fercat if sex==1, robust irr
poisson gcele i.defb12#i.sex i.agecat3 i.fercat, robust irr
tab gcele defb12 if sex==1, col
tab gcele defb12 if sex==0, col
poisson gcele i.defb12##i.sex i.agecat3 i.fercat, robust irr
ic gcele defb12 sex agecat3 fercat, rrby(poisson)
```

***** Análisis de Sensibilidad *****

```
poisson gcele i.cutb12, robust irr
poisson gcele i.cutb12 i.sex i.agecat3 i.fercat, robust irr
```

```
poisson gcele b3.vitb12ter, robust irr
poisson gcele b3.vitb12ter i.sex i.agecat3 i.fercat, robust irr
```

```
regress gc vitb12, robust  
regress gc vitb12 i.sex i.agecat3 i.fercat, robust
```

Anexo 3. Comparación entre muestra de individuos analizados y excluidos por no tener registro de las variables de interés (n=1367)

Características	Sujetos analizados* (n=794) N (%)	Sujetos excluidos* (n=573) N (%)	Valor p
Sexo			0.070
Femenino	705 (88.8)	489 (85.5)	
Masculino	89 (11.2)	83 (14.5)	
Edad (años)**	34 (27 a 41)	36 (28 a 45)	0.001***
Triglicéridos séricos			0.002
Normal	285 (76.8)	86 (56.9)	
Elevado	86 (23.2)	50 (43.1)	
Colesterol total			0.556
Normal	207 (60.0)	66 (56.9)	
Elevado	138 (40.0)	50 (43.1)	
Colesterol LDL			0.077
Normal	137 (40.1)	32 (30.5)	
Elevado	205 (59.9)	73 (69.5)	
Colesterol HDL			0.655
Normal	248 (68.3)	76 (66.1)	
Disminuido	115 (31.7)	39 (33.9)	
Ferritina			0.798
Disminución de reserva de hierro	123 (15.5)	27 (17.5)	
Normal	587 (73.9)	112 (72.7)	
Riesgo de sobrecarga de hierro	84 (10.6)	15 (9.7)	
Sobrepeso			0.446
Peso normal	405 (51.0)	168 (48.6)	
Sobrepeso	389 (49.0)	178 (51.5)	
Resistencia a la insulina			0.500
No	578 (76.8)	241 (74.8)	
Sí	175 (23.2)	81 (25.2)	

Vitamina B12 sérica			0.161
Normal (>344.5 pmol/L)	532 (67.0)	43 (58.9)	
Disminuido (≤344.5 pmol/L)	262 (33.0)	30 (41.1)	

Nivel de grasa corporal total			0.924
Normal	280 (35.3)	121 (35.0)	
Elevada	514 (64.7)	225 (65.0)	

Valor p de prueba de Chi-2; *Algunas variables no suman 573 o 794 observaciones debido a datos perdidos; **Mediana (Rango intercuartílico); ***Prueba U-de Mann Whitney

Anexo 4. Asociación entre nivel de vitamina B12 y grasa corporal elevada, según estado nutricional, resistencia a la insulina y sexo.

Características	Vitamina B12 normal		Vitamina B12 disminuido		RPa (IC 95%) para grasa corporal elevada por cada estrato
	N (%) grasa corporal elevada	RPa (IC 95%)	N (%) grasa corporal elevada	RPa (IC 95%)	
En adultos con peso normal (n=405)	115/288 = 39.9%	Ref.	53/117 = 45.3%	1.14 (0.89 a 1.45)	1.15 (0.90 a 1.47)
En adultos con sobrepeso (n=389)	214/241 = 88.8%	2.31 (1.99 a 2.68)	132/148 = 89.2%	2.32 (2.00 a 2.70)	1.01 (0.95 a 1.09)
En adultos sin resistencia a la insulina (n=578)	228/399 = 57.1%	Ref.	114/179 = 63.7%	1.12 (0.97 a 1.28)	1.13 (0.98 a 1.30)
En adultos con resistencia a la insulina (175)	86/108 = 79.6%	1.40 (1.23 a 1.59)	61/67 = 91.0%	1.61 (1.44 a 1.80)	1.15 (1.01 a 1.30)
En mujeres (n=705)	301/475 = 63.4%	Ref.	161/230 = 70.0%	1.10 (0.99 a 1.23)	1.10 (0.99 a 1.23)
En varones (n=89)	28/54 = 51.9%	0.79 (0.60 a 1.04)	24/35 = 68.6%	1.05 (0.82 a 1.34)	1.28 (0.92 a 1.78)

Vitamina B12 disminuido x Sobrepeso: Razón de RPs (IC95%) = 0.88 (0.69 a 1.14); RERI (IC95%) = -0.12 (-0.44 a 0.20)

Vitamina B12 disminuido x Resistencia a la insulina: Razón de RPs (IC95%) = 1.03 (0.86 a 1.24); RERI (IC95%) = 0.09 (-0.14 a 0.32)

Vitamina B12 disminuido x Varones: Razón de RPs (IC95%) = 1.20 (0.84 a 1.70); RERI (IC95%) = 0.15 (-0.18 a 0.47)

IC 95%: Intervalo de confianza al 95%; RERI: Exceso de RP debido a la interacción; RPa: Razón de prevalencia ajustado por edad, sexo y ferritina