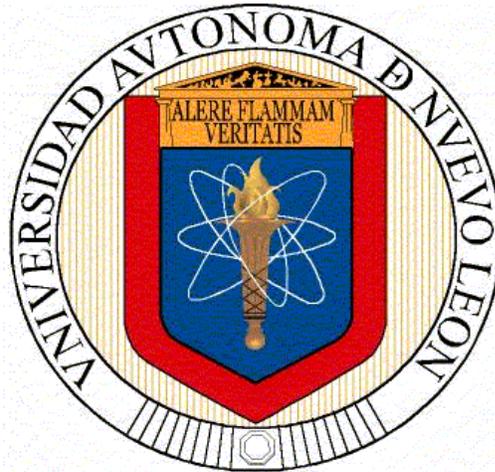


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN**



**“ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS *Bsml*, *TaqI* Y *Apal*  
DEL GEN *VDR* CON LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA Y RIESGO  
A FRACTURAS”**

**PRESENTA:  
NINFA ESTHELA ESCALANTE GARCÍA**

**TESIS  
QUE COMO REQUISITO PRESENTA PARA OBTENER EL  
GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

**MONTERREY, NUEVO LEÓN, NOVIEMBRE 2013**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**



**UANL**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



**“ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS *Bsml*, *TaqI* Y *Apal*  
DEL GEN *VDR* CON LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA Y RIESGO  
A FRACTURAS”**

**TESIS  
QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

**PRESENTA:  
NINFA ESTHELA ESCALANTE GARCÍA**

**MONTERREY, NUEVO LEÓN, NOVIEMBRE 2013**

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente a Dios, por permitirme concluir a buen término una etapa y un trabajo muy importante en mi carrera profesional, por poner a las personas indicadas en mi camino y ser esas personas el vehículo de muchas bendiciones.

A la Universidad Autónoma de Nuevo León por el apoyo de manutención que recibí durante mi formación en la Maestría en Ciencias en Nutrición. Al personal académico y administrativo de la Facultad de Salud Pública y Nutrición, por todo el apoyo y facilidades brindadas.

Gracias al Dr. Zacarías Jiménez Salas por su asesoría, dirección y paciencia en los momentos necesarios y adecuados para la realización de esta tesis. A las personas que me acompañaron en el laboratorio de genética y biología molecular en diferentes momentos: becarios, pasantes, todos amigos y un apoyo importante.

Al Dr. Eduardo Campos Góngora por su guía y consejos oportunos en mi formación académica y personal, por siempre ser amigo.

Al Dr. Erik Ramírez López por su disposición para el desarrollo de la parte experimental de la investigación en el laboratorio de composición corporal.

A mis maestros por su formación integral, a mis compañeras: Debbie, Martha, Jose y Nancy, que compartí y seguiré compartiendo su amistad, fe, conocimiento y perseverancia, gracias por tantos momentos.

## DEDICATORIA

A mi madre Nelly Esthela García Meza, quién me ha dado todo cuanto a estado en sus manos, más siempre queriendo darme todo con el corazón. A ella que es mi ejemplo en conocimiento, fe, tolerancia y perseverancia, a quién le ha costado el triple de esfuerzo que yo haya concluido esta etapa. Muchas gracias Mami hermosa.

A mi familia, Eréndira García Meza y Eliana Esthela Fernández García, gracias por todo el apoyo moral, financiero y afectivo, las amo mucho.

A ti, Esthela García Meza, jamás te iras de mi corazón abuelita.

A mis amigos, Lidia Elena Molina, Cristina Solís y Tania Ruiz, que aunque a veces lejos, o en otras latitudes, siempre están en los momentos más importantes,

A tus padres y a ti, Andrés Espinosa Ascencio, la ayuda idónea que Dios ha destinado para mí, gracias por ser el mejor compañero de vida, por darme tu amor incondicional en cada momento y por tu insistencia en la realización de nuestras metas y sueños, estoy muy orgullosa de ti, te amo mi amor.

## LISTA DE TABLAS

Tablas	Página
I. Factores de riesgo reconocidos para sufrir osteoporosis	6
II. Criterios según la OMS para la interpretación de la DMO	16
III. Indicaciones de la densitometría del Royal College of Physicians, Reino Unido.	16
IV. Factores de riesgo para fracturas utilizados en la herramienta FRAX®.	20
V. Reactivos	27
VI. Secuencia de oligonucleótidos para la amplificación de los fragmentos de estudio.	34
VII. Reactivos para la amplificación por PCR de <i>Bsml</i> , <i>TaqI</i> y <i>Apal</i> .	34
VIII. Condiciones del programa de PCR para amplificar los segmentos de estudio.	35
IX. Condiciones de digestión enzimática para los polimorfismos <i>Bsml</i> , <i>TaqI</i> y <i>Apal</i> del gen <i>VDR</i> .	36
X. Características generales de la población	37
XI. Características generales de la población por grupos pre y posmenopausia. Mediana (25P-75P)	38
XII. Frecuencia de los genotipos y alelos de los polimorfismos analizados	41
XIII. Frecuencia de los genotipos y alelos de los polimorfismos analizados por grupos	42
XIV. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>Bsml</i> en población general.	43
XV. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>Bsml</i> en grupos de pre y posmenopausia.	44
XVI. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>TaqI</i> en población general.	45
XVII. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>TaqI</i> en grupos de pre y posmenopausia.	46
XVIII. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> en población general.	47
XIX. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> en grupos de pre y posmenopausia.	48
XX. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>Bsml</i> en población general. Modelo Dominante.	49
XXI. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>Bsml</i> en grupos de pre y posmenopausia. Modelo Dominante.	50
XXII. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>Bsml</i> en población general. Modelo recesivo.	51
XXIII. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>Bsml</i>	52

	en grupos de pre y posmenopausia. Modelo recesivo.	
XIV.	DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>TaqI</i> en población general. Modelo Dominante.	53
XV.	DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>TaqI</i> en grupos de pre y posmenopausia. Modelo Dominante.	54
XVI.	DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>TaqI</i> en población general. Modelo Recesivo.	55
XVII.	DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>TaqI</i> en grupos de pre y posmenopausia. Modelo recesivo.	56
XVIII.	DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> en población general. Modelo Dominante.	57
XIX.	DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> en grupos de pre y posmenopausia. Modelo Dominante.	58
XX.	DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> en población general. Modelo Recesivo.	59
XXI.	DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> en grupos de pre y posmenopausia. Modelo Recesivo.	60
XXII.	Densidad Mineral Óseas en diversas poblaciones étnicas	62
XXIII.	Comparación de frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos <i>BsmI</i> , <i>Apal</i> y <i>TaqI</i> del gen <i>VDR</i> reportadas en diferentes estudios.	63

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Etapas del climaterio	14
2. Determinantes de la Fractura modificado de: Kanis, 2002.	17
3. Cuestionario FRAX® Tomado de: World Health Organization Collaborating Centre for Metabolic Bone Diseases, University of Sheffield, UK.	18
4. Sitios polimórficos del gen <i>VDR</i> .	23
5. Estrategia general de trabajo para la investigación.	29
6. Determinación del polimorfismo <i>BsmI</i>	39
7. Determinación del polimorfismo <i>TaqI</i>	40
8. Determinación del polimorfismo <i>ApaI</i>	40

## LISTA DE SÍMBOLOS/ABREVIATURAS

<b>Nomenclatura</b>	<b>Significado</b>
cm	Centímetro
CONAPO	Consejo nacional de población de México
DMO	Densidad mineral ósea
DMOt	Densidad mineral ósea cuerpo total
DMOdf	Densidad mineral ósea dual de fémur
DMOc	Densidad mineral ósea columna ap L1-L4
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNTPs	Desorribonucleotidos trifosfato
DXA	Absorciometría dual de rayos X
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
g	Gramos
IMC	Índice de masa corporal
Kg	Kilogramo
L	Litros
MgCl <sub>2</sub>	Cloruro de magnesio
min	minutos
mL	Mililitro
mM	Milimolar
OMS	Organización Mundial de la Salud
pb	Pares de bases
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
pM	Pico Moles
s	segundos
SNPs	Polimorfismos de un solo nucleótidos
VDR	Receptor de vitamina D

μl

μM

WHO

Microlitros

Micromolar

World Health Organization

## TABLA DE CONTENIDO

<b>1. RESUMEN</b> .....	<b>2</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>4</b>
<b>3. HIPÓTESIS</b> .....	<b>9</b>
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	<b>9</b>
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	9
4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO .....	9
<b>5. ANTECEDENTES</b> .....	<b>10</b>
5.1 METABOLISMO ÓSEO.....	10
5.2 MENOPAUSIA Y OSTEOPOROSIS .....	14
5.3 MEDICIÓN DE DMO.....	15
5.4 PROGRAMA FRAX® PARA LA DETERMINACIÓN DE RIESGO A FRACTURAS.....	17
5.5 GENÉTICA DE LA OSTEOPOROSIS .....	21
5.5.1 GEN DEL RECEPTOR DE LA VITAMINA D Y SUS POLIMORFISMOS.....	22
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>27</b>
6.1 MATERIALES .....	27
6.2 MÉTODOS.....	27
6.2.1 <i>Diseño del estudio</i> .....	27
6.2.2 <i>Estrategia general</i> .....	28
6.2.3 OBTENCIÓN DE LA INFORMACIÓN .....	30
6.2.3.1 <i>Densitometría ósea</i> .....	30
6.2.4 <i>Cuestionario de riesgo a fracturas FRAX®</i> .....	31
6.2.5 <i>Determinaciones genéticas</i> .....	32
6.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	36
<b>7. RESULTADOS</b> .....	<b>37</b>
7.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN.....	37
7.2 DETERMINACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS TIPO SNP .....	39
7.3 DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA DE LOS GENOTIPOS Y ALELOS DE LOS POLIMORFISMOS <i>BSM1</i> , <i>TAQ1</i> Y <i>APAI</i> DEL GEN <i>VDR</i> .....	41
<b>8. DISCUSIÓN</b> .....	<b>61</b>
<b>9. CONCLUSIONES</b> .....	<b>67</b>
<b>10. LITERATURA CITADA</b> .....	<b>68</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>74</b>
ANEXO A.....	74
ANEXO B.....	75

## 1. RESUMEN

**Introducción:** La osteoporosis es una de las patologías crónicas no transmisibles de más rápido crecimiento en el mundo y de mayor prevalencia en mujeres adultos mayores. En México la prevalencia de osteopenia es de 34.5% y de osteoporosis alrededor de 18%, del cual el 80% son mujeres. Los factores genéticos juegan un papel importante en la regulación de la densidad mineral ósea (DMO), y uno de los genes involucrados es el gen receptor de la vitamina D (*VDR*), el cuál presenta varios polimorfismos que se han asociado a la osteoporosis, y esto lo han relacionado con la DMO disminuida. **Objetivo:** Determinar la asociación de los polimorfismos *Bsml*, *TaqI* y *Apal* del gen *VDR* con la DMO y el riesgo a fracturas en mujeres. **Métodos:** Se utilizó una muestra representativa de 177 mujeres de 40-81 años. A las participantes se les realizó una evaluación de la DMO por medio del DXA, un cuestionario FRAX®, y se les tomó una muestra de sangre para identificar los polimorfismos *Apal*, *Bsml* y *TaqI* del gen *VDR*, por medio de la técnica PCR-RFLP. Los datos obtenidos se analizaron mediante pruebas no paramétricas Kruskal-Wallis, U de Mann-Whitney y correlación de Spearman. **Resultados:** En población general (n=177), la mediana y los percentiles (25-75) de la DMO<sub>t</sub> fue de 1.084 (1.015-1.150) g/cm<sup>2</sup>, la DMO<sub>df</sub> fue de 0.947 (0.846-1.042) g/cm<sup>2</sup> y la DMO<sub>col</sub> fue de 1.025 (0.926-1.176) g/cm<sup>2</sup>. La distribución de los genotipos de los polimorfismos *Bsml* fue 11, 44 y 45 % (BB, Bb y bb); el polimorfismo *TaqI* presentó 66, 27 y 7% (TT, Tt y tt), y *Apal* 20, 46 y 34 % (AA, Aa y aa), respectivamente. Se encontró diferencias significativas en la población general entre la medición de la DMO y el polimorfismo *Bsml* en un modelo co-dominante; bajo el modelo dominante se observaron diferencias significativas entre las mediciones de la DMO de columna ap L1-L4, columna L1, L2, L3 y L4, con los genotipos BB y Bb-bb. En la población dividida en grupos de pre y posmenopausia, en el grupo de posmenopausia, se encontraron diferencias significativas de la DMO columna ap L1-L4 y columna ap L1. Bajo un modelo recesivo en el grupo de premenopausia se encontraron diferencias significativas entre las mediciones

de la DMO de cuerpo total, columna ap L1-L4, L2, L3 y L4 con los genotipos bb y Bb-BB. **Discusión y Conclusión:** Nuestros resultados indican una asociación entre el polimorfismo *BsmI* del gen *VDR* y la DMO de columna ap L1-L4. Asociándose el genotipo BB con densidades normales y el genotipo bb con densidades menores. Es posible que el polimorfismo *BsmI* del gen *VDR* participe en la fragilidad ósea en mujeres adultas del norte del país. Este es el primer reporte en México que vincula los polimorfismos del gen *VDR* con el riesgo a fracturas generado por la herramienta FRAX® .

## **2. INTRODUCCIÓN**

La osteoporosis es una de las patologías crónicas no transmisibles de más rápido crecimiento en el mundo y de mayor prevalencia en mujeres adultas mayores. En México la prevalencia de osteopenia es de 34.5% y de osteoporosis alrededor de 18%, del cual el 80% son mujeres (De Lago-Acosta, Parada-Tapia, & Somera-Iturbide, 2008).

La osteoporosis es un trastorno esquelético, caracterizado por menor resistencia ósea y que predispone a una persona a mayor riesgo de fracturas debido a una baja densidad mineral ósea (DMO). La fractura es el aspecto clínico más relevante de la enfermedad, ya que constituye una de las principales causas de morbilidad y mortalidad, especialmente en los individuos en riesgo como mujeres en etapa de posmenopausia y adultos mayores.

Es importante conocer los factores de riesgo de la osteoporosis para la identificación temprana de los individuos propensos. La etiopatología está determinada por causas genéticas y causas ambientales. Dentro de la susceptibilidad genética, el gen del receptor de la vitamina D tiene varios sitios polimórficos que se han relacionado con la baja densidad mineral ósea, este receptor se encuentra en tejidos implicados en la homeostasis del calcio y regula la producción de proteínas que intervienen en el metabolismo óseo, por lo tanto se le ha relacionado con la susceptibilidad a padecer osteoporosis (Ralston, 2007).

Identificar y relacionar los factores de riesgo como la densidad mineral ósea, el riesgo de fractura y los genotipos de los polimorfismos en la población serán importantes para identificar una posible interacción y determinar cuáles de estos pueden usarse como marcadores en una etapa preventiva.

La salud del esqueleto debe ser considerada desde la infancia, ya que el crecimiento y la mineralización son dos procesos continuos y simultáneos, que se consolidan en la adolescencia. La prevención del deterioro óseo debe de

iniciarse en las primeras tres décadas de vida, que es cuando se adquiere el pico de masa ósea (PMO = máxima mineralización del hueso al terminar el crecimiento) (Cymet-Ramírez, *et al.*, 2011). Este PMO depende de factores como la ingesta adecuada de calcio principalmente, fósforo, magnesio, zinc y el ejercicio; además, la carga genética también es un factor importante en la génesis del PMO con la formación de colágena y las variaciones alélicas de los receptores de la vitamina D.

Una de las enfermedades ligada al hueso es la osteoporosis que etimológicamente se denomina como “hueso poroso” y esto hace referencia a los cambios en la morfología del hueso, y a los procesos de desmineralización que están implicados en esta enfermedad. La osteoporosis es una enfermedad silenciosa, caracterizada por una baja densidad mineral ósea, con un deterioro en la microarquitectura del hueso, lo que conduce a un mayor riesgo a fractura (Gil, 2010).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) propone una definición para la osteoporosis basada en la densidad mineral ósea (DMO), y la define como los valores de DMO que caen más de 2.5 desviaciones estándar por debajo del promedio de referencia para jóvenes adultos (Muñoz-Torres, Varsavsky, & Pérez, 2010).

Los factores de riesgo de osteoporosis son importantes para la identificación temprana de los individuos propensos. Como ya se mencionó, esta enfermedad es silenciosa y se manifiesta generalmente cuando hay alguna fractura imprevista, de manera similar a lo que ocurre con la hipertensión arterial, que suele manifestarse o hacerse notoria cuando hay un accidente cerebrovascular o cardiovascular.

Hay factores que ya son reconocidos como un riesgo para sufrir osteoporosis y estos son la edad, la genética, los cambios hormonales, el estilo

de vida y la alimentación, las enfermedades asociadas y algunos medicamentos, como se muestra en la Tabla I.

Tabla I. Factores de riesgo reconocidos para sufrir osteoporosis	
1. Edad	Mayores de 50 años
2. Genética	Etnia blanca o asiática, historia familiar de osteoporosis, bajo índice de masa corporal (IMC).
3. Hormonal	Menarca tardía, amenorrea, menopausia prematura.
4. Estilo de vida/Nutrición	Inadecuada ingesta de calcio, tabaquismo, alcoholismo, desórdenes alimentarios.
5. Enfermedades	Hipertiroidismo, hiperparatiroidismo, mala absorción, enfermedad hepática, artritis reumatoide, depresión.
6. Medicamentos	Anticonvulsiantes, glucocorticoides, heparina, quimioterapia.
Tomado de: Kanis, 2002.	

Existen factores genéticos que se han analizado mediante estudios de asociación que pretenden seleccionar genes candidatos (que codifican la síntesis de alguna proteína u hormona relacionada con el metabolismo óseo) e identificar polimorfismos en la estructura de ese gen.

Una vez descubierto un polimorfismo y comprobado que es lo suficientemente prevalente como para ser analizado en una población determinada, se realiza el estudio de asociación con la presencia de la variante alélica en la población de riesgo y se estudia su significación estadística. Así se han realizado la gran mayoría de estudios con genes candidatos como el gen que codifica al receptor de la vitamina D (*VDR*), este juega un papel importante en la resorción ósea y asegura la correcta absorción de calcio en el hueso.

El gen *VDR* presenta varios polimorfismos que se han asociado a la osteoporosis, y esto lo han asociado con la DMO disminuida. En México se han realizado estudios de asociación entre polimorfismos del gen *VDR* y la DMO teniendo resultados controversiales, ya que mientras que un estudio de Jaramillo-Rangel y colaboradores (1999), no se encontró asociación con el polimorfismo *BsmI* del gen *VDR*, en un estudio reciente del 2012 en diferentes grupos étnicos del país, se encontró una asociación entre una DMO baja en Purepechas y el polimorfismo *BsmI* del gen *VDR* (Nuño-Arana, *et al.*, 2012). Es

por ello que es importante incluir además en estos estudios de asociación otros factores no genéticos (Lisker, *et al.*, 2003).

La frecuencia, incidencia y prevalencia de la osteoporosis en México es similar a la mundial; en los estudios que ha realizado la Dra. Patricia Clark desde 1988, se determinó que una de cada 4 personas mayores de 50 años padece osteopenia u osteoporosis. Las tasas anuales de fractura de cadera (la más común con este padecimiento) en los dos principales sistemas de salud pública en México en el 2005, fueron de 169 mujeres y 98 hombres por 10,000 personas/año, esto quiere decir que uno de cada 12 individuos mayor de 50 años tendrá una fractura de cadera. Esto indica que en México es un problema de salud grave que aún no ha sido reconocido apropiadamente, ya que en los sistemas de salud social, no se realizan densitometrías para realizar un diagnóstico más apropiadamente y por lo tanto tal vez las cifras que se reportan están subestimadas (Cymet-Ramírez, *et al.*, 2011).

En México se atraviesa una transición epidemiológica con un aumento en las personas de edad avanzada y un aumento en la esperanza de vida. De acuerdo con datos de la Consejo Nacional de Población (CONAPO), la población de 60 años o más, es en la actualidad 8.5 millones, y este número aumentará según proyecciones a 33.8 millones en el año 2050 (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, 2003-2010).

La esperanza de vida para los mexicanos es aproximadamente de 81.9 años de edad, esto lleva a reflexionar que según las estimaciones, el país podría tener una epidemia de fracturas en un futuro cercano (Clark, 2009).

La osteoporosis representa un alto costo para los sistemas de salud pública, debido a la cantidad de recursos necesarios para los cuidados de los pacientes y la atención en los centros de salud.

Los costos del tratamiento para las fracturas de cadera en México en el 2006 fueron de más de \$ 97 millones de dólares (Clark, y otros, 2008). Esta cantidad representa un importante costo para los sistemas de salud en México, lo que fue equivalente a los gastos de la insulina para los pacientes con diabetes en nuestro país en el mismo año. Además, la prevalencia de fracturas vertebrales, en el 2003, fue de 19.5% en las mujeres y de 9.6% para los hombres, en población 50 años o más (Clark, Deleze, Cons-Molina, & Ragi, 2003). Lo anterior advierte de un problema económico de gran magnitud.

### **3. HIPÓTESIS**

Existe una asociación entre los polimorfismos *Bsml*, *TaqI* y *Apal* del gen que codifica para el receptor de la vitamina D (*VDR*), la DMO y el riesgo a fracturas en mujeres en etapa de pre y posmenopausia.

### **4. OBJETIVOS**

#### **4.1 Objetivo General**

- Determinar la asociación de los polimorfismos *Bsml*, *TaqI* y *Apal* del gen *VDR* con la DMO y el riesgo a fracturas en mujeres.

#### **4.2 Objetivo específico**

- Determinar la DMO mediante la absorciometría dual de rayos X en cuerpo total, dual de fémur y columna vertebral en el grupo de estudio.
- Identificar la frecuencia de los polimorfismos *Bsml*, *TaqI* y *Apal* del gen receptor de la vitamina D en mujeres en el grupo de estudio.
- Determinar el riesgo de fracturas por medio del FRAX® en mujeres en el grupo de estudio.
- Evaluar la asociación de los polimorfismos *Bsml*, *TaqI* y *Apal* del gen receptor de la vitamina D, la DMO y el riesgo de fracturas.

## **5. ANTECEDENTES**

### **5.1 Metabolismo óseo**

El hueso es un tejido conectivo que está formado por una matriz extracelular mineralizada, que le proporciona rigidez, flexibilidad y resistencia; el componente fundamental de la matriz extracelular son los cristales de hidroxiapatita que están compuestos de calcio y fósforo, éstos son la principal reserva de iones que tiene el organismo. Las funciones que brinda el tejido óseo son: protección, soporte, anclaje muscular para la locomoción y homeostática (Barba-Evia, 2011).

El hueso está formado por hueso cortical y trabecular. El hueso cortical o también llamado compacto, está presente en un 85% en los huesos largos de los miembros, éste se observa como una masa sólida, donde las láminas de la matriz extracelular se disponen de manera concéntrica alrededor de unos conductos llamados de Havers, los cuales están formados de tejido nervioso y vasos sanguíneos. El hueso trabecular o también llamado esponjoso, prevalece en un 15% en el esqueleto axial, recibe el nombre de hueso trabecular debido a que está dispuesto en forma de trabéculas creando cavidades ocupadas por la médula ósea. Las superficies de los huesos largos que forman parte de las articulaciones están recubiertas de cartílago articular, mientras que el resto de la superficie se recubre de tejido conjuntivo que está formado de periostio y endostio, que está altamente vascularizado, a través de los cuales los vasos sanguíneos se distribuyen a todo el hueso para llevar a cabo su irrigación y de donde migran las células precursoras óseas requeridas para el remodelado óseo (Pérez-Fernández, 2011).

El hueso es un tejido metabólicamente activo que sufre un proceso continuo de remodelado, cada año se renueva entre un 3.4% del hueso cortical y entre un 25-30% del trabecular, lo que en conjunto en aproximadamente 10 años, hay una renovación total del esqueleto. Este mecanismo de remodelado se realiza por las células de formación que son los osteoblastos, de resorción

osteoclastos, existiendo un balance entre estos dos procesos en condiciones normales, aunque hay factores que alteran este proceso como son los genéticos, mecánicos, vasculares, nutricionales, hormonales y locales (Castelo-Branco, 2009).

Las células que intervienen en el recambio óseo son osteoblastos, osteocitos y osteoclastos principalmente, el mecanismo se basa en un acoplamiento de procesos de formación realizado por los osteoblastos, y otro de resorción encargado por los osteoclastos debiendo de existir en situaciones normales un balance entre estos dos procesos mediante factores que se relacionan.

Partiendo de las células progenitoras mesenquimales pluripotenciales de la médula ósea se diferencian las demás células osteoprogenitoras. Los osteoblastos tienen la función de síntesis, secreción, depósito y orientación de las proteínas que desencadenarán cambios que permiten al componente proteico depresiones en la matriz ósea, las cuales estarán rodeadas de la membrana plasmática, ésta es rica en fosfatasa alcalina y pirofosfatasa, lo que aumenta la concentración de fosfato y calcio, que crean centros de nucleación de las sales que les permite su mineralización. Una vez sucedido este proceso el osteoblasto se prepara para su apoptosis (Cortina & Calderón, 2004).

Posteriormente los osteoblastos que han concluido su función de síntesis de matriz pasan a diferenciarse en osteocitos, registrando la tensión que soporta el hueso circundante, se encargan del envío de señales a células vecinas para iniciar la remodelación ósea, así como de llevar a cabo el proceso de reabsorción de sales de calcio y fosfato depositadas en la fase mineral. Los osteocitos están inmersos en la matriz extracelular, y son las células más abundantes del hueso. Los osteoclastos son células que pertenecen al sistema mononuclear fagocítico, provenientes de la célula de tallo hematopoyética como resultado de su interacción con precursores de los osteoblastos. La principal

función de los osteoclastos es la resorción ósea, la cuál se lleva a cabo por la acción de enzimas ácidas y proteolíticas que disuelven el mineral y digieren la matriz proteica; estas células presentan dos características en su membrana, un borde en cepillo que ejecuta la resorción y una zona rica en microfilamentos que le sirve de anclaje a la matriz, este anclaje permite moverse a la zona para reabsorber y permite la adhesión a la superficie ósea mineralizada (Barba-Evia, 2011).

La función de los osteoclastos esta regulada por una serie de hormonas, citocinas como las IL-1, IL-6 y IL-11, por el TNF- $\alpha$ , el activador del factor ligando nuclear K $\beta$  (RANKL). Los osteoclastos se activan por medio de mensajeros que dan inicio al remodelado óseo, lo que provoca su polarización y una reorganización del citoesqueleto, se forma así un compartimiento denominado laguna de Howship, el cual se acidifica por la secreción de hidrogeniones y posteriormente existe liberación de enzimas líticas con lo cual se termina el proceso (Neyro-Bilbao, Sánchez-Cano, & Gil-Antuño-Palacios, 2011).

Cuando la resorción excede a la formación, es decir cuando hay mayor actividad de los osteoclastos que de las células formadoras (osteoblastos), se produce un debilitamiento de la microestructura ósea, lo cual aumenta el riesgo a fracturas, ya sea por procesos propios del envejecimiento, cambios hormonales, ó algunas patologías, como la osteoporosis, por mencionar una de las más importantes.

El balance de esta resorción-formación ósea está influenciado por varios factores como:

- a) Genéticos. Entre un 60-80% del pico de masa ósea esta determinado genéticamente. Las mujeres de raza blanca y con antecedentes familiares son más susceptibles a presentar osteoporosis (Palma-Lazcano & Contreras-Marín, 2005).

- b) Mecánicos. Intervienen en la acción muscular, los osteocitos producen mediadores como prostaglandinas, óxido nítrico y factor de crecimiento análogo a la insulina tipo I (IGF-I), que estimula su actividad y la de los osteoblastos y origina mayor formación ósea (Fernández-Tresguerres, Hernández-Gil, Alobera-Gracia, Del Canto-Pingarrón, & Blanco-Jerez, 2006).
- c) Vasculonervioso. Las células osteoprogenitoras son derivadas de los vasos sanguíneos, lo cuál constituye el primer paso para la osificación. En este caso la inervación se ha implicado con la osteopenia y la fragilidad ósea en pacientes con algunos desordenes neurológicos (Fernández-Tresguerres, *et al.*, 2006).
- d) Nutricionales. Este factor entra dentro de los modificables, ya que con una ingesta adecuada de calcio, proteínas y vitamina D, se pueden prevenir o tratar con dosis terapéuticas. El consumo adecuado de calcio para la mineralización es de 1500 mg/día aproximadamente en adultos jóvenes, y en mujeres en etapa de perimenopausia mayor de 1500 mg/día; 800 UI de vitamina D y un gramo/kg de peso corporal de proteínas al día como una recomendación general (Cymet-Ramírez, *et al.*, 2011).
- e) Hormonales. Los procesos hormonales son muy importantes en el metabolismo óseo, las hormonas implicadas son: las tiroideas, parathormona, 1,25 (OH)<sub>2</sub> D, calcitonina, calcitrol, andrógenos, estrógenos, progesterona, insulina, glucocorticoides, hormona del crecimiento y leptina, entre las más representativas.
- f) Locales. Entre estos se encuentran los factores de crecimiento como: los factores de crecimiento análogo a la insulina tipo I y II (IGF-I e IGF-II), factores de crecimiento transformantes  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), proteínas morfogenéticas óseas, factor derivado de plaquetas, factor fibroblástico, factor epidérmico, factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos, factor de necrosis tumoral (TNF), citoquinas y proteínas de la matriz ósea (Fernández-Tresguerres, *et al.*, 2006).

## 5.2 Menopausia y osteoporosis

El climaterio es la etapa que abarca la transición de la etapa reproductiva hasta la no reproductiva de la mujer; la menopausia se define como el periodo que atraviesa la mujer cuando su menstruación cesa, normalmente ocurre entre los 45 y 55 años de edad. La menopausia es parte del periodo de climaterio; esta etapa tiene cambios fisiológicos con el decremento de la secreción de estrógenos por una pérdida en la función folicular, este proceso es lento y es acompañado de varias fases, las dos principales se definen según la NAMS (Figura 1):

Premenopausia: periodo reproductivo que antecede a la menopausia.

Posmenopausia: que es el periodo que abarca después de la menopausia, es decir después de la última menstruación en adelante.

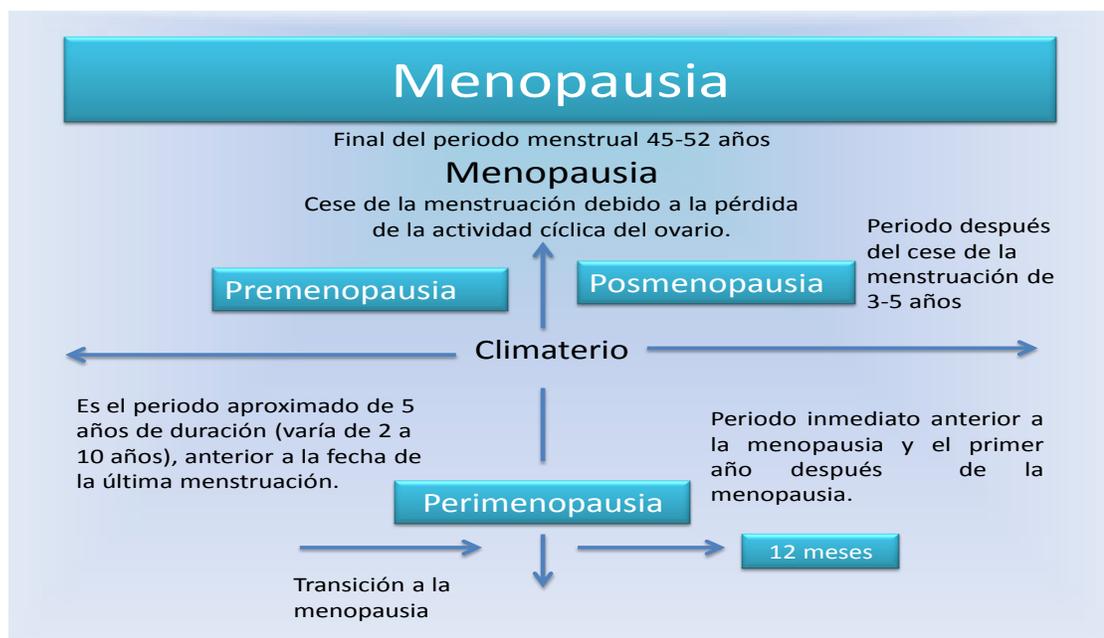


Figura 1. Etapas del climaterio. Menopausia: cese de la menstruación, Premenopausia: periodo anterior a la última menstruación, Perimenopausia: transición a la menopausia se presenta la sintomatología un año anterior y posterior, Posmenopausia: periodo posterior al cese de la menstruación (North American Menopause Society, NAMS, 2007).

La masa ósea en las mujeres en etapa de peri y posmenopausia es determinada por el PMO alcanzado durante el crecimiento y la pérdida de masa ósea a partir de entonces, la patología de la osteoporosis es más frecuente en

mujeres en etapa de posmenopausia y envejecimiento, esto por los procesos hormonales que acontecen en la menopausia.

El cese de la actividad endocrina es progresivo, y se produce una alteración de los niveles hormonales del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. En la etapa de premenopausia se produce una disminución de los niveles de inhibina que es una hormona peptídica que juega un papel importante al final del ciclo ovárico, de ésta disminución resulta un aumento de la hormona folículo estimulante (FSH), con niveles de estradiol (es el estrógeno predominante en los años reproductivos) normales o ligeramente disminuidos (National Institutes of Health, 1994).

Estos cambios dan lugar a un acortamiento de la fase folicular y por lo tanto a ciclos menstruales más cortos, posteriormente se produce un descenso de los niveles de estradiol y una maduración folicular irregular, con ciclos ovulatorios y anaovulatorios. A medida que se avanza se llega a la atresia total de los folículos y es cuando acontece la menopausia. Los niveles de estradiol son bajos y se produce un aumento en la FSH. La reducción de las concentraciones circulantes de estradiol es el factor que influye en la pérdida acelerada de masa ósea y en la elevada actividad reestructuradora que sucede en la menopausia (Recker, Lappe, Davies, & Heaney, 2004).

La pérdida ósea en la columna empieza aproximadamente 1.5 años antes del periodo de la pérdida menstrual y ocurre una incidencia del 3% de pérdida durante los 5 años posteriores, hasta alcanzar cada año el 15%. La masa ósea de la cadera disminuye casi 0.5% anual antes y después de la etapa de menopausia y mantiene una pérdida aumentada de un 5 a un 7% a lo largo de la etapa menopáusica (North American Menopause Society, NAMS, 2007).

### **5.3 Medición de DMO**

Para la medición de la DMO y obtener el diagnóstico de la osteoporosis se utiliza un equipo de absorciometría dual de rayos X (DXA). La medición de los valores T-score de la DMO y los parámetros determinados por la

Organización Mundial de la Salud (OMS) son las herramientas que se utilizan para diagnosticar osteoporosis (Tabla II); el valor de T-score se determina con una ecuación donde la DMO del individuo evaluado menos el valor de la DMO media de un adulto joven del mismo sexo dividido entre la desviación estándar de la población de adultos jóvenes ajustada por género ( $\frac{DMO \text{ Individuo} - DMO \text{ media de adultos jóvenes}}{\text{Desviación estándar}}$ ), dichos valores son arrojados por el DXA, con el que se realiza la densitometría ósea (Binkley, *et al.*, 2005). En la tabla III se especifican las condiciones necesarias realizar una densitometría.

**Tabla II. Criterios según la OMS para la interpretación de la DMO**

Clasificación	Valor de T Desviación Estándar (D.E.)	Densidad mineral ósea (g/cm <sup>2</sup> )
Normal	Mayor de - 1.0	≥ 1.07
Osteopenia	Entre - 1.0 a - 2.5	1.06 - 0.88
Osteoporosis	Menor de - 2.5	≤ 0.87

(World Health Organization, 2003)

**Tabla III. Indicaciones de la densitometría del Royal College of Physicians, Reino Unido.**

Mujeres con: <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Deficiencia estrogénica (menopausia o histerectomía en menores de 35 años, amenorrea secundaria prolongada, hipogonadismo primario).</li> <li>✓ Factores de riesgo de osteoporosis en la menopausia.</li> </ul>
Hombres y mujeres con: <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Posible osteoporosis secundaria</li> <li>✓ Fractura previa de bajo impacto</li> <li>✓ Pérdida de estatura</li> <li>✓ Evidencia radiológica de osteopenia</li> <li>✓ Uso de corticoides (prednisona mayor de 7.5 mg/día durante al menos tres meses.</li> </ul>

(Ibáñez, 2003).

## 5.4 Programa FRAX® para la determinación de riesgo a fracturas

En determinadas circunstancias, en los que existe un elevado recambio óseo, esto implica que la resorción excede a la formación, se produce un debilitamiento y destrucción de la microarquitectura ósea, lo cual conlleva a una disminución de la masa ósea y altera la arquitectura trabecular, originando zonas de debilidad por las cavidades de resorción que aumentan el riesgo a micro y macro fracturas; las situaciones donde se presenta un alto recambio óseo pueden ser fisiológicas como la menopausia y el envejecimiento; o patológicas tal como el hipertiroidismo, hiperparatiroidismo, la toma de ciertos fármacos osteopenizantes como los glucocorticoides, o presentar una inmovilización prolongada (Figura 2) (Kanis, 2002).



Figura 2. Determinantes de la Fractura modificado de: Kanis, 2002.

Se calcula que aproximadamente un 90% de las fracturas de cadera y columna vertebral en mujeres adultos mayores están asociadas a osteoporosis, el hecho que provoca una fractura puede ser desde una caída traumática o un movimiento realizado al ponerse de pie. Las fracturas incrementan la mortalidad en un 25% al año; las fracturas de columna conducen a una mortalidad de un 15 a un 20% mayor, además que afectan la calidad de vida (North American Menopause Society, NAMS, 2007).

La OMS ha diseñado una herramienta para predecir el riesgo de padecer fracturas. Este programa, denominado FRAX®, arroja el dato de la posibilidad de presentar una fractura a 10 años. El FRAX® se basa en modelos

individuales que combinan e integran factores clínicos de riesgo con la DMO del cuello femoral. El programa proporciona la probabilidad de fractura de cadera, clínica vertebral, antebrazo, cadera u hombro). El puntaje obtenido permite determinar una intervención terapéutica adecuada (Lewiecki, 2010).

El cuestionario para generar el riesgo incluyen varios factores como son: la edad (40-90 años), género, peso, estatura, antecedente de fractura previa, uso de tabaco, uso de glucocorticoides, presencia de artritis reumatoide, osteoporosis secundaria, consumo de alcohol en 3 o más dosis, y además la DMO de cuello femoral que es posible registrarla o no, y generar el porcentaje de riesgo a padecer fracturas a 10 años (Figura 4).

Figura 3. Cuestionario FRAX® Tomado de: World Health Organization Collaborating Centre for Metabolic Bone Diseases, University of Sheffield, UK.

En un estudio en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) (se sabe que los pacientes con EII tienen mayor riesgo de osteoporosis/osteopenia) se evaluó la precisión de las puntuaciones del FRAX® para predecir el riesgo a fractura, la conclusión de este estudio fue que la puntuación del FRAX® por sí sólo puede predecir con exactitud el riesgo a fractura osteoporótica y con ellos se reduce la necesidad de utilizar el

diagnostico con DXA y un tratamiento innecesario de osteoporosis (Goodhand, Kamperidis, Nguyen, Wahed, & Rampton, 2011).

En Suiza se realizó un estudio donde concluyeron que el FRAX® puede mejorar la identificación de los pacientes con un mayor riesgo a fracturas y así evitar intervenciones innecesarias (Lippuner, Johansson, Kanis, & Rizzoli, 2010).

Otra evaluación del FRAX® se realizó en España, donde a 1650 mujeres de entre 50-90 años se les realizó el cuestionario, se concluyó que el FRAX® es una herramienta útil para predecir el riesgo a padecer fracturas y reducir en un 50% el número de densitometrías que se realizan en ese país (Azagra-Ledesma, Prieto-Alhambra, Encabo-Duró, Casado-Burgos, Aguyé-Batista, & Díez-Pérez, 2011).

El programa FRAX® contiene un modelo de diferentes países basado en datos epidemiológicos nacionales sobre incidencia de fracturas osteoporóticas y tasas de mortalidad; en el año 2010, México fue incluido para el uso de esta herramienta (Clark, Carlos, & Vázquez-Martínez, 2010). Algunos de los factores de riesgo, a padecer fractura se muestran en la tabla 4.

Un estudio de Cisneros-Dreinhofer & Hernández-Franco en México del 2011 concluyeron con la herramienta FRAX® que la frecuencia de padecer una fractura en los próximos 10 años es ascendente conforme las décadas, y esto se correlaciona directamente con el ciclo de vida óseo. Los resultados mayores de 20% (como se observa en las pacientes mayores de 70 años) son calificaciones que en otras poblaciones indican una intervención farmacológica para disminuir el riesgo de una nueva fractura osteoporótica; es más, esta fractura debe considerarse la primera en terreno mecánicamente comprometido; además, en mujeres mayores de 70 años permite indicar una intervención terapéutica.

Tabla IV. Factores de riesgo para fracturas utilizados en la herramienta FRAX®.

Glucocorticoides	Consumo de corticosteroides actualmente o durante más de tres meses a una dosis equivalente a 5 mg de prednisolona al día o más (o dosis equivalentes de otros corticosteroides).
Osteoporosis secundaria	Trastorno fuertemente asociado a osteoporosis. Ello incluye diabetes tipo I (insulino-dependiente), osteogénesis imperfecta del adulto, hipertiroidismo no tratado durante largo tiempo, hipogonadismo o menopausia prematura (<45 años), malnutrición o malabsorción crónicas o hepatopatía crónica.
Alcohol, 3 o más dosis por día	Tres o más dosis de alcohol por día. Una dosis de alcohol varía ligeramente entre países de 8-10 g de alcohol. Esto equivale a una cerveza (285 ml), una copa de licor (30 ml), una copa de vino de tamaño mediano (120 ml), ó 1 copa de aperitivo (60 ml).
Densidad Mineral Ósea (DMO)	“(DMO) Se selecciona la marca del densitómetro DXA y luego introducir la DMO de cuello de fémur medida en g/cm <sup>2</sup> . Alternativamente se introduce el score T basado en los valores de referencia NHANES III para mujeres. En pacientes sin datos de DMO, se debe dejar el campo vacío.

Modificado de: World Health Organization Collaborating Centre for Metabolic Bone Diseases, University of Sheffield, UK.

## 5.5 Genética de la osteoporosis

Cerca de un 46-62% de la masa ósea esta relacionada con factores genéticos; desde un punto de vista clínico, un mayor conocimiento acerca de la base genética de la osteoporosis es importante para aportar marcadores genéticos con los que se podría predecir el riesgo a padecer la enfermedad y fracturas (Ferrari, 2008).

Parte de estos genes que regulan la osteoporosis son los que intervienen en el metabolismo óseo (osteoblastos y osteoclastos), la estructura y el recambio de colágeno y minerales (calcio y fósforo), y las vías de regulación hormonal.

El factor genético esta ampliamente relacionado con la etiopatogenia de diferentes enfermedades. Estos factores genéticos se utilizan como marcadores de riesgo a una enfermedad, aunque esto puede ser diferente en distintas poblaciones, e inclusive en diferentes etapas de la vida. Estos marcadores son los llamados polimorfismos genéticos (Ferrari, 2008).

Un polimorfismo es una forma alternativa de un gen en una población que se encuentra en al menos el 1% de ésta. Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), se consideran una forma de mutación puntual que ha sido exitosa evolutivamente para fijarse en una parte de la población. No siempre están asociados a patologías, porque se han ido distribuyendo a lo largo de generaciones entre una determinada población (Tolosa de Talamoni, 2007).

Múltiples polimorfismos genéticos han sido asociados con la DMO y/o fracturas, algunos de estos genes más importantes, por mencionar algunos son el gen del receptor de vitamina D (*VDR*), el receptor de estrógenos  $\alpha$  y  $\beta$  (*ESR1* y *ESR2*), colágeno tipo I (*COL1A1*), factor de crecimiento transformante  $\beta$  (*TGF- $\beta$* ), receptor de lipoproteína de baja densidad relacionado con la proteína 5

(*LRP5*). Otros genes como el de interleuquina-6 (*IL6*), metilentetrahidrofolato reductasa (*MTHFR*), y la aromatasa (*CYP19*) han sido más recientemente asociados a la DMO (Ralston, 2007 & Ferrari, 2008).

Algunos de estos estudios han tenido resultados muy controversiales, ya que mientras en algunas poblaciones se ha encontrado asociación, en otras no la tienen, ya que la asociación, al parecer, es dependiente de la etnia o raza de la población de estudio (Ferrari, 2008).

### **5.5.1 Gen del receptor de la vitamina D y sus polimorfismos**

La osteoporosis es una enfermedad multifactorial en la que los factores ambientales son un predisponente muy importante, sin embargo, también hay una carga genética que predispone a padecer esta patología; uno de los genes más estudiados es el del receptor de la vitamina D (gen *VDR*), en el que se ha estudiado la asociación de los polimorfismos de este gen con la osteoporosis.

El *VDR* se encuentra en tejidos que están implicados en la homeostasis de calcio tales como el intestino, paratiroides y el riñón. Se localiza en los osteoblastos, donde la  $1,25\text{ (OH)}_2\text{D}_3$  promueve su diferenciación y regula las proteínas que son importantes en el metabolismo óseo como el colágeno, fosfatasa alcalina y osteocalcina. Estos receptores también se encuentran en epidermis, músculo, páncreas, órganos reproductores y en el sistema hematopoyético (Pérez-Fernández, 2011).

El *VDR* después de unirse con la  $1,25\text{ (OH)}_2\text{D}_3$ , se heterodimeriza con otros receptores, como el receptor X de ácido retinoico (RXR). Este complejo se une a secuencias de DNA, que son elementos de respuesta a vitamina D (VDRE), en las regiones promotoras de los genes que regula. Los heterodímeros *VDR/RXR* que han sido activados, forman complejos con otras proteínas coactivadoras, como la RNA polimerasa II, que da comienzo a la transcripción génica (Rachez & Freedman, 2000).

Se han realizado múltiples estudios en los genes implicados en la homeostasis y estructura del hueso entre los que destacan los genes del receptor de estrógenos, colágeno tipo 1, citoquinas y factores de crecimiento, pero sobre todo del gen de receptor de la vitamina D (*VDR*) (Ralston, 2007).

En el gen *VDR* se han identificado varios polimorfismos que participan en la modificación de procesos celulares en el metabolismo óseo.

Este gen está localizado en el cromosoma 12. En el último intrón se han localizado dos sitios polimórficos, *BsmI* y *ApaI* que crean polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) y en el último exón se ha hallado el sitio polimórfico *TaqI*, en la región promotora se encuentra el sitio polimórfico *Cdx2* (Figura 4).

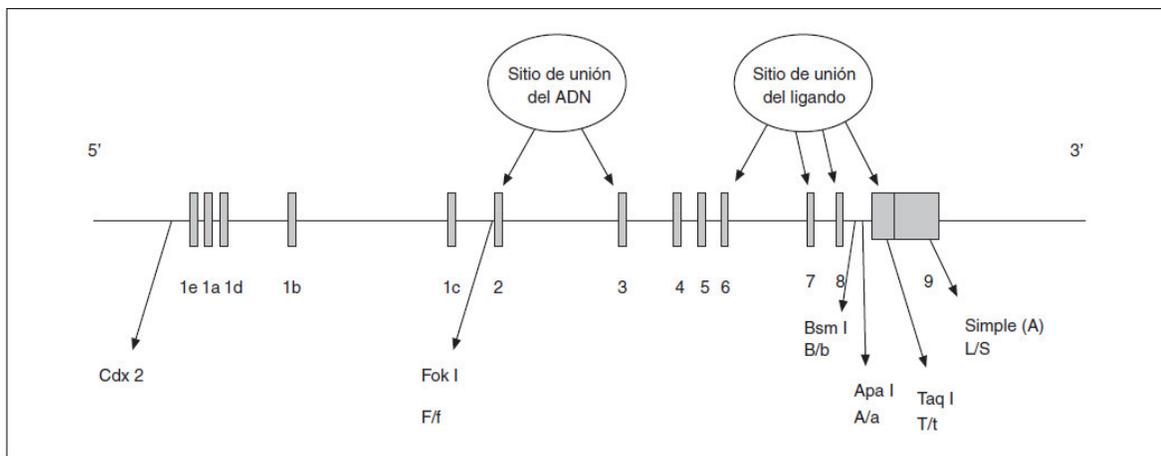


Figura 4. Sitios polimórficos del gen *VDR*. Los rectángulos son los exones y los espacios entre ellos los intrones, las flechas indican la posición de los polimorfismos. Tomado de: Tolosa de Talamoni, 2007

Los estudios que se han realizado con genes candidatos, como el *VDR*, los cuales identifican polimorfismos de un gen en particular y relacionan las variantes alélicas a la DMO o a las fracturas osteoporóticas en poblaciones, han

sido la base de los estudios de asociación en la genética de poblaciones. El objetivo de estos estudios es tener marcadores genéticos que podrían ser usados para el diagnóstico de individuos con riesgo de fracturas osteoporóticas y podría ayudar en la predicción de fracturas complementando los estudios de la DMO (Tolosa de Talamoni, 2007).

El polimorfismo *BsmI*, se encuentra en la zona no codificante del extremo 3', en el exón 8, tiene el cambio de una adenina (A) por una guanina (G), donde los genotipos encontrados serán homocigotos BB, bb, y el heterocigoto Bb. La primera asociación de la DMO y el gen *VDR* fue descrita en 1992, por Morrison y colaboradores. En ese estudio realizado en una población de origen anglosajón, el genotipo homocigoto BB del polimorfismo *BsmI*, fue significativamente mayor en personas con elevados niveles plasmáticos de marcadores de recambio óseo.

Posterior al estudio de Morrison, múltiples trabajos en diferentes poblaciones alrededor del mundo han mostrado resultados contradictorios referentes a la asociación del polimorfismo *BsmI*, y de otros polimorfismos del *VDR* posteriormente descritos, con osteoporosis. En 1999, Gong y colaboradores, realizaron una revisión sistemática del gen *VDR* y la DMO, concluyendo que habría una asociación particularmente en mujeres en etapa de premenopausia, pero que la mezcla genética y los factores no genéticos podrían influir en esta asociación.

En los estudios de asociación entre el polimorfismo *BsmI* del gen *VDR* con la DMO, no siempre es el mismo alelo el que se ha asociado con DMO disminuida, es por esto que es necesario que las poblaciones sigan el equilibrio de Hardy-Weinberg (bajo ciertas condiciones, tras una generación, las frecuencias de los genotipos de un locus individual tendrán un valor de equilibrio particular, es decir, es la noción de una población que se encuentra en equilibrio genético, y es básico en la genética poblacional), y se realice una

relación con factores ambientales o modificables (Inieta, Guinó, & Moreno, 2005).

El polimorfismo *TaqI*, ubicado en el exón 8 del gen *VDR*, tiene un cambio de una citocina (C) por una timina (T), y los genotipos serán homocigotos TT, tt y el heterocigoto Tt. El polimorfismo *TaqI*, genera un cambio en la secuencia de codificación, pero no produce cambio de aminoácido de la proteína codificada, aún así ha podido ser usado como marcador para ser asociado con DMO (Rapuri, Gallagher, Balhorn, & Ryschon, 2001).

En México, en 1999, se realizaron estudios de asociación entre los polimorfismos *TaqI*, *Apal* y *BsmI*, del gen *VDR* con la DMO, los resultados de este estudio en mujeres mayores de 25 años no mostraron una asociación significativa con los polimorfismos analizados (Jaramillo-Rangel *et al.*, 1999).

Hernández-Tobías en el 2011, analizó la asociación de la DMO de 150 estudiantes mexicanas de 19-29 años del estado de Nuevo León y el polimorfismo *TaqI* del gen *VDR*. Como resultado no se encuentra asociación entre el polimorfismo y la DMO.

El polimorfismo *Apal*, al igual que *BsmI*, está ubicado en el intrón 8 del gen *VDR*, tiene un uso potencial como marcador al estar posiblemente asociado a la DMO. Los genotipos serán homocigotos AA, aa y heterocigoto Aa.

Thakkinstian y colaboradores en el 2004 mostraron que la presencia del polimorfismo *Apal*, *BsmI* y *TaqI* del gen *VDR* elevan las expectativas de encontrar una relación con la DMO en una población de personas caucásicas y asiáticas; estos resultados mostrados en haplotipos, muestra una pequeña asociación entre el polimorfismo *BsmI* y la DMO de columna y cuello lumbar (Thakkinstian, D'Este, Eximan, Nguyen, & Attia, 2004).

Colin y colaboradores en el 2003, analizaron el haplotipo *BsmI*, *Apal* y *TaqI* en relación con el incremento del riesgo de padecer una fractura en 634

mujeres; sus resultados indican que estos polimorfismos generan un incremento en el riesgo de padecer fracturas vertebrales secundarias a osteoporosis en mujeres mayores de 55 años (Colin, Uitterlinden, Meurs, Bergink, & Van de Klift, 2003).

Como ya se describió, la heterogeneidad de la población es un factor importante para encontrar asociación de la DMO y los polimorfismos del gen VDR; en un estudio en mujeres en etapa de posmenopausia en Francia, se demostró que los polimorfismos *Bsml*, *Apal* y *TaqI* se asociaron con un mayor riesgo para fractura osteoporótica independientemente de la DMO, niveles plasmáticos hormonales y de los marcadores bioquímicos de recambio óseo (Garnero, Muñoz, Borel, Sornay-Rendu, & Delmas, 2005).

En un estudio del 2008, en la región de Bio Bio en Chile, en población adulta mayor femenina, se analizaron los polimorfismos *Bsml*, *Apal*, *TaqI* y *FokI* del gen de VDR, donde se mostró que la distribución genotípica se asemeja a la de las poblaciones europeas, brasileña y norteamericana de origen hispano. Sin embargo, los genotipos del *VDR* no se asociaron con un mayor riesgo de fractura de cadera en la población adulta mayor (Quevedo, Martinez, Castillo, & Rivera, 2008).

Stathopoulou y colaboradores en el 2011, muestran que los polimorfismos de gen VDR (*Bsml*, *TaqI* y *Cdx2*) tienen un rol significativo en la osteoporosis y el riesgo a padecerla cuando se tiene un bajo consumo de calcio (menor 680 mg/d). Una ingesta alta en calcio es importante para una adecuada salud ósea, en los sujetos con riesgo que tengan los polimorfismos del gen VDR.

El análisis de la relación de la DMO con el gen *VDR* necesita involucrar factores ambientales, ya que podrían ser la clave de prevenir la osteoporosis cuyo origen multifactorial y multigenético ya ha sido aceptado.

## 6. Materiales y Métodos

### 6.1 Materiales

Los reactivos se obtuvieron de las siguientes marcas comerciales (Tabla V):

Tabla V. Reactivos	
Marca comercial	Reactivos
Bio-Rad	Agarosa, Bromuro de etidio, NaCl, SDS, Tris, EDTA.
Bioline	Taq Polimerasa, dNTPs, MgCl <sub>2</sub> , buffer 10X, Marcadores de talla molecular HyperLadder IV y V.
USBiological	Enzima de restricción <i>TaqI</i> .
Promega	Enzima de restricción <i>ApaI</i> .
BioLabs	Enzima de restricción <i>BsmI</i> .
Research organics	Fenol, Tritón X100.
CTR Scientific	Cloroformo, NaOH, Ácido acético glacial.
Bio Basic Inc.	Etanol
Alpha DNA	Oligonucleótidos.

### 6.2 Métodos

#### 6.2.1 Diseño del estudio

Este es un estudio transversal-observacional y correlacional, que se realizó de agosto de 2012 a julio de 2003. La población de estudio fueron mujeres de 40-81 años en población abierta del área metropolitana de Monterrey, Nuevo León, México. El muestreo fue no probabilístico (determinístico), intencional, por conveniencia. En cuanto a los criterios de inclusión fueron mujeres de 40-81 años, aparentemente saludables. Con respecto a los criterios de exclusión se descartaron personas con condiciones como artritis reumatoide, diabetes mellitus tipo 1, hiperparatiroidismo, enfermedades del metabolismo mineral óseo, fibrosis quística, hipogonadismo o menopausia precoz (antes de los 45 años), enfermedad hepática crónica, fármacos con efecto sobre el metabolismo óseo (calcio, vitamina D, antirresortivo, anabolizantes, etc).

La parte experimental de este trabajo se realizó en el Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública (CINSP) de la Facultad de Salud Pública y Nutrición (FaSPyN) de la Universidad Autónoma de Nuevo León (U.A.N.L.) en los siguientes laboratorios: Laboratorio de Genética y Biología Molecular , Laboratorio de Proteómica y Laboratorio de Composición Corporal.

### **6.2.2 Estrategia general**

Se utilizó una muestra representativa de 177 mujeres de 40-81 años, las participantes seleccionadas firmaron su carta de consentimiento informado (anexo A) previo a su participación en el estudio; para lograr los objetivos propuestos se diseñó la estrategia que se presenta en la figura 5. A las participantes se les realizó una evaluación de la DMO por medio del DXA, se les aplicó un cuestionario FRAX®, se tomaron las antropométricas y se les extrajo una muestra de sangre para identificar los polimorfismos *Apal*, *Bsml* y *TaqI* del gen VDR, por medio de la técnica PCR-RFLP.

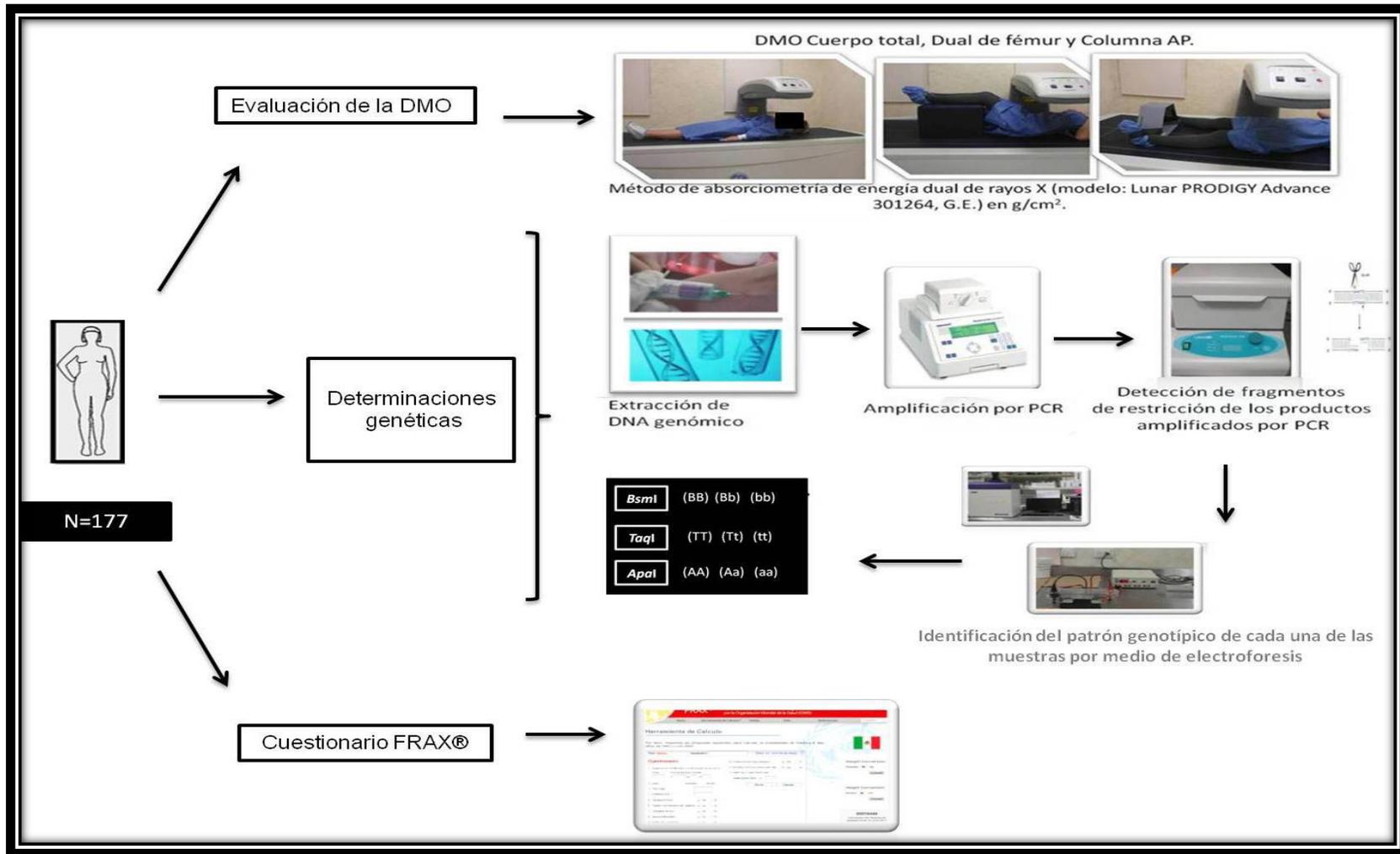


Figura 5. Estrategia general de trabajo para la investigación

## **6.2.3 Obtención de la información**

### **6.2.3.1 Densitometría ósea**

La medición de la DMO se realizó por medio del método de absorciometría de energía dual de rayos X (modelo: Lunar PRODIGY Advance 301264, G.E.) en g/cm<sup>2</sup>. A cada una de las participantes se les realizó tres mediciones de DMO: en cuerpo completo, dual de fémur y columna vertebral bajo las condiciones descritas por el fabricante, que concuerdan con las posiciones oficiales de la sociedad internacional de densitometría clínica (Leib, Lewieck, Binkley, & Hamdy, 2004). Para la realización del DXA las participantes acudieron con un ayuno de al menos 3 horas, ropa ajustada (short y blusa ajustada sin objetos metálicos) y sin joyería. Para la medición de la DMO de cuerpo completo: se coloca a la persona en la plancha viendo al frente a 3 cm de la línea superior marcada en el equipo de absorciometría dual de rayos X, se acomoda de acuerdo a las estipulaciones del fabricante, sujetando piernas y tobillos con cintas ajustables, y se corre el escaneo, en caso de haber algún error en la medición, el propio equipo lo reportaba y se hacía nuevamente la determinación. Al hacer esta medición el DXA proporciona otras medidas como el peso, la talla y porcentaje de grasa corporal, los cuales se tomaron en cuenta para hacer los análisis comparativos de masa ósea y medidas antropométricas.

La determinación de la DMO de dual de fémur se realizó en la misma sesión, se pide a la persona que permanezca acostada viendo hacia arriba con las piernas ligeramente separadas y hacia dentro (usando el aditamento del equipo que brinda soporte a los pies para la correcta posición), las manos a la altura del pecho en forma de cruz; el escáner se coloca a 3 cm de la sínfisis púbica, a la mitad de la pierna, se tomó la medición del fémur izquierdo y derecho de la misma manera.

Finalmente, se realizó la medición de la DMO de columna vertebral anteroposterior L1-L4, en la cual la persona se encuentra acostada viendo hacia arriba, se utiliza un bloque de espuma de apoyo para elevar las piernas del sujeto, asegurarse que los muslos del sujeto formen un ángulo de 60 a 90 grados con la parte superior de la mesa (este paso ayuda a separar las vértebras y aplanar la zona lumbar), las manos deben estar colocadas a la altura del pecho en forma de cruz. Se coloca el escáner 2 cm por debajo del ombligo y se procede a tomar la medición.

#### **6.2.4 Cuestionario de riesgo a fracturas FRAX ®.**

Se realizó el cuestionario de riesgo a fracturas (ANEXO B) a las 177 mujeres, especificando en el software la opción: América Latina, seleccionando México específicamente.

Se procedió a registrar los datos de riesgo a fractura en la página: <http://www.shef.ac.uk/FRAX/tool.aspx?country=24>, de donde se obtuvieron dos riesgos: riesgo a fractura general y riesgo a fractura de cadera.

### **6.2.5 Determinaciones genéticas**

Para la determinación de los polimorfismos del gen VDR se utilizaron los protocolos descritos por Quevedo y colaboradores (2008) para los polimorfismos *BsmI*, *TaqI* y *Apal*, estos protocolos incluyen:

- Obtención del DNA genómico (método buffer de lisis TSNT).
- Amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR).
- Detección de fragmentos de restricción de los productos amplificados por PCR.
- Identificación del patrón genotípico de cada una de las muestras por medio de electroforesis.

#### **6.2.5.1 Extracción de DNA con el método de buffer de lisis TSNT**

A las participantes se les pidió que se presentaran con 10 horas de ayuno y se les realizó una extracción de sangre periférica mediante punción venosa; la sangre se depositó en tubos con anticoagulante EDTA. Para la extracción del DNA se utilizó el método de buffer de lisis TSNT (Sambrook & Russel, 2001). A continuación se describe el protocolo brevemente: en un tubo polipropileno de 1.5 mL se colocaron 300 µl de sangre con 300 µl de buffer de lisis TSNT (Tritón X-100, SDS 1%, 100 mM NaCl, 1mM EDTA, 10 mM Tris-HCl a pH de 8), y se mezcló por inversión, se añadió 200 µl de fenol y 100 µl de cloroformo mezclado por inversión y se agitó en vortex (marca: genie 2, modelo G650 Daigger) por 1 minuto, se añadió 150 µl de buffer TE 1X, y se centrifugó por 11 min a 13,200 rpm en una microcentrifuga (marca: eppendorf, modelo 5415D). Se transfirió el sobrenadante a otro tubo polipropileno y se centrifugó por 6 min a 13,200 rpm, posteriormente se trasvasó el sobrenadante a otro tubo polipropileno y se agregó 1 ml de etanol absoluto y se incubó a -20°C por 20 minutos. Posteriormente se centrifugó por 11 min a 13,200 rpm, se eliminó el sobrenadante por decantación, teniendo cuidado de no tocar la pastilla blanca que se formó en la base del tubo, posterior a esto se lavó el pellet de DNA agregando 500 µl de etanol al 70% y se centrifugó por 6 minutos a 13,200 rpm;

por último, se decantó y eliminó el exceso de etanol por aspiración con micropunta y se dejaron secar los tubos abiertos a temperatura ambiente por 5 min. El DNA obtenido se resuspendió en 100 µl de agua ultra pura y se almacenó a -20°C para su uso a largo plazo.

#### **6.2.5.2 Electroforesis en geles de agarosa**

Para determinar la calidad y cantidad de DNA extraído se utilizaron geles de agarosa al 1%, para el producto amplificado por PCR al 2%, y para la determinación del genotipo en base a los productos de la digestión enzimática fueron al 2.8%.

Los geles para electroforesis se prepararon de la siguiente manera: la agarosa se pesó y se depositó en un matraz, se agregó buffer TAE 1X en las cantidades adecuadas, se calentó en la placa de calentamiento (marca: Corning, Stirrer/hot plate) hasta que el líquido fue homogéneo, se vertió el contenido del matraz en un tubo de polipropileno de 50 mL y se agregó 1µl de bromuro de etidio (10 mg/ml), se mezcló el contenido por inversión, y se vació en el molde al cual se le colocó un peine y se permitió su gelificación.

Cuando el gel estuvo listo se colocó con el molde en una cámara de electroforesis (marca: Bio-rad, modelo minisub cell GT) y se cubrió con buffer TAE 1X. Para estimar la talla molecular del DNA analizado, se utilizaron diferentes marcadores de pares de bases (pb); se colocaron 2 µl del marcador necesario (HyperLadder IV para productos de PCR de 100 a 1000 pb e HyperLadder V para productos digeridos de 25-500 pb) y en los carriles siguientes la cantidad necesaria de DNA genómico (2 µl), producto de PCR (15 µl) o productos de PCR digeridos enzimáticamente (15 µl); la electroforesis se llevó a cabo (en todos los casos) aplicando un voltaje de 20 V durante 5 minutos, seguido de 80 V durante 40 min con una fuente de poder (marca: Bio-Rad, modelo Power pac 300).

### 6.2.5.3 Amplificación del DNA genómico

Para la amplificación por medio de la técnica PCR de los segmentos de los polimorfismos *BsmI*, *TaqI* y *Apal* se utilizó como templado las muestras de DNA obtenidas; los oligonucleótidos usados se muestran en la tabla VI.

**Tabla VI. Secuencia de oligonucleótidos para la amplificación de los fragmentos de estudio.**

SNP	Sentido	Oligonucleótidos (secuencia 5´-3´)	Tamaño (pb)	T <sub>m</sub> (°C)
<i>BsmI</i>	F	CAACCAAGACTACAAGTACCGCGTCAGTGA	825	60
	R	AACCAGCGGAAGAGGTCAAGGG		60
<i>Apal</i> y	F	CAGAGCATGGACAGGGAGCAAG	745	60
<i>TaqI</i>	R	GCAACTCCTCATGGCTGAGGTCTCA		60

Las concentraciones de los reactivos por mezcla de reacción para la amplificación de los segmentos de estudio se muestran en la tabla VII.

**Tabla VII. Reactivos para la amplificación por PCR de *BsmI*, *TaqI* y *Apal*.**

Reactivos	Volumen (µl)	Concentración final
H <sub>2</sub> O Ultrapura	12.5	---
MgCl <sub>2</sub> mM	1	2 mM
Oligo. sentido 10 pm/ µl	0.5	0.2 pm/µl
Oligo. antisentido 10 pm/ µl	0.5	0.2 pm/µl
Buffer PCR 10X	2.5	1X
DNTPs 2.5 mM c/base	2.5	0.25 mM
Taq Polimerasa 1U/ µl	0.5	0.02 U/µl
DNA	5	ND*
Vol. Final	25	

\* No se determinó la concentración de DNA y el volumen pudo variar entre 1 y 5 µl para cada reacción.

Todas las reacciones se llevaron a cabo en un termociclador (Mastercycler Personal, marca Eppendorf) bajo las condiciones descritas en la tabla VIII.

Tabla VIII. Condiciones del programa de PCR para amplificar los segmentos de estudio.				
Pasos	Temperatura (°C)	Tiempo (seg)	Proceso	Ciclos
1	94	300	Desnaturalización inicial	1
2	94	40	Desnaturalización	30
3	60	40	Alineamiento	
4	72	40	Extensión	
6	72	420	Extensión final	1

La correcta amplificación de los productos esperados se verificó por medio de electroforesis en gel de agarosa al 2.0% en buffer TAE 1X.

#### **6.2.5.4 Detección de fragmentos de restricción de los productos amplificados por PCR**

Con los fragmentos amplificados mediante PCR se procedió a tipificar los polimorfismos en base a la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), con las condiciones que se presentan en la tabla IX.

Tabla IX. Condiciones de digestión enzimática para los polimorfismos *BsmI*, *TaqI* y *ApaI* del gen *VDR*.

Reactivos	Volumen (µl)		
	<i>BsmI</i>	<i>TaqI</i>	<i>ApaI</i>
H <sub>2</sub> O mQ	1.4	6.0	1.3
Buffer 10X	1.3l	1.5	1.5l
Enzima	0.3	0.5	0.2
Producto de PCR	12	7	12
Volumen final (vf)	15l	15	15l
Condiciones de incubación	65°C/120/min.	37°C/60/min	37°C/60/min

#### 6.2.5.5 Electroforesis en gel de agarosa

Para la determinación de los genotipos en base a los productos de digestión enzimática, los geles se manejaron a una concentración del 2.8% de agarosa. Todas las electroforesis se llevaron a cabo aplicando un voltaje de 20 V durante los primeros 5 min, seguido de 80 V durante 45-50 min. con una fuente de poder (Power Pac 300; Bio-Rad).

### 6.3 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el software SPSS (versión 15, SPSS, Inc. Chicago Illinois, EE.UU.). Se usaron pruebas no paramétricas para el análisis de las variables, ya que no seguían una distribución normal.

Para determinar la relación entre la DMO y los polimorfismos *BsmI*, *TaqI* y *ApaI* del gen *VDR* por grupos de pre y posmenopausia se utilizaron las pruebas Kruskal-Wallis, U de Mann-Whitney y correlación de Spearman. El estadístico exacto de Fisher se utilizó para comparar el riesgo a fractura, los genotipos de los polimorfismos analizados por grupos de pre y posmenopausia. Los valores de  $P < 0.05$  fueron considerados estadísticamente significativos. Para comprobar el equilibrio entre los genotipos de los polimorfismos estudiados, se realizó la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Características generales de la población

Se evaluaron 177 mujeres de entre 40-81 años, las características encontradas en la población total se muestran en valores de medianas y cuartiles 25-75 (Ver tabla X).

<b>Tabla X. Características generales de la población</b>		
Variables	Total N=177	
	Mediana (25P-75P)	
Edad (años)	57 (51-64)	
Peso (Kg.)	68.800 (62.250-77.170)	
Talla (cm)	156.000 (152.500-1600)	
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	28.100 (25.490-31.950)	
Grasa Corporal (%)	45.600 (40.750-49.500)	
Edad de la menarquia (años)	13 (11-14)	
Número de embarazos (n)	3 (2-4)	
Años de menopausia (años)	8 (1-15)	
Riesgo de fractura (%)	3.6 (2.35-6.0)	
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.300 (0.100-0.980)	
DMOt (g/cm <sup>2</sup> )	1.084 (1.015-1.150)	
DMOdf (g/cm <sup>2</sup> )	0.947 (0.846-1.042)	
DMOdf izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	0.940 (0.840-1.046)	
DMOdf derecho (g/cm <sup>2</sup> )	0.936 (0.848-1.046)	
DMOcol L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.025 (0.926-1.176)	
DMOcol L1 (g/cm <sup>2</sup> )	0.950 (0.863-1.083)	
DMOcol L2 (g/cm <sup>2</sup> )	0.988 (0.883-1.127)	
DMOcol L3 (g/cm <sup>2</sup> )	1.059 (0.939-1.240)	
DMOcol L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.081 (0.962-1.225)	
	Si % (n)	No % (n)
Tabaquismo	9 (15)	91 (162)
Alcoholismo	1 (2)	99 (175)
Actividad Física	48 (85)	52 (92)
Presencia de Menopausia	79 (139)	21 (38)

En la tabla XI se muestran las características generales de la población divididas en dos grupos: premenopausia y posmenopausia, esta clasificación se realizó en base a la North American Menopause Society, que señala a la premenopausia como el periodo reproductivo que antecede a la menopausia y a

la posmenopausia como el periodo que abarca después de la menopausia, es decir, después de la última menstruación en adelante. Como se muestra en la tabla 2 se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en las variables de: edad, peso, talla, IMC, porcentaje de grasa corporal, años de menopausia, riesgo a fractura, riesgo a fractura de cadera, y todas las mediciones de DMO.

<b>Tabla XI. Características generales de la población por grupos pre y posmenopausia. Mediana (25P-75P)</b>					
	Premenopausia N = 38		Posmenopausia N= 139		P
Edad (años)	47 (44.75-49)		59 (55-66)		0.000*
Peso (Kg.)	74.05 (67.02-85.21)		66.9 (62.05-75.10)		0.001*
Talla (cm)	158 (153.75-163)		155.0 (152-160)		0.033*
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	29.6 (27.07-34.3)		27.74 (25.11-31.21)		0.016*
Grasa Corporal (%)	47.55 (43.6-50.52)		44.3 (40.3-49.2)		0.044*
Edad de la menarquia (años)	13 (12-14)		12 (11-14)		0.301
Número de embarazos (n)	3 (2-3.25)		3 (2-4)		0.664
Años de menopausia (años)	0		12 (6-17)		0.000*
Riesgo de fractura (%)	1.7(1.57-2.72)		4.4 (2.8-6.8)		0.000*
Riesgo de fractura de cadera (%)	0 (0-0.1)		0.4 (0.2-1.1)		0.000*
DMOoct (g/cm <sup>2</sup> )	1.182(1.118-1.224)		1.056 (0.999-1.118)		0.000*
DMOdf (g/cm <sup>2</sup> )	1.082 (0.981-1.138)		0.904 (0.831-0.998)		0.000*
DMOdf izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	1.066 (0.988-1.150)		0.913 (0.828-1.001)		0.000*
DMOdf derecho (g/cm <sup>2</sup> )	1.080 (0.967-1.137)		0.900 (0.817-0.995)		0.000*
DMOcol L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.200 (1.113-1.289)		0.982 (0.898-1.077)		0.000*
DMOcol L1 (g/cm <sup>2</sup> )	1.120 (1.018-1.198)		0.926 (0.840-1.030)		0.000*
DMOcol L2 (g/cm <sup>2</sup> )	1.136 (1.067-1.223)		0.949 (0.868-1.049)		0.000*
DMOcol L3 (g/cm <sup>2</sup> )	1.266 (1.148-1.330)		1.024 (0.927-1.136)		0.000*
DMOcol L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.243 (1.159-1.346)		1.048 (0.933-1.162)		0.000*
Tabaquismo	Si % (n)	No % (n)	Si % (n)	No % (n)	0.885
Alcoholismo	0 (0)	100 (38)	1 (2)	137 (99)	1.000
Actividad Física	34 (13)	67 (37)	52 (72)	48 (67)	0.067

Prueba de U de Mann Whitney \*Diferencia significativa.

Prueba exacta de Fisher.

## 7.2 Determinación de los polimorfismos tipo SNP

Para la determinación del polimorfismo *BsmI*, se siguieron las condiciones descritas en la metodología. El producto amplificado fue de 825 pb (se muestra en la figura 6). Los fragmentos esperados por genotipo para el polimorfismo *BsmI* son: el “BB”, con una banda de 825 pb (carril 2), que no posee sitio de restricción y corresponde al fragmento amplificado, el “Bb” (carril 7) con tres bandas de 825, 650 y 175 pb, y por último, el genotipo “bb” (carril 6) en el cual se observaron dos bandas de 650 y 175 pb, respectivamente.

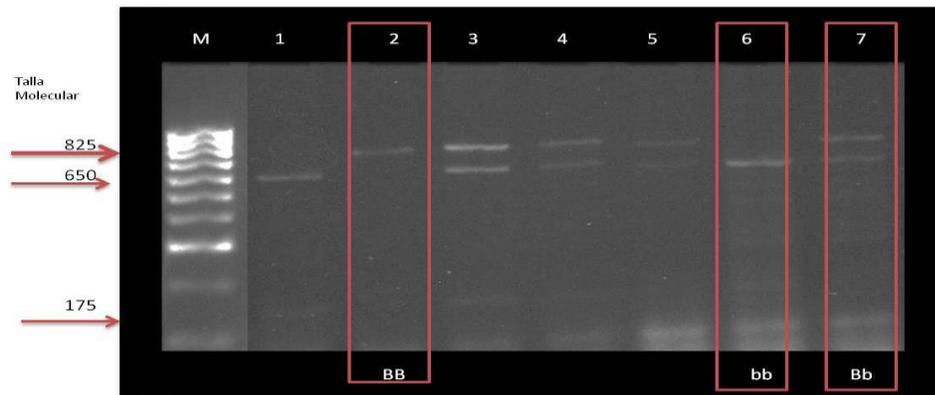


Figura 6. Determinación del polimorfismo *BsmI*. En la figura se muestra los productos de digestión del polimorfismo *BsmI* del gen *VDR* en un gel de agarosa al 2.8%, en el carril M se observa el marcador de 1000 pb. Los carriles 2, 6 y 7 muestran los genotipos “BB”, “bb” y “Bb”, respectivamente.

Para la determinación del polimorfismo *TaqI* se utilizaron las condiciones descritas en la metodología. El fragmento amplificado fue de 475 pb y los fragmentos que se obtuvieron como resultado de la digestión con la enzima que le confiere su nombre se muestran en la figura 7. Los productos obtenidos de este polimorfismo, son el denominado “TT” (carril 14), con dos banda de 494 y 251 pb, el denominado “Tt” (carril 10) con cuatro bandas de 494, 293, 251 y 201 pb, y por último, el genotipo denominado “tt” (carril 13) en el cuál se observaron tres bandas de 293, 251 y 201 pb (figura 7).

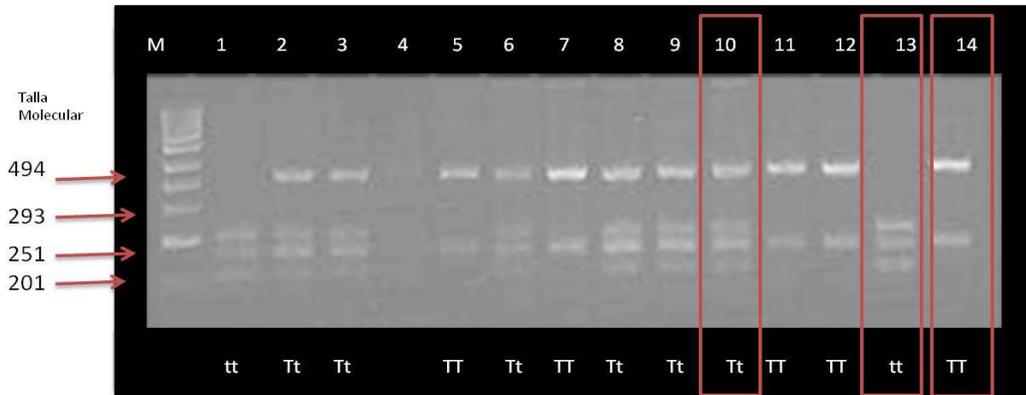


Figura 7. Determinación del polimorfismo *TaqI*. En la figura se muestra los productos de digestión del polimorfismo *TaqI* del gen *VDR* en un gel de agarosa al 2.8%, en el carril M se observan el marcador de 1000 pb. Los carriles 10, 13 y 14 muestran los genotipos Tt, tt, TT, respectivamente.

Para la determinación del polimorfismo *Apal* se utilizaron las condiciones descritas en la metodología. El fragmento amplificado fue de 475 pb y los fragmentos que se obtuvieron como resultado de la digestión con la enzima que le confiere su nombre se muestra en la figura 6. Los productos obtenidos de este polimorfismo, son el denominado “AA” (carril 6), con una banda de 745 pb que no posee sitio de restricción y corresponde al fragmento amplificado, el denominado “Aa” (carril 4) con tres bandas de 745, 528 y 217 pb, y por último, el genotipo denominado “aa” (carril 3) en el cuál se observaron dos bandas de 528 y 217 pb, respectivamente (figura 8).

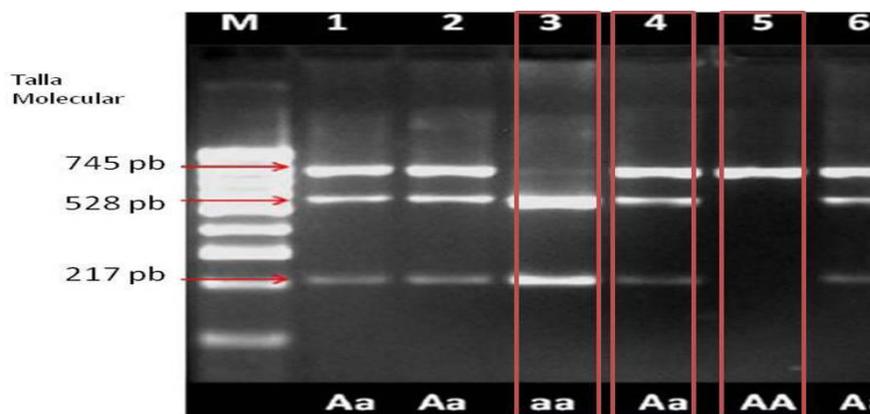


Figura 8. Determinación del polimorfismo *Apal*. En la figura se muestran los productos de digestión del polimorfismos *Apal* del gen *VDR* en un gel de agarosa al 2.8%, en el carril M se observa el marcador de 1000 pb. Los carriles 3, 4 y 5 se muestran los genotipos “aa”, “Aa” y “AA”, respectivamente.

### 7.3 Determinación de la frecuencia de los genotipos y alelos de los polimorfismos *Bsml*, *TaqI* y *Apal* del gen *VDR*.

Para el análisis de los polimorfismos *Bsml* y *TaqI* la determinación se realizó en 162 muestras, mientras que para el polimorfismo *Apal* sólo se determinó en 153 muestras. Lo anterior fue debido a que algunas participantes no tuvieron extracción de sangre y en 9 muestras la cantidad de DNA fue insuficiente.

<b>Tabla XII. Frecuencia de los genotipos y alelos de los polimorfismos analizados</b>				
Genotipo		Frecuencia % (n)	X <sup>2</sup>	P
<i>Bsml</i> (n=162)	BB	11 (18)		
	Bb	44 (71)		
	bb	45 (73)		
Distribución por alelos (%) B = 33 b = 67				
<i>TaqI</i> (n=162)	TT	66 (106)		
	Tt	27 (44)		
	tt	7 (12)		
Distribución por alelos (%) T = 79 t = 21				
<i>Apal</i> (n=153)	AA	20 (30)		
	Aa	46 (71)		
	aa	34 (52)		
Distribución por alelos (%) A = 43 a = 57				

Prueba de X<sup>2</sup> para el equilibrio de Hardy-Weinberg \*p<0.05.

En la tabla XII se muestra la frecuencia de los polimorfismos analizados en la población general. El genotipo más frecuente para el polimorfismo *Bsml* fue bb (45%), mientras que BB (18%) fue el menos frecuente. El alelo con mayor frecuencia fue el b (67%). El genotipo con mayor frecuencia para *TaqI* fue TT (66%) y el menos frecuente el tt (7%). El alelo con mayor frecuencia fue

el T (79%). El genotipo más frecuente en el polimorfismo *Apal* fue el Aa (46%), mientras que el AA (20%) fue el menos frecuente. El alelo con mayor frecuencia fue el a (57%).

<b>Tabla XIII. Frecuencia de los genotipos y alelos de los polimorfismos analizados por grupos</b>					
		Premenopausia	Posmenopausia	X <sup>2</sup>	P
Genotipo		Frecuencia % (n)	Frecuencia % (n)		
<i>BsmI</i> (n=162)	BB	19 (7)	9 (11)		
	Bb	36 (13)	46 (58)		
	bb	44 (16)	45 (57)		
Distribución por alelos (%)		Distribución por alelos (%)			
B= 37 b= 63		B= 35 b= 65			
<i>TaqI</i> (n=162)	TT	73 (24)	64 (82)		
	Tt	24 (8)	28 (36)		
	tt	3 (1)	8 (11)		
Distribución por alelos (%)		Distribución por alelos (%)			
T= 85 t= 15		T= 78 t= 22			
<i>Apal</i> (n=153)	AA	19 (6)	20 (24)		
	Aa	42 (13)	47 (58)		
	aa	39 (12)	33 (40)		
Distribución por alelos (%)		Distribución por alelos (%)			
A= 40 a= 60		A= 43 a= 57			

Prueba de X<sup>2</sup> para el equilibrio de Hardy-Weinberg \*p<0.05.

En la tabla XIII se muestra la frecuencia de los polimorfismos analizados en la población dividida en grupos de premenopausia y posmenopausia. Los valores expresados en porcentaje para los genotipos BB, Bb y bb del polimorfismo *BsmI* fueron de 19, 36 y 44 en el grupo de premenopausia y 9, 46 y 45 en el grupo de posmenopausia, en ambos grupos el alelo con mayor prevalencia fue el b. Los valores expresados en porcentaje para los genotipos TT, Tt y tt del polimorfismo *TaqI* fueron de 73, 24 y 3 en el grupo de premenopausia y 64, 28 y 8 en el grupo de posmenopausia, el alelo más frecuente fue el T para ambos grupos. Para el polimorfismo *Apal*, la frecuencia de los genotipos AA, Aa y aa fueron 19, 42 y 39 en el grupo de premenopausia y 20, 47 y 33 en el grupo de posmenopausia, el alelo con mayor frecuencia fue el a, en ambos grupos.

Para comprobar el equilibrio de las frecuencias genotípicas y alélicas en la población, se realizó la prueba de Hardy Weinberg, la distribución de los porcentajes de los genotipos de la muestra cumplió con el equilibrio en los polimorfismos *Bsml*, *TaqI* y *Apal*

<b>Tabla XIV. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>Bsml</i> en población general.</b>					
Total n= 162	BB (n=18) Mediana (25-75)	Bb (n=73) Mediana (25-75)	bb (n=71) Mediana (25-75)	R	P
DMO cuerpo total (g/cm <sup>2</sup> )	1.125 (1.050-1.163)	1.065 (1.001-1.16)	1.087 (1.005-1.157)	-0.067	0.394
DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	0.985 (0.892-1.059)	0.964 (0.843-1.047)	0.937 (0.839-1.044)	-0.051	0.519
DMO dual de fémur izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	0.990 (0.897-1.039)	0.956 (0.835-1.065)	0.927 (0.835-1.044)	-0.044	0.574
DMO dual de fémur derecho (g/cm <sup>2</sup> )	0.971 (0.893-1.066)	0.950 (0.843-1.050)	0.914 (0.836-1.041)	-0.063	0.428
DMO columna ap L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.156 (1.010-1.252)	1.015 (0.909-1.185)	1.022 (0.919-1.133)	-0.131	0.096
<b>DMO columna ap L1 (g/cm<sup>2</sup>)</b>	<b>1.096 (0.934-1.207)</b>	<b>0.972 (0.852-1.101)</b>	<b>0.936 (0.857-1.032)</b>	<b>-0.180</b>	<b>0.022*</b>
DMO columna ap L2 (g/cm <sup>2</sup> )	1.116 (0.947-1.222)	0.989 (0.878-1.136)	0.977 (0.880-1.097)	-0.134	0.089
DMO columna ap L3 (g/cm <sup>2</sup> )	1.208 (1.020-1.322)	1.045 (0.922-1.246)	1.061 (0.963-1.184)	-0.077	0.328
DMO columna ap L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.190 (1.081-1.263)	1.062 (0.953-1.232)	1.061 (0.925-1.179)	-0.128	0.105
Riesgo a fractura de cadera (%)	2.550 (2.400-3.500)	3.800 (2.400-6.700)	3.400 (2.300-6.700)	0.084	0.285
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.100 (0.100-0.425)	0.300 (0.100-1.100)	0.300 (0.100-0.980)	0.077	0.331

Correlaciones de Spearman \*p<0.05

En la Tabla XIV se muestran los valores de la mediana y los cuartiles (25-75) de las mediciones de DMO según los genotipos del polimorfismo *Bsml*, estos valores se compararon mediante una prueba estadística de correlación de Spearman. Se observó una diferencia significativa entre los genotipos y la DMO de columna ap de la lumbar 1, con una r=-0.180 y una p=0.022.

**Tabla XV. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo *Bsml* en grupos de pre y posmenopausia.**

Total n=162	Premenopausia (n=36)					Posmenopausia (n=126)				
	BB (n=7) Mediana (25-75)	Bb (n=13) Mediana (25-75)	bb (n=16) Mediana (25-75)	R	P	BB (n=11) Mediana (25-75)	Bb (n=58) Mediana (25-75)	bb (n=57) Mediana (25-75)	R	P
DMO cuerpo total (g/cm <sup>2</sup> )	1.154 (1.125-1.211)	1.213 (1.155-1.253)	1.130 (1.087-1.192)	-0.248	0.144	1.086 (0.995-1.140)	1.052 (0.988-1.124)	1.049 (0.997-1.118)	0.004	0.961
DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	1.021 (0.945-1.115)	1.126 (1.008-1.148)	1.049 (0.985-1.116)	-0.018	0.915	0.973 (0.873-1.034)	0.8910 (0.829-0.987)	0.902 (0.822-1.0155)	-0.043	0.633
DMO dual de fémur izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	1.020 (0.966-1.116)	1.089 (1.008-1.156)	1.055 (1.004-1.106)	0.010	0.953	0.982 (0.895-1.025)	0.906 (0.825-0.999)	0.914 (0.826-1.014)	-0.042	0.641
DMO dual de fémur derecho (g/cm <sup>2</sup> )	1.027 (0.923-1.115)	1.128 (1.021-1.153)	1.058 (0.967-1.110)	-0.046	0.792	0.965 (0.85-1.043)	0.896 (0.815-0.990)	0.890 (0.819-1.007)	-0.044	0.622
DMO columna ap L1- L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.215 (1.135-1.290)	1.268 (1.185-1.341)	1.127 (1.039-1.210)	-0.324	0.054	1.1 (0.944-1.245)	0.9780 (0.89-1.07)	0.979 (0.896-1.071)	-0.069	0.441
DMO columna ap L1 (g/cm <sup>2</sup> )	1.131 (1.073-1.234)	1.144 (1.039-1.228)	1.032 (0.938-1.143)	-0.294	0.082	0.950 (0.921-1.199)	0.921 (0.832-1.05)	0.920 (0.84-0.998)	-0.127	0.156
DMO columna ap L2 (g/cm <sup>2</sup> )	1.211 (1.111-1.230)	1.230 (1.131-1.300)	1.097 (0.998-1.173)	-0.304	0.071	1.005 (0.924-1.198)	0.952 (0.829-1.036)	0.949 (0.866-1.018)	-0.081	0.370
DMO columna ap L3 (g/cm <sup>2</sup> )	1.259 (1.200-1.371)	1.315 (1.246-1.436)	1.178 (1.124-1.288)	-0.292	0.084	1.151 (0.976-1.325)	1.003 (0.893-1.103)	1.024 (0.929-1.138)	-0.007	0.941
DMO columna ap L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.223 (1.132-1.278)	1.343 (1.301-1.405)	1.182 (1.068-1.262)	-0.261	0.125	1.129 (0.965-1.236)	1.026 (0.928-1.132)	1.035 (0.918-1.136)	-0.062	0.490
Riesgo a fractura de cadera (%)	2.000 (1.700-3.200)	1.700 (1.550-2.950)	1.750 (1.300-2.770)	-0.081	0.637	3.600 (2.500-4.500)	4.450 (2.670-7.450)	4.500 (3.00-6.950)	0.097	0.280
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.100 (0.000-0.100)	0.000 (0.000-0.100)	0.000 (0.000-0.100)	-0.089	0.606	0.200 (0.100-0.800)	0.450 (0.175-1.325)	0.400 (0.150-1.200)	0.072	0.425

Correlaciones de Spearman \*p<0.050

En la tabla XV se puede observar que al analizar las mediciones de la DMO en los grupos de premenopausia y posmenopausia según los genotipos de *Bsml*, no se encontraron diferencias significativas en ninguna de las mediciones de la DMO y los genotipos en los grupos de premenopausia y posmenopausia.

<b>Tabla XVI. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>TaqI</i> en población general.</b>					
Total n=162	TT (n=106) Mediana (25-75)	Tt (n=44) Mediana (25-75)	tt (n=12) Mediana (25-75)	R	P
DMO cuerpo total (g/cm <sup>2</sup> )	1.088 (1.013-1.170)	1.064 (1.005-1.144)	1.038 (0.997-1.109)	-0.099	0.212
DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	0.970 (0.856-1.047)	0.9050 (0.820-1.052)	0.896 (0.840-0.980)	-0.133	0.092
DMO dual de fémur izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	0.971 (0.844-1.058)	0.923 (0.817-1.048)	0.896 (0.836-0.996)	-0.138	0.079
DMO dual de fémur derecho (g/cm <sup>2</sup> )	0.963 (0.868-1.048)	0.906 (0.820-1.061)	0.900 (0.825-0.964)	-0.125	0.113
DMO columna ap L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.025 (0.910-1.152)	1.024 (0.943-1.205)	0.965 (0.933-1.163)	0.035	0.662
DMO columna ap L1 (g/cm <sup>2</sup> )	0.935 (0.860-1.055)	0.992 (0.842-1.095)	0.931 (0.897-1.103)	0.038	0.633
DMO columna ap L2 (g/cm <sup>2</sup> )	0.979 (0.878-1.111)	0.996 (0.879-1.198)	0.974 (0.911-1.115)	0.045	0.566
DMO columna ap L3 (g/cm <sup>2</sup> )	1.060 (0.930-1.192)	1.069 (0.951-1.255)	0.994 (0.944-1.231)	0.023	0.770
DMO columna ap L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.085 (0.947-1.218)	1.081 (0.970-1.252)	1.020 (0.966-1.194)	-0.003	0.970
Riesgo a fractura de cadera (%)	3.300 (2.300-5.520)	4.450 (2.350-6.975)	3.950 (2.520-5.650)	0.093	0.240
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.200 (0.100-0.700)	0.350 (0.100-1.100)	0.300 (0.125-0.475)	0.078	0.327

Correlaciones de Spearman \*p<0.050

En la Tabla XVI y XVII se muestran los valores de la mediana y los cuartiles (25-75) de las mediciones de DMO según los genotipos del polimorfismo *TaqI* en la población general y dividida en grupos, de pre y posmenopausia, respectivamente. Estos valores se compararon mediante una prueba estadística de correlación de Spearman. No se observó una diferencia significativa entre los genotipos y la DMO, en la población general y por grupos.

**Tabla XVII. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo *TaqI* en grupos de pre y posmenopausia.**

Total n= 162	Premenopausia (n=33)					Posmenopausia (n=129)				
	TT (n=24) Mediana (25-75)	Tt (n=8) Mediana (25-75)	tt (n=1) Mediana (25-75)	R	P	TT (n=82) Mediana (25-75)	Tt (n=36) Mediana (25-75)	tt (n=11) Mediana (25-75)	R	P
DMO cuerpo total (g/cm <sup>2</sup> )	1.134 (1.088-1.220)	1.121 (1.158-1.236)	1.182 (1.182-1.182)	0.273	0.124	1.076 (0.997-1.141)	1.048 (0.992-1.121)	1.028 (0.995-1.084)	-0.117	0.187
DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	1.049 (0.967-1.135)	1.096 (1.035-1.143)	1.021 (1.021-1.021)	0.127	0.480	0.933 (0.837-1.022)	0.887 (0.800-1.001)	0.894 (0.840-0.942)	-0.158	0.074
DMO dual de fémur izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	1.055 (0.969-1.115)	1.081 (1.028-1.142)	1.020 (1.020-1.020)	0.122	0.498	0.918 (0.834-1.029)	0.893 (0.798-0.995)	0.895 (0.828-0.956)	-0.158	0.075
DMO dual de fémur derecho (g/cm <sup>2</sup> )	1.059 (0.962-1.137)	1.108 (1.043-1.1140)	1.021 (1.021-1.021)	0.163	0.364	0.924 (0.836-1.005)	0.869 (0.811-1.004)	0.899 (0.817-0.929)	-0.156	0.077
DMO columna ap L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.169 (1.039-1.268)	1.252 (1.170-1.320)	1.215 (1.215-1.215)	0.260	0.144	0.980 (0.891-1.074)	1.004 (0.913-1.092)	0.954 (0.930-1.123)	0.049	0.581
DMO columna ap L1 (g/cm <sup>2</sup> )	1.044 (0.938-1.174)	1.153 (1.084-1.198)	1.131 (1.131-1.131)	0.253	0.155	0.924 (0.840-1.009)	0.940 (0.813-1.044)	0.921 (0.894-1.052)	0.042	0.639
DMO columna ap L2 (g/cm <sup>2</sup> )	1.127 (1.018-1.224)	1.231 (1.136-1.285)	1.211 (1.211-1.211)	0.285	0.108	0.949 (0.847-1.027)	0.952 (0.843-1.043)	0.950 (0.909-1.096)	0.067	0.453
DMO columna ap L3 (g/cm <sup>2</sup> )	1.212 (1.124-1.328)	1.308 (1.223-1.405)	1.309 (1.309-1.309)	0.273	0.125	1.020 (0.908-1.134)	1.042 (0.941-1.176)	0.990 (0.934-1.151)	0.028	0.754
DMO columna ap L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.211 (1.090-1.351)	1.301 (1.213-1.382)	1.199 (1.199-1.199)	0.176	0.327	1.060 (0.922-1.146)	1.031 (0.949-1.165)	1.000 (0.965-1.182)	0.005	0.952
Riesgo a fractura de cadera (%)	1.700 (1.500-3.170)	1.700 (1.625-2.675)	3.200 (3.200-3.200)	0.118	0.513	3.900 (2.700-6.725)	4.800 (3.020-8.000)	4.300 (2.500-5.800)	0.051	0.565
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.000 (0.000-0.100)	0.050 (0.00-0.100)	0.100 (0.100-0.100)	0.091	0.616	0.350 (0.100-1.200)	0.700 (0.200-1.800)	0.300 (0.200-0.500)	0.043	0.627

Correlaciones de Spearman \*p<0.050

En las tablas XVIII y XIV se muestran los valores de la mediana y los cuartiles (25-75) de las mediciones de DMO según los genotipos del polimorfismo *Apal*, en la población general y por grupos de pre y posmenopausia, respectivamente, estos valores se compararon mediante una prueba estadística de correlación de Spearman. No se encontraron diferencias significativas en ambos análisis.

<b>Tabla XVIII. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> en población general.</b>					
Total n=153	AA (n=30) Mediana (25-75)	Aa (n=71) Mediana (25-75)	aa (n=52) Mediana (25-75)	R	P
DMO cuerpo total (g/cm <sup>2</sup> )	1.070 (0.993-1.151)	1.087 (1.015-1.14)	1.082 (0.999-1.167)	0.009	0.915
DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	0.908 (0.841-1.043)	0.945 (0.852-1.051)	0.971 (0.834-1.035)	0.043	0.594
DMO dual de fémur izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	0.914 (0.852- 1.038)	0.934 (0.835-1.056)	0.970 (0.837-1.044)	0.065	0.425
DMO dual de fémur derecho (g/cm <sup>2</sup> )	0.904 (0.832- 1.041)	0.936 (0.843-1.054)	0.964 (0.824-1.025)	0.036	0.660
DMO columna ap L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.019 (0.897-1.145)	1.031 (0.924-1.230)	0.988 (0.909-1.113)	-0.043	0.599
DMO columna ap L1 (g/cm <sup>2</sup> )	0.947 (0.861-1.123)	0.972 (0.865-1.104)	0.917 (0.842-1.030)	-0.130	0.109
DMO columna ap L2 (g/cm <sup>2</sup> )	0.9435 (0.877-1.113)	1.005 (0.879-1.137)	0.956 (0.883-1.080)	-0.027	0.745
DMO columna ap L3 (g/cm <sup>2</sup> )	1.024 (0.925-1.197)	1.059 (0.940-1.274)	1.038 (0.930-1.157)	-0.004	0.961
DMO columna ap L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.061 (0.959-1.186)	1.089 (0.933-1.263)	1.058 (0.945-1.172)	-0.030	0.715
Riesgo a fractura de cadera (%)	3.550 (2.175-5.350)	3.900 (2.500-6.800)	3.400 (2.300-6.650)	0.028	0.731
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.250 (0.100-0.525)	0.300 (0.100-1.200)	0.250 (0.100-1.000)	0.010	0.901

Correlaciones de Spearman \*p<0.050

**Tabla XIX. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo *Apal* en grupos de pre y posmenopausia.**

Total n=153	Premenopausia (n=31)					Posmenopausia (n=122)				
	AA (n=6) Mediana (25-75)	Aa (n=13) Mediana (25-75)	aa (n=12) Mediana (25-75)	R	P	AA (n=24) Mediana (25-75)	Aa (n=58) Mediana (25-75)	aa (n=40) Mediana (25-75)	R	P
DMO cuerpo total (g/cm <sup>2</sup> )	1.189 (1.146-1.229)	1.211 (1.119-1.234)	1.136 (1.088-1.24)	-0.222	0.229	1.039 (0.985-1.118)	1.064 (1.001-1.122)	1.048 (0.989-1.139)	0.021	0.823
DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	1.058 (1.002-1.133)	1.092 (1.015-1.141)	1.015 (0.945-1.117)	-0.168	0.367	0.885 (0.826-0.980)	0.900 (0.819-1.012)	0.955 (0.828-1.019)	0.085	0.349
DMO dual de fémur izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	1.036 (1.005-1.124)	1.083 (1.019-1.129)	1.012 (0.958-1.105)	-0.143	0.442	0.890 (0.809-0.996)	0.901 (0.812-1.001)	0.922 (0.834-1.038)	0.109	0.231
DMO dual de fémur derecho (g/cm <sup>2</sup> )	1.082 (0.996-1.143)	1.086 (1.020-1.141)	1.024 (0.933-1.130)	-0.171	0.359	0.883 (0.814-0.964)	0.899 (0.816-1.007)	0.927 (0.814-0.998)	0.079	0.388
DMO columna ap L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.218 (1.108-1.310)	1.245 (1.136-1.308)	1.127 (0.978-1.288)	-0.211	0.253	0.965 (0.893-1.095)	0.996 (0.892-1.082)	0.976 (0.897-1.060)	-0.033	0.718
DMO columna ap L1 (g/cm <sup>2</sup> )	1.165 (1.041-1.232)	1.141 (1.032-1.191)	1.044 (0.904-1.213)	-0.256	0.165	0.930 (0.856-1.070)	0.933 (0.848-1.036)	0.901 (0.837-0.998)	-0.128	0.161
DMO columna ap L2 (g/cm <sup>2</sup> )	1.169 (1.077-1.277)	1.182 (1.070-1.280)	1.106 (0.946-1.287)	-0.127	0.497	0.921 (0.855-1.046)	0.983 (0.829-1.056)	0.925 (0.873-1.013)	-0.015	0.869
DMO columna ap L3 (g/cm <sup>2</sup> )	1.284 (1.192-1.350)	1.274 (1.184-1.383)	1.166 (1.009-1.339)	-0.236	0.201	0.994 (0.911-1.118)	1.033 (0.933-1.164)	1.017 (0.904-1.135)	0.037	0.685
DMO columna ap L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.211 (1.114-1.331)	1.330 (1.191-1.386)	1.186 (1.068-1.316)	-0.142	0.448	1.017 (0.937-1.127)	1.057 (0.913-1.171)	1.021 (0.903-1.129)	-0.029	0.754
Riesgo a fractura de cadera (%)	1.700 (1.625-2.175)	1.700 (1.600-2.700)	1.900 (1.275-3.375)	0.054	0.774	4.400 (2.825-6.025)	4.550 (2.775-7.400)	4.550 (2.825-7.800)	0.028	0.761
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.050 (0.000-0.100)	0.000 (0.000-0.100)	0.100 (0.000-0.100)	0.158	0.395	0.300 (0.125-0.975)	0.600 (0.200-1.500)	0.500 (0.100-1.175)	0.018	0.843

Correlación de Spearman \*p<0.050

**Tabla XX. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo *Bsml* en población general. Modelo Dominante**

Total n= 162	BB (n=18) Mediana (25-75)	Bb-bb (n=144) Mediana (25-75)	R	P
DMO cuerpo total (g/cm <sup>2</sup> )	1.125 (1.050-1.163)	1.076 (1.001-1.157)	-0.112	0.156
DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	0.985 (0.892-1.059)	0.947 (0.840-1.046)	-0.064	0.420
DMO dual de fémur izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	0.990 (0.897-1.039)	0.940 (0.835-1.054)	-0.060	0.449
DMO dual de fémur derecho (g/cm <sup>2</sup> )	0.971 (0.893-1.066)	0.931 (0.838-1.048)	-0.070	0.379
<b>DMO columna ap L1- L4 (g/cm<sup>2</sup>)</b>	<b>1.156 (1.010-1.252)</b>	<b>1.01 (0.914-1.152)</b>	<b>-0.196</b>	<b>0.012*</b>
<b>DMO columna ap L1 (g/cm<sup>2</sup>)</b>	<b>1.096 (0.934-1.207)</b>	<b>0.947 (0.856-1.059)</b>	<b>-0.233</b>	<b>0.003*</b>
<b>DMO columna ap L2 (g/cm<sup>2</sup>)</b>	<b>1.116 (0.947-1.222)</b>	<b>0.980 (0.878-1.117)</b>	<b>-0.190</b>	<b>0.015*</b>
<b>DMO columna ap L3 (g/cm<sup>2</sup>)</b>	<b>1.208 (1.020-1.322)</b>	<b>1.047 (0.936-1.216)</b>	<b>-0.180</b>	<b>0.022*</b>
<b>DMO columna ap L4 (g/cm<sup>2</sup>)</b>	<b>1.190 (1.081-1.263)</b>	<b>1.061 (0.948-1.205)</b>	<b>-0.160</b>	<b>0.041*</b>
Riesgo a fractura de cadera (%)	2.550 (2.000-4.350)	3.700 (2.400-6.700)	0.152	0.054
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.100 (0.100-0.425)	0.300 (0.100-1.000)	0.128	0.106

Correlación de Spearman \*p<0.050

En la tabla XX se muestran los valores de la mediana y los cuartiles (25-75) de las mediciones de DMO según los genotipos del polimorfismo *Bsml*, bajo un modelo dominante, se observaron diferencias significativas entre las mediciones de la DMO de columna ap L1-L4, DMO de columna L1, L2, L3 y L4, con los genotipos BB y Bb-bb del polimorfismos *Bsml*. En la tabla XXI se divide a la población en grupos de pre y posmenopausia, donde en el grupo de posmenopausia, se encuentra una diferencia significativa de la DMO columna ap L1-L4 y la DMO columna ap L1 ( $r=-0.177$  y  $p=0.047$ ;  $r=-0.197$  y  $p=0.027$ , respectivamente).

**Tabla XXI. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo *Bsml* en grupos de pre y posmenopausia. Modelo Dominante**

Total n=162	Premenopausia (n=36)				Posmenopausia (n=126)			
	BB (7) Mediana (25-75)	Bb-bb (29) Mediana (25-75)	R	P	BB (11) Mediana (25-75)	Bb-bb (115) Mediana (25-75)	R	P
DMO cuerpo total (g/cm <sup>2</sup> )	1.154 (1.125-1.211)	1.183 (1.117-1.226)	0.014	0.938	1.086 (0.995-1.140)	1.052 (0.993-1.122)	-0.066	0.465
DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	1.021 (0.945-1.115)	1.091 (0.985-1.138)	0.176	0.305	0.973 (0.873-1.034)	0.900 (0.828-1.006)	-0.063	0.483
DMO dual de fémur izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	1.020 (0.966-1.116)	1.079 (1.004-1.150)	0.162	0.345	0.982 (0.895-1.025)	0.909 (0.826-1.004)	-0.064	0.475
DMO dual de fémur derecho (g/cm <sup>2</sup> )	1.027 (0.923-1.115)	1.086 (0.976-1.141)	0.159	0.355	0.965 (0.850-1.043)	0.890 (0.817-0.996)	-0.052	0.562
DMO columna ap L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.215 (1.135-1.290)	1.189 (1.113-1.301)	-0.034	0.845	<b>1.100</b> <b>(0.944-1.245)</b>	<b>0.979</b> <b>(0.893-1.069)</b>	<b>-0.177.</b>	<b>0.047*</b>
DMO columna ap L1 (g/cm <sup>2</sup> )	1.131 (1.073-1.234)	1.117 (1.018-1.191)	-0.142	0.409	<b>0.950</b> <b>(0.921-1.199)</b>	<b>0.920</b> <b>(0.840-1.016)</b>	<b>-0.197</b>	<b>0.027*</b>
DMO columna ap L2 (g/cm <sup>2</sup> )	1.211 (1.111-1.230)	1.136 (1.067-1.256)	-0.088	0.610	1.005 (0.924-1.198)	0.949 (0.848-1.025)	-0.151	0.092
DMO columna ap L3 (g/cm <sup>2</sup> )	1.259 (1.200-1.321)	1.274 (1.142-1.341)	-0.014	0.938	1.151 (0.976-1.325)	1.016 (0.909-1.118)	-0.160	0.074
DMO columna ap L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.223 (1.132-1.278)	1.278 (1.168-1.366)	0.135	0.432	1.129 (0.965-1.236)	1.030 (0.920-1.133)	-0.155	0.083
Riesgo a fractura de cadera (%)	2.000 (1.700-3.200)	1.700 (1.550-2.750)	-0.119	0.490	3.600 (2.500-4.500)	4.500 (2.800-7.200)	0.155	0.083
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.100 (0.000-0.100)	0.000 (0.000-0.100)	-0.138	0.421	0.200 (0.100-0.800)	0.400 (0.200-1.300)	0.111	0.217

**Tabla XXII. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo *BsmI* en población general. Modelo recesivo**

Total n=162	bb (n=73) Mediana (25-75)	Bb-BB (n=89) Mediana (25-75)	R	P
DMO cuerpo total (g/cm <sup>2</sup> )	1.087 (1.005-1.157)	1.086 (1.003-1.158)	0.036	0.649
DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	0.937 (0.839-1.044)	0.969 (0.854-1.051)	0.036	0.653
DMO dual de fémur izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	0.927 (0.835-1.044)	0.971 (0.843-1.054)	0.029	0.711
DMO dual de fémur derecho (g/cm <sup>2</sup> )	0.914 (0.836-1.041)	0.960 (0.854-1.053)	0.047	0.552
DMO columna ap L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.022 (0.919-1.133)	1.028 (0.928-1.205)	0.079	0.321
DMO columna ap L1 (g/cm <sup>2</sup> )	0.936 (0.857-1.032)	0.991 (0.867-1.120)	0.122	0.121
DMO columna ap L2 (g/cm <sup>2</sup> )	0.977 (0.880-1.097)	1.005 (0.886-1.173)	0.084	0.285
DMO columna ap L3 (g/cm <sup>2</sup> )	1.061 (0.963-1.184)	1.057 (0.942-1.258)	0.021	0.786
DMO columna ap L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.061 (0.925-1.179)	1.095 (0.965-1.236)	0.089	0.261
Riesgo a fractura de cadera (%)	3.400 (2.300-6.700)	3.500 (2.300-5.650)	-0.041	0.607
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.300 (0.100-0.980)	0.200 (0.100-0.950)	-0.041	0.603

Correlación de Spearman \*p<0.050

En la tabla XXII se muestran los valores de la mediana y los cuartiles (25-75) de las mediciones de DMO según los genotipos del polimorfismo *BsmI*, bajo un modelo recesivo, en la población general no se encontraron diferencias significativas entre las mediciones de la DMO y los genotipos.

En la Tabla XXIII se muestran la población dividida en grupos de pre y posmenopausia, en el grupo de premenopausia de encontraron diferencias significativas entre las mediciones de la DMO de cuerpo total, columna ap L1-L4, L2, L3 y L4 con los genotipos bb y Bb-BB.

**Tabla XXIII. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo *BsmI* en grupos de pre y posmenopausia. Modelo recesivo**

Total n=162	Premenopausia (n=36)				Posmenopausia (n=126)			
	bb (n=16) Mediana (25-75)	Bb-BB (n=20) Mediana (25-75)	R	P	bb (n=57) Mediana (25-75)	Bb-BB (n=69) Mediana (25-75)	R	P
DMO cuerpo total (g/cm <sup>2</sup> )	<b>1.130</b> <b>(1.087-1.192)</b>	<b>1.211</b> <b>(1.133-1.236)</b>	<b>0.339</b>	<b>0.043*</b>	1.049 (0.997-1.118)	1.053 (0.991-1.126)	-0.027	0.761
DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	1.049 (0.985-1.116)	1.096 (0.980-1.142)	0.121	0.482	0.891 (0.829-0.987)	0.905 (0.827-1.016)	0.028	0.759
DMO dual de fémur izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	1.055 (1.004-1.106)	1.081 (0.984-1.150)	0.075	0.662	0.906 (0.825-0.999)	0.916 (0.830-1.015)	0.026	0.772
DMO dual de fémur derecho (g/cm <sup>2</sup> )	1.058 (0.967-1.110)	1.098 (0.994-1.137)	0.148	0.389	0.896 (0.815-0.990)	0.901 (0.820-1.007)	0.033	0.715
<b>DMO columna ap L1- L4 (g/cm<sup>2</sup>)</b>	<b>1.127</b> <b>(1.039-1.210)</b>	<b>1.253</b> <b>(1.183-1.308)</b>	<b>0.414</b>	<b>0.012*</b>	0.979 (0.896-1.071)	0.989 (0.902-1.088)	0.019	0.834
DMO columna ap L1 (g/cm <sup>2</sup> )	1.032 (0.938-1.143)	1.137 (1.052-1.229)	0.315	0.061	0.920 (0.840-0.998)	0.934 (0.850-1.063)	0.078	0.384
<b>DMO columna ap L2 (g/cm<sup>2</sup>)</b>	<b>1.097</b> <b>(0.998-1.173)</b>	<b>1.215</b> <b>(1.127-1.285)</b>	<b>0.358</b>	<b>0.032*</b>	0.949 (0.866-1.018)	0.956 (0.859-1.0150)	0.041	0.650
<b>DMO columna ap L3 (g/cm<sup>2</sup>)</b>	<b>1.178</b> <b>(1.124-1.288)</b>	<b>1.308</b> <b>(1.237-1.354)</b>	<b>0.382</b>	<b>0.021*</b>	1.024 (0.929-1.138)	1.008 (0.908-1.129)	-0.047	0.604
<b>DMO columna ap L4 (g/cm<sup>2</sup>)</b>	<b>1.182</b> <b>(1.068-1.262)</b>	<b>1.324</b> <b>(1.224-1.371)</b>	<b>0.423</b>	<b>0.010*</b>	1.035 (0.918-1.136)	1.032 (0.940-1.169)	0.018	0.840
Riesgo a fractura de cadera (%)	1.750 (1.300-2.775)	1.700 (1.600-3.050)	0.043	0.802	4.500 (3.000-6.950)	4.200 (2.550-6.850)	-0.058	0.518
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.000 (0.000-0.100)	0.000 (0.000-0.100)	0.043	0.804	0.400 (0.150-1.200)	0.400 (0.100-1.150)	-0.044	0.623

Correlación de Spearman \*p<0.050

**Tabla XXIV. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo *TaqI* en población general. Modelo Dominante**

Total n=156	TT (n=106) Mediana (25-75)	Tt-tt (n=56) Mediana (25-75)	R	P
DMO cuerpo total (g/cm <sup>2</sup> )	1.088 (1.013-1.170)	1.061 (1.003-1.137)	-0.086	0.274
DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	0.970 (0.856-1.047)	0.903 (0.825-1.021)	-0.124	0.117
DMO dual de fémur izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	0.971 (0.844-1.058)	0.915 (0.822-1.020)	-0.132	0.094
DMO dual de fémur derecho (g/cm <sup>2</sup> )	0.963 (0.868-1.048)	0.900 (0.820-1.033)	-0.114	0.148
DMO columna ap L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.025 (0.910-1.152)	1.020 (0.942-1.198)	0.040	0.612
DMO columna ap L1 (g/cm <sup>2</sup> )	0.935 (0.860-1.055)	0.966 (0.865-1.095)	0.037	0.642
DMO columna ap L2 (g/cm <sup>2</sup> )	0.979 (0.878-1.111)	0.993 (0.885-1.174)	0.046	0.559
DMO columna ap L3 (g/cm <sup>2</sup> )	1.060 (0.930-1.192)	1.052 (0.951-1.255)	0.035	0.661
DMO columna ap L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.085 (0.947-1.218)	1.066 (0.967-1.226)	0.003	0.968
Riesgo a fractura de cadera (%)	3.300 (2.300-5.525)	4.350 (2.500-6.650)	0.100	0.206
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.200 (0.100-0.700)	0.300 (0.100-0.990)	0.083	0.292

Correlación de Spearman \*p<0.050

En las tablas XXIV y XXV se muestran los valores de la mediana y los cuartiles (25-75) de las mediciones de DMO según los genotipos del polimorfismo *TaqI*, bajo un modelo dominante, en la población general y por grupos de pre y posmenopausia, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas entre las mediciones de la DMO y los genotipos. TT y Tt-tt en ambas tablas en población general y pos grupos de pre y posmenopausia.

**Tabla XXV. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo *TaqI* en grupos de pre y posmenopausia. Modelo Dominante**

Total n=162	Premenopausia (n=33)				Posmenopausia (n=129)			
	TT (n=24) Mediana (25-75)	Tt-tt (n=9) Mediana (25-75)	R	P	TT (n=82) Mediana (25-75)	Tt-tt (n=47) Mediana (25-75)	R	P
DMO cuerpo total (g/cm <sup>2</sup> )	1.134 (1.088-1.220)	1.211 (1.166-1.234)	0.282	0.111	1.076 (0.997-1.141)	1.044 (0.995-1.117)	-0.112	0.208
DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	1.049 (0.967-1.135)	1.087 (1.021-1.134)	0.143	0.427	0.933 (0.837-1.022)	0.889 (0.819-0.987)	-0.158	0.073
DMO dual de fémur izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	1.055 (0.969-1.115)	1.080 (1.020-1.133)	0.136	0.451	0.918 (0.834-1.029)	0.893 (0.799-0.995)	-0.160	0.070
DMO dual de fémur derecho (g/cm <sup>2</sup> )	1.059 (0.962-1.137)	1.102 (1.024-1.136)	0.182	0.310	0.924 (0.836-1.005)	0.871 (0.813-0.976)	-0.154	0.081
DMO columna ap L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.169 (1.039-1.268)	1.215 (1.182-1.312)	0.264	0.137	0.980 (0.891-1.074)	0.990 (0.928-1.097)	0.047	0.594
DMO columna ap L1 (g/cm <sup>2</sup> )	1.044 (0.938-1.174)	1.131 (1.096-1.198)	0.257	0.148	0.924 (0.840-1.009)	0.928 (0.849-1.046)	0.032	0.719
DMO columna ap L2 (g/cm <sup>2</sup> )	1.127 (1.018-1.224)	1.220 (1.161-1.280)	0.286	0.107	0.949 (0.847-1.027)	0.950 (0.878-1.082)	0.059	0.506
DMO columna ap L3 (g/cm <sup>2</sup> )	1.212 (1.124-1.328)	1.309 (1.231-1.377)	0.272	0.126	1.020 (0.908-1.134)	1.010 (0.940-1.173)	0.036	0.686
DMO columna ap L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.211 (1.090-1.351)	1.278 (1.199-1.369)	0.189	0.291	1.060 (0.922-1.146)	1.030 (0.953-1.167)	0.004	0.963
Riesgo a fractura de cadera (%)	1.700 (1.500-3.175)	1.700 (1.650-2.950)	0.104	0.564	3.900 (2.700-6.725)	4.700 (2.800-6.900)	0.073	0.413
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.000 (0.000-0.100)	0.100 (0.000-0.100)	0.077	0.671	0.350 (0.100-1.200)	0.500 (0.200-1.100)	0.065	0.463

Correlación de Spearman \*p<0.050

**Tabla XXVI. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo *TaqI* en población general. Modelo Recesivo.**

Total n=162	tt (n=12) Mediana (25-75)	TT-Tt (n=150) Mediana (25-75)	R	P
DMO cuerpo total (g/cm <sup>2</sup> )	1.038 (0.997-1.109)	1.087 (1.010-1.157)	0.105	0.183
DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	0.896 (0.840-0.980)	0.965 (0.847-1.047)	0.107	0.175
DMO dual de fémur izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	0.896 (0.836-0.996)	0.962 (0.839-1.053)	0.097	0.218
DMO dual de fémur derecho (g/cm <sup>2</sup> )	0.900 (0.825-0.964)	0.956 (0.849-1.048)	0.111	0.159
DMO columna ap L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	0.965 (0.933-1.163)	1.024 (0.927-1.163)	0.011	0.894
DMO columna ap L1 (g/cm <sup>2</sup> )	0.931 (0.897-1.103)	0.951 (0.860-1.073)	-0.023	0.772
DMO columna ap L2 (g/cm <sup>2</sup> )	0.974 (0.911-1.115)	0.986 (0.878-1.127)	-0.017	0.826
DMO columna ap L3 (g/cm <sup>2</sup> )	0.994 (0.944-1.231)	1.060 (0.943-1.235)	0.045	0.569
DMO columna ap L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.020 (0.966-1.194)	1.083 (0.957-1.227)	0.032	0.691
Riesgo a fractura de cadera (%)	3.950 (2.525-5.650)	3.550 (2.300-6.350)	-0.009	0.909
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.300 (0.125-0.475)	0.300 (0.100-1.000)	-0.008	0.918

Correlación de Spearman \*p<0.050

En las tablas XXVI y XXVII se muestran los valores de la mediana y los cuartiles (25-75) de las mediciones de DMO según los genotipos del polimorfismo *TaqI*, bajo un modelo recesivo, en la población general y por grupos de pre y posmenopausia, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas entre las mediciones de la DMO y los genotipos. tt y TT-Tt en ambas tablas en población general y pos grupos de pre y posmenopausia.

**Tabla XXVII. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo *TaqI* en grupos de pre y posmenopausia. Modelo recesivo**

Total n=162	Premenopausia (n=33)				Posmenopausia (n=129)			
	tt (n=1) Mediana (25-75)	TT-Tt (n=32) Mediana (25-75)	R	P	tt (n=11) Mediana (25-75)	TT-Tt (n=118) Mediana (25-75)	R	P
DMO cuerpo total (g/cm <sup>2</sup> )	1.182 (1.182-1.182)	1.175 (1.116-1.227)	-0.009	0.959	1.028 (0.995-1.084)	1.064 (0.997-1.124)	0.080	0.369
DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	1.021 (1.021-1.021)	1.082 (0.985-1.135)	0.102	0.572	0.894 (0.840-0.942)	0.904 (0.830-1.015)	0.075	0.399
DMO dual de fémur izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	1.020 (1.020-1.020)	1.066 (0.994-1.117)	0.084	0.644	0.895 (0.828-0.956)	0.914 (0.829-1.014)	0.066	0.455
DMO dual de fémur derecho (g/cm <sup>2</sup> )	1.021 (1.021-1.021)	1.081 (0.971-1.137)	0.121	0.503	0.899 (0.817-0.929)	0.904 (0.819-1.005)	0.086	0.334
DMO columna ap L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.215 (1.215-1.215)	1.192 (1.113-1.294)	-0.046	0.798	0.954 (0.930-1.123)	0.987 (0.893-1.075)	-0.031	0.725
DMO columna ap L1 (g/cm <sup>2</sup> )	1.131 (1.131-1.131)	1.118 (1.018-1.194)	-0.046	0.798	0.921 (0.894-1.052)	0.927 (0.839-1.030)	-0.063	0.481
DMO columna ap L2 (g/cm <sup>2</sup> )	1.211 (1.211-1.211)	1.142 (1.067-1.263)	-0.084	0.644	0.950 (0.909-1.096)	0.949 (0.847-1.034)	-0.066	0.460
DMO columna ap L3 (g/cm <sup>2</sup> )	1.309 (1.309-1.309)	1.260 (1.136-1.330)	-0.102	0.572	0.990 (0.934-1.151)	1.028 (0.926-1.137)	0.021	0.814
DMO columna ap L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.199 (1.199-1.199)	1.243 (1.141-1.352)	0.065	0.719	1.000 (0.965-1.182)	1.056 (0.926-1.163)	-0.008	0.927
Riesgo a fractura de cadera (%)	3.200 (3.200-3.200)	1.700 (1.525-2.775)	-0.168	0.350	4.300 (2.500-5.800)	4.350 (2.800-7.000)	0.068	0.442
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.100 (0.100-0.100)	0.000 (0.000-0.100)	-0.0157	0.381	0.300 (0.200-0.500)	0.400 (0.100-1.200)	0.074	0.404

Correlación de Spearman \*p<0.050

**Tabla XXVIII. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo *Apal* en población general. Modelo Dominante**

Total n=153	AA (n=30) Mediana (25-75)	Aa-aa (n=123) Mediana (25-75)	R	P
DMO cuerpo total (g/cm <sup>2</sup> )	1.070 (0.993-1.151)	1.087 (1.010-1.146)	0.039	0.636
DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	0.908 (0.841-1.043)	0.964 (0.838-1.045)	0.053	0.514
DMO dual de fémur izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	0.914 (0.852-1.038)	0.946 (0.835-1.047)	0.049	0.547
DMO dual de fémur derecho (g/cm <sup>2</sup> )	0.904 (0.832-1.041)	0.956 (0.836-1.043)	0.056	0.495
DMO columna ap L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.019 (0.897-1.145)	1.022 (0.920-1.153)	0.012	0.880
DMO columna ap L1 (g/cm <sup>2</sup> )	0.947 (0.861-1.123)	0.936 (0.861-1.052)	-0.076	0.353
DMO columna ap L2 (g/cm <sup>2</sup> )	0.943 (0.877-1.113)	0.987 (0.882-1.120)	0.042	0.602
DMO columna ap L3 (g/cm <sup>2</sup> )	1.024 (0.925-1.197)	1.058 (0.935-0.122)	0.036	0.657
DMO columna ap L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.061 (0.959-1.186)	1.078 (0.941-1.215)	0.023	0.773
Riesgo a fractura de cadera (%)	3.550 (2.175-5.350)	3.800 (2.400-6.700)	0.048	0.552
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.250 (0.100-0.525)	0.300 (0.100-1.100)	0.054	0.507

Correlación de Spearman \*p<0.050

En las tablas XXVIII y XXIX se muestran los valores de la mediana y los cuartiles (25-75) de las mediciones de DMO según los genotipos del polimorfismo *Apal*, bajo un modelo dominante, en la población general y por grupos de pre y posmenopausia, respectivamente. No se encontraron Diferencias significativas en ninguno de los grupos población general, y por grupos de pre y posmenopausia, entre las mediciones de la DMO y los genotipos AA y Aa-aa.

**Tabla XXIX. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo *Apal* en grupos de pre y posmenopausia. Modelo Dominante**

Total n=153	Premenopausia (n=31)				Posmenopausia (n=122)			
	AA (n=6) Mediana (25-75)	Aa-aa (n=25) Mediana (25-75)	R	P	AA (n=24) Mediana (25-75)	Aa-aa (n=98) Mediana (25-75)	R	P
DMO cuerpo total (g/cm <sup>2</sup> )	1.189 (1.146-1.229)	1.151 (1.104-1.234)	-0.155	0.404	1.039 (0.985-1.118)	1.054 (0.998-1.122)	0.078	0.396
DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	1.058 (1.002-1.133)	1.051 (0.978-1.132)	-0.023	0.903	0.885 (0.826-0.980)	0.902 (0.823-1.015)	0.076	0.405
DMO dual de fémur izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	1.036 (1.005-1.124)	1.064 (0.986-1.113)	-0.005	0.981	0.890 (0.809-0.996)	0.914 (0.829-1.014)	0.068	0.457
DMO dual de fémur derecho (g/cm <sup>2</sup> )	1.082 (0.996-1.143)	1.056 (0.967-1.136)	-0.041	0.826	0.883 (0.814-0.964)	0.904 (0.816-1.000)	0.087	0.343
DMO columna ap L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.218 (1.108-1.310)	1.205 (1.092-1.301)	-0.059	0.751	0.965 (0.893-1.095)	0.983 (0.893-1.074)	0.025	0.781
DMO columna ap L1 (g/cm <sup>2</sup> )	1.165 (1.041-1.232)	1.119 (0.977-1.191)	-0.169	0.364	0.930 (0.856-1.070)	0.917 (0.839-1.013)	-0.065	0.479
DMO columna ap L2 (g/cm <sup>2</sup> )	1.169 (1.077-1.277)	1.128 (1.034-1.280)	-0.064	0.733	0.921 (0.855-1.046)	0.959 (0.859-1.034)	0.066	0.471
DMO columna ap L3 (g/cm <sup>2</sup> )	1.284 (1.192-1.350)	1.234 (1.129-1.341)	-0.114	0.541	0.994 (0.911-1.118)	1.020 (0.924-1.137)	0.073	0.421
DMO columna ap L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.211 (1.114-1.331)	1.258 (1.131-1.366)	0.059	0.751	1.017 (0.937-1.127)	1.041 (0.913-1.166)	0.020	0.823
Riesgo a fractura de cadera (%)	1.700 (1.625-2.175)	1.800 (1.550-3.250)	0.083	0.659	4.400 (2.825-6.025)	4.550 (2.800-7.400)	0.037	0.689
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.050 (0.000-0.100)	0.000 (0.000-0.100)	0.015	0.935	0.300 (0.125-0.975)	0.500 (0.175-1.325)	0.076	0.403

Correlación de Spearman \*p<0.050

**Tabla XXX. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo *Apal* en población general. Modelo Recesivo**

Total n=153	aa (n=52) Mediana (25-75)	AA-Aa (n=101) Mediana (25-75)	R	P
DMO cuerpo total (g/cm <sup>2</sup> )	1.082 (0.999-1.167)	1.083 (1.004-1.140)	0.014	0.860
DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	0.971 (0.834-1.035)	0.918 (0.843-1.048)	-0.024	0.766
DMO dual de fémur izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	0.970 (0.837-1.044)	0.927 (0.835-1.048)	-0.057	0.483
DMO dual de fémur derecho (g/cm <sup>2</sup> )	0.964 (0.824-1.025)	0.916 (0.840-1.051)	-0.012	0.883
DMO columna ap L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	0.988 (0.909-1.113)	1.025 (0.922-1.176)	0.068	0.401
DMO columna ap L1 (g/cm <sup>2</sup> )	0.917 (0.842-1.030)	0.960 (0.864-1.110)	0.130	0.108
DMO columna ap L2 (g/cm <sup>2</sup> )	0.956 (0.883-1.080)	0.989 (0.878-1.127)	0.066	0.415
DMO columna ap L3 (g/cm <sup>2</sup> )	1.038 (0.930-1.157)	1.057 (0.937-1.246)	0.030	0.709
DMO columna ap L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.058 (0.945-1.172)	1.081 (0.948-1.232)	0.058	0.478
Riesgo a fractura de cadera (%)	3.400 (2.300-6.650)	3.900 (2.400-6.600)	-0.006	0.942
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.250 (0.100-1.000)	0.300 (0.100-1.050)	0.023	0.778

Correlación de Spearman \*p<0.050

En las tablas XXX y XXXI se muestran los valores de la mediana y los cuartiles (25-75) de las mediciones de DMO según los genotipos del polimorfismo *Apal*, bajo un modelo recesivo, en la población general y por grupos de pre y posmenopausia, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas entre las mediciones de la DMO y los genotipos aa y AA-Aa, en población total, y por grupos de pre y posmenopausia.

**Tabla XXXI. DMO y riesgo a fracturas por genotipos del polimorfismo *Apal* en grupos de pre y posmenopausia. Modelo Recesivo**

Total n=153	Premenopausia (n=31)				Posmenopausia(n=122)			
	aa (n=12) Mediana (25-75)	AA-Aa (n=19) Mediana (25-75)	R	P	aa (n=40) Mediana (25-75)	AA-Aa (n=82) Mediana (25-75)	R	P
DMO cuerpo total (g/cm <sup>2</sup> )	1.136 (1.088-1.246)	1.196 (1.125-1.229)	0.207	0.263	1.048 (0.989-1.139)	1.061 (0.999-1.119)	0.026	0.776
DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	1.015 (0.945-1.117)	1.087 (1.021-1.138)	0.215	0.246	0.955 (0.828-1.019)	0.896 (0.821-0.998)	-0.067	0.466
DMO dual de fémur izquierdo (g/cm <sup>2</sup> )	1.012 (0.958-1.105)	1.080 (1.019-1.116)	0.193	0.299	0.922 (0.834-1.038)	0.896 (0.813-1.000)	-0.106	0.245
DMO dual de fémur derecho (g/cm <sup>2</sup> )	1.024 (0.933-1.130)	1.086 (1.021-1.138)	0.207	0.263	0.927 (0.814-0.998)	0.897 (0.816-0.998)	-0.050	0.586
DMO columna ap L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.127 (0.978-1.288)	1.239 (1.135-1.296)	0.252	0.172	0.976 (0.897-1.060)	0.989 (0.893-1.084)	0.065	0.479
DMO columna ap L1 (g/cm <sup>2</sup> )	1.044 (0.904-1.213)	1.141 (1.046-1.199)	0.244	0.185	0.901 (0.837-0.988)	0.933 (0.854-1.041)	0.134	0.140
DMO columna ap L2 (g/cm <sup>2</sup> )	1.106 (0.946-1.287)	1.182 (1.074-1.270)	0.133	0.475	0.925 (0.873-1.013)	0.953 (0.843-1.054)	0.068	0.457
DMO columna ap L3 (g/cm <sup>2</sup> )	1.166 (1.009-1.339)	1.274 (1.190-1.333)	0.252	0.172	1.017 (0.904-1.135)	1.007 (0.925-1.140)	0.000	0.998
DMO columna ap L4 (g/cm <sup>2</sup> )	1.186 (1.068-1.316)	1.313 (1.168-1.376)	0.230	0.214	1.021 (0.903-1.129)	1.044 (0.926-1.167)	0.055	0.547
Riesgo a fractura de cadera (%)	1.900 (1.275-3.375)	1.700 (1.600-2.600)	-0.022	0.905	4.550 (2.825-7.800)	4.450 (2.800-7.000)	-0.013	0.884
Riesgo de fractura de cadera (%)	0.100 (0.000-0.100)	0.000 (0.000-0.100)	-0.207	0.265	0.500 (0.100-1.175)	0.400 (0.200-1.325)	0.029	0.754

Correlación de Spearman \*p<0.050

## 8. DISCUSIÓN

La osteoporosis es una enfermedad que afecta la resorción ósea y se caracteriza por una baja densidad mineral ósea, lo que tiene como consecuencia una mayor fragilidad ósea y un aumento en el riesgo a padecer fracturas (Palma-Lazcano & Contreras-Marín, 2005). La osteoporosis representa un alto costo para los sistemas de salud pública, debido a la cantidad de recursos necesarios para los cuidados de los pacientes y la atención en los centros de salud (Clark P. , *et al*, 2008). Diversos estudios señalan que esta enfermedad es de origen multifactorial y que involucra un fuerte componente genético. Toda esta problemática hace necesaria la realización de estudios encaminados a analizar los componentes genéticos y ambientales que pudieran estar relacionados con este padecimiento. Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue determinar la asociación de los polimorfismos *BsmI*, *TaqI* y *Apal* del gen *VDR* con la DMO y el riesgo a fracturas en mujeres del norte del país.

Los valores de la DMO de cuerpo total en nuestro estudio son superiores a los encontrados con población americana, en los estudios analizados la medición de la DMO total es la menos frecuente para realizar un diagnóstico de la DMO. Los valores de DMO de dual de fémur de otros estudios se muestran en la tabla XXXII y se puede observar que en nuestro estudio estos valores son mayores, con respecto a las poblaciones de Holanda, Francia, EUA y Grecia; esto difiere de la medición de la DMO de columna, ya que en nuestro estudio reporta un DMO más baja comparado con los demás, esto pudiese indicar que este diagnóstico de DMO pudiese ser más preciso para nuestra población.

**Tabla XXXII Densidad Mineral Óseas en diversas poblaciones étnicas**

Referencia	Grupo de estudio	Población	DMO total (g/cm <sup>2</sup> )	DMO dual de fémur (g/cm <sup>2</sup> )	DMO columna ap (g/cm <sup>2</sup> )
Nuestro Estudio	Mujeres de 40-81 años del norte del México.	Mexicana	1.084 (1.015-1.150)	1.084 (1.015-1.150)	1.025 (0.926-1.176)
Colin, et al,2003	Mujeres de 55 años en adelante	Holandesa	-----	0.810 ± 0.120	1.010 ± 0.170
Garnero <i>et al</i> 2005	Mujeres caucásicas de 31-89 años.	Francesa	-----	0.811 ± 0.122	-----
Rapuri et al., 2001.	Ancianas de 65-75 años	Americana	1.003 ± 0.008	0.813 ± 0.010	-----
Stathopoulou, et al, 2011	Mujeres en etapa de posmenopausia	Griega		0.915 ± 0.133	0.961 ± 0.178

En nuestro estudio La distribución de los genotipos de los polimorfismos *Bsml* fue 11, 44 y 45 % (BB, Bb y bb); el polimorfismo *TaqI* presentó 66, 27 y 7% (TT, Tt y tt), y *Apal* 20, 46 y 34 % (AA, Aa y aa), respectivamente. Comparando estos resultados con distintos estudios se realiza una Ji-cuadrada, los resultados se muestran en la tabla XXXIII.

Tabla XXXIII Comparación de frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos <i>BsmI</i> , <i>Apal</i> y <i>TaqI</i> del gen <i>VDR</i> reportadas en diferentes estudios.							
Polimorfismo	N	Frecuencia Alélica (%)		Frecuencia Genotípica (%)			Valor de $\chi^2$
<b><i>BsmI</i></b>		<b>B</b>	<b>b</b>	<b>BB</b>	<b>Bb</b>	<b>bb</b>	
Nuestro estudio	162	33	67	11	44	45	
Hernández-Tobias, et al, 2011	150	35	65	9	53	38	
McClure, et al 1997. Mexico-americanas	117	29	71	8	42	50	
Stathopoulou, et al, 2011	578	42	58	17	51	32	
<b><i>TaqI</i></b>		<b>T</b>	<b>t</b>	<b>TT</b>	<b>Tt</b>	<b>tt</b>	
Hernández-Tobias, et al, 2011	150	75	25	57	37	6	
Nuestro estudio	162	79	21	66	27	7	
McClure, et al 1997. Mexico-americanas	117	71	29	51	40	9	
Stathopoulou, et al, 2011	578	59	41	34	50	16	
<b><i>Apal</i></b>		<b>A</b>	<b>a</b>	<b>AA</b>	<b>Aa</b>	<b>Aa</b>	
Nuestro estudio	153	43	57	20	46	34	
Hernández-Tobias, et al, 2011	150	45	55	20	50	30	
McClure, et al 1997. Mexico-americanas	117	49	51	23	53	23	

En relación a los valores de la DMO según los genotipos, el genotipo denominado *BsmI* se asoció con la DMO de columna L1-L4 bajo un modelo co-dominante y dominante; siendo mayores los valores de la DMO con el genotipo BB y menores con el genotipo bb. En la población dividida en grupos de pre y posmenopausia, en el grupo de posmenopausia, se encontraron diferencias significativas de la DMO

columna ap L1-L4, bajo un modelo dominante, siendo mayores las densidades en el genotipo BB y menores en el Bb-bb. Bajo un modelo recesivo en el grupo de premenopausia se encontraron diferencias significativas entre las mediciones de la DMO de cuerpo total, columna ap L1-L4, L2, L3 y L4 siendo los valores de la DMO menores con el genotipo bb y mayores con el Bb-BB.

Esto pudiese estar indicando que polimorfismos *Bsml* podría ser un marcador genético para la DMO de columna ap L1-L4. El genotipo BB pudiese ser un factor protector y genotipo bb podría estar predisponiendo a una baja DMO en la columna ap L1-L4. Esta medición de la DMO, es sensible y específica para realizar un diagnóstico de osteoporosis, y se ha observado que en nuestra población las densidades más bajas corresponden a esta medición.

Estudios realizados en México, del polimorfismo *Bsml* con la DMO, sugieren resultados controversiales, ya que mientras que un estudio de Jaramillo-Rangel y colaboradores (1999), no reportan asociación con el polimorfismo *Bsml*. En un estudio reciente del 2012 en diferentes grupos étnicos del país, realizado en el occidente del país, se encontró una asociación entre una DMO baja en Purepechas y el polimorfismo *Bsml* del gen *VDR* (Nuño-Arana, *et al.*, 2012), en el cuál el alelo dominante fue el b, al igual que en nuestro estudio, lo cuál también nos indica que este alelo pudiese tener relación con la DMO en el norte y occidente del país, ya que en la región centro no se encontró asociación.

En el meta-análisis de Thakkestian y colaboradores en el 2004, sugieren que treinta y cuatro estudios se determinó una asociación entre la DMO de columna y el polimorfismo *Bsml* en mujeres adultas, lo cuál sustenta nuestros resultados.

En esta investigación no se encontró asociación entre la DMO y los polimorfismos *TaqI* y *Apal*, en los distintos modelos co-dominante,

recesivo y dominante. Resultados similares se han reportado en diferentes poblaciones; Morita y colaboradores en el 2004 estudiaron 1434 mujeres japonesas entre 15 y 79 años y no encontraron asociación entre la DMO y el polimorfismo *TaqI*,

Es posible que estos polimorfismos (*TaqI* y *Apal*) sobre la DMO sea muy discreto comparado con otros factores tales como el estilo de vida (alcoholismo, sedentarismo, consumo de calcio, cafeína, vitamina D y actividad física) o el efecto con otros polimorfismos tales como el de colágena I  $\alpha$  1 (COLIA 1), receptor de estrógenos  $\alpha$  (ESR1), osteoprotegerina (OPG), entre otros. Para que la DMO se vea disminuida se requiere un gran número de factores, por lo que el estudio de otros genes y sus haplotipos deben ser examinados en conjunto para determinar su contribución en los procesos de la síntesis y remodelación ósea. Además es recomendable ampliar el tamaño de la muestra para incrementar el valor estadístico del estudio.

Los resultados encontrados por Stathopoulo y colaboradores en el 2011, sugieren la asociación del gen VDR con la DMO, pero esto sólo en personas que tienen un consumo bajo de calcio, de esta manera se mantiene el concepto que el efecto de este gen puede estar modificado por diferentes factores ambientales, lo cuál amplía las variables a relacionar en próximos estudios.

Analizando nuestros resultados del cuestionario FRAX® asociado a los genotipos de los polimorfismos analizados, no se encuentran diferencias significativas. El estimar el riesgo a fracturas por medio de la herramienta FRAX®, podría ser una estrategia para disminuir el riesgo de padecer alguna fractura, tomando en cuenta el porcentaje generado de riesgo y implementando intervenciones preventivas.

En un estudio realizado en la Unidad Médica de Alta Especialidad del Hospital de Traumatología y Ortopedia de Lomas Verdes, Estado de

México. Se analizaron 160 pacientes, de los que 122 (76%) eran mujeres. Los resultados encontrados en el riesgo de fractura de cadera en los próximos 10 años (ocurrida en mujeres y hombres, respectivamente) fue: de 1.1 y 0.6% en el grupo de 50 a 59 años de edad, de 2.2 y 1.4% en el de 60 a 69 años de edad, de 6.2 y 2.8% en el de 70 a 79 años de edad y de 7.9 y 4.3% en el de 80 a 89 años de edad. Se concluye en este estudio que con la herramienta FRAX® se demostró que la frecuencia de padecer una fractura en los próximos 10 años es ascendente conforme las décadas etarias son mayores, y esto se correlaciona directamente con el ciclo de vida óseo. Los resultados mayores de 20% (como se observa en las pacientes mayores de 70 años) son calificaciones que en otras poblaciones indican una intervención farmacológica para disminuir el riesgo de una fractura osteoporótica (Cisneros-Dreinhofer & Hernández-Franco, 2011).

Nuestros resultados comparados con el estudio de Cisneros-Dreinhofer & Hernández-Franco, fueron menores, el riesgo a fractura fue de 3.6 (2.35-6.0) y Riesgo de fractura de cadera (%) 0.300 (0.100-0.980). Separando la población en grupos de pre y posmenopausia, la mediana de la edad fue de 47 (44.75-49) y 59 (55-66); el riesgo a fractura fue de 1.7 (1.57-2.72) y 4.4 (2.8-6.8), respectivamente; y el riesgo a fractura de cadera fue de 0 (0-0.1) y 0.4 (0.2-1.1), respectivamente; los resultados menores pueden deberse a que en el estudio de Cisneros-Dreinhofer & Hernández-Franco no cuantifican la DMO, y en nuestro estudio la DMO es una variable que sí fue ingresada en los datos del FRAX® para generar el riesgo a fracturas y es por ello que estos resultados pueden ser más precisos, ya que la DMO es un indicador directo. En ambos estudios se puede concluir que el riesgo de fracturas es ascendente conforme las décadas etarias son mayores.

## 9. CONCLUSIONES

En la presente investigación se encontró una asociación entre el polimorfismo *BsmI* del gen *VDR* y la DMO de columna ap L1-L4 bajo un modelo co-dominante y dominante.

En la población dividida en grupos de pre y posmenopausia, en el grupo de posmenopausia, se encontraron diferencias significativas de la DMO columna ap L1-L4 y columna ap L1. Bajo un modelo recesivo en el grupo de premenopausia se encontraron diferencias significativas entre las mediciones de la DMO de cuerpo total, columna ap L1-L4, L2, L3 y L4 con los genotipos bb y Bb-BB.

Es posible que el polimorfismo *BsmI* del gen *VDR* participe en la fragilidad ósea en mujeres adultas del norte del país.

Este es el primer reporte en México que vincula los polimorfismos del gen *VDR* con el riesgo a fracturas generado por la herramienta FRAX®.

Este es el primer reporte en el norte del país de la utilización de la herramienta FRAX® para estimar el riesgo a fracturas en mujeres y el primero en México que incluye la DMO dual de fémur (por DXA).

El presente estudio servirá como referencia para estudios posteriores que relacionen el gen *VDR* con otros genes implicados en la etiopatología de la osteoporosis.

## 10. LITERATURA CITADA

1. Azagra-Ledesma, R., Prieto-Alhambra, D., Encabo-Duró, G., Casado-Burgos, E., Aguyé-Batista, A., & Díez-Pérez, A. (2011). Utilidad de la herramienta FRAX en el tratamiento de la osteoporosis en población femenina española. *Medicina clínica*, 136 (14), 613-619.
2. Barba-Evia, J. R. (2011). Marcadores de remodelado óseo y osteoporosis. *Rev Mex Patol Clin*, 58 (3), 113-137.
3. Castelo-Branco, C. (2009). *Osteoporosis y Menopausia*. España : Médica Panamericana.
4. Cisneros-Dreinhofer, F. A., & Hernández-Franco, R. C. (2011). Utilización de la herramienta FRAX® para valoración osteoporótica de pacientes con fractura en el antebrazo distal, en la UMAE del Hospital de Traumatología y Ortopedia de Lomas Verdes (HTOL V), IMSS. *Rev Metab Óseo y Min 2011*, 9 (4), 110-113.
5. Clark, P. (2009). Osteoporosis in Mexico. "The challenge". *Salud Pública de México*, 51 (1), 2-3.
6. Clark, P., Carlos, F., & Vázquez-Martínez, J. L. (2010). Epidemiology, costs and burden of osteoporosis in Mexico. *Arch Osteoporos* (5), 9-17.
7. Clark, P., Carlos, F., Barrera, C., Guzman, J., Maetzel, A., et al. (2008). Direct costs of osteoporosis and hip fracture: an analysis for the Mexican health care system. *Osteoporos Int*, 19 (3), 269-276.
8. Clark, P., Deleze, M., Cons-Molina, F., & Ragi, S. (2003). The incidence of vertebral fractures in Mexican populations. *J Bone Miner Res*, 18 (S), 244.
9. Clark, P., Lavielle, Franco-Marina, F., Ramirez, E., Salmeron, J., et al. (2005). Incidence rates and life-time risk of hip fractures in Mexicans over 50 years of age: a population-based study. *Osteoporos Int*, 16 (12), 2025-2030.
10. Colin, E., Uitterlinden, A., Meurs, J., Bergink, A., & Van de Klift, M. (2003). Interaction between vitamin D receptor genotype and estrogen receptor alfa genotype influences in vertebral fracture risk. *J Clin Endocrinol Metab*, 88, 377-388.

11. Cortina, G., & Calderón, J. (2004). Modelos de experimentación para el estudio del tejido óseo. *REB*, 23 (3), 107-116.
12. Cymet-Ramírez, J., Cisneros-Dreinhofer, FA, Álvarez-Martínez, M., Cruz-González, I., de la Fuente-Zuno, J., *et al.* (2011). Diagnóstico y tratamiento de la osteoporosis. Posición del Colegio Mexicano de Ortopedia y Traumatología. *Acta Ortopédica Mexicana*, 25 (5), 303-312.
13. De Lago-Acosta, A., Parada-Tapia, M. G., & Somera-Iturbide, J. (2008). Prevalencia de osteoporosis en población abierta de la Ciudad de México. *Ginecología y Obstetricia de México*, 76 (5), 261-266.
14. Fang, Y., Van Meurs, J., Bergink, A., Hofman, A., Van Duijn, C., Van Leeuwen, J. *et al.* (2003). *Cdx2* polymorphysm in the promoter region of the human vitamin D receptor gene determines susceptibility to fracture in the edarly-. *J Bone Miner Res* (18), 1632-1641.
15. Fernández-Tresguerres, I., Hernández-Gil, Alobera-Gracia, M. A., Del Canto-Pingarrón, M., & Blanco-Jerez, L. (2006). Bases fisiológicas de la regeneración ósea II. El proceso de remodelado. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal* (11), E151-E157.
16. Ferrari, S. (2008). Human genetics of osteoporosis. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 22 (5), 723-735.
17. Garnero, P., Muñoz, F., Borel, O., Sornay-Rendu, E., & Delmas, P. (2005). Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with risk of fracture in edarly postmenopausal women independently of bone mineral density,. *J. Clin Endocrinol Metab*, 90, 4829-4835.
18. Gil, A. (2010). *Tratado de Nutrición Tomo IV: Nutrición Clínica*. España: Editorial Médica Panamericana.
19. Gong, G., Stern, H., Cheng, S., Fong, N., Mordeson, J., Deng, H., *et al.* (1999). The association of bone mineral density with vitamin D receptor gene polymorphisms. *Osteoporosis Int* (9), 55-64.
20. Goodhand, J., Kamperidis, N., Nguyen, H., Wahed, M., & Rampton, D. (2011). Application of the WHO fracture risk assessment tool (FRAX) to predict need for DEXA scanning and treatment in

- patients with inflammatory bowel disease at risk of osteoporosis. *Aliment Pharmacol Ther* , 33 (5), 551-558.
21. Hernández-Tobias, E. A. (2011). Asociación de la densidad mineral ósea con el polimorfismo *TaqI* del gen receptor de la vitamina D y el consumo de cafeína en mujeres jóvenes. *Tesis de Maestría*. Universidad Autónoma de Nuevo León.
  22. Ibáñez, R. (2003). Técnicas de medida de densidad de masa ósea. *An. Sist. Sanit. Navar.* , 26 (3), 19-27.
  23. Iniesta, R., Guinó, E., & Moreno, V. (2005). Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gac Sanit.* , 19 (4), 333-341.
  24. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. (2003-2010). <http://e-salud.e-mexico.gob.mx>. Recuperado el 2012, de XII Censo general de población y vivienda: <http://e-salud.e-mexico.gob.mx>
  25. Jaramillo-Rangel, G., Cerda-Flores, R., Cárdenas-Ibarra, L., Tamayo-Orozco, J., Morrison, N., & Barrera-Saldaña, H. (1999). Vitamin D receptor polymorphisms and bone mineral density Mexican women without osteoporosis. *Am J Hum Biol* (11), 793-797.
  26. Kanis, J. A. (2002). Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet* , 359 (9321), 1929-1936.
  27. Leib, E., Lewieck, E., Binkley, N., & Hamdy, R. (2004). Official positions of the International Society for Clinical Densitometry. *J Clin Densit* , 7 (1), 1-6.
  28. Lewiecki, M. (2010). Fracture Risk Assessment in Clinical Practice: T-scores, FRAX, and Beyond. *Clinic Rev Bone Miner Metab* (8), 101-112.
  29. Lippuner, K., Johansson, H., Kanis, J., & Rizzoli, R. (2010). FRAX® assessment of osteoporotic fracture probability in Switzerland. *Osteoporosis International* , 21 (3), 381-389.
  30. Lisker, R., López, M., Jasqui, S., Ponce de León-Rosales, S., Correa-Rotter, R., Sánchez, S., et al. (2003). Association of vitamin

- D receptor polymorphisms with osteoporosis in mexican postmenopausal women. *Human Biology* , 75 (3), 399-403.
31. Mencej-Bedrac, S., Janez, P., Kocjan, T., Teskac, K., Ostanek, B., Mojca, S., *et al.* (2009). The combinations of polymorphisms in vitamin D receptor, osteoprotegeron and tumor necrosis factor superfamily member 11 genes are associated with bone mineral density. *J Mol Endocrinol* (42), 239-247.
  32. Montomoli, M., Gonelli, S., Giacci, M., Mattei, R., Cuda, C., Rossi, S., *et al.* (2002). Validation of a food frequency questionnaire for nutritional calcium intake assesment in Italian women. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56, 21-30.
  33. Morrison, N., Yeoman, R., Kelly, P., & JA., E. (1992). Contribution of trans-acting factor alleles to normal physiological variability: Vitamin D receptor gene polymorphisms and circulating osteocalcin. *Proc Natl Acad Sci* (89), 6665-6669.
  34. Muñoz-Torres, M., Varsavsky, M., & Pérez, A. (2010). Osteoporosis. Definición. Epidemiología. *Rev Osteoporos Metab Miner* , 3, S5-S7.
  35. National Institutes of Health. (1994). NIH Consensus Development Panel on Optimal Calcium Intake. *JAMA* (272), 1942-1948.
  36. Neyro-Bilbao, J., Sánchez-Cano, A., & Gil-Antuño-Palacios, S. (2011). Regulación del metabolismo óseo a través del sistema RANK-RANK-OPG. *Rev Osteoporos Metab Miner* , 3 (2), 105-112.
  37. North American Menopause Society, NAMS. (2007). Importancia del calcio en mujeres peri y posmenopáusicas: consenso de la Sociedad Norteamericana de Menopausia. *Revista del climaterio* , 10 (58), 138-155.
  38. Nuño-Arana, I., Sahagun-Nuñez, V. d., Muñoz-Valle, JF, Sandoval, L., Pinto-Escalante, D., *et al.* (2012). Distribution of three SNPs related to low bone mineral density in amerindian groups and mestizos from Mexico. *American Journal of Human Biology* (24), 569-572.
  39. Palma-Lazcano, I., & Contreras-Marín, M. (2005). Osteoporosis. *Revista Paceña de Medicina Familiar* , 2 (2), 110-113.

40. Pérez-Fernández, M. R. (Marzo de 2011). Evaluación de un programa de educación sanitaria para la prevención de osteoporosis en mujeres perimenopáusicas de un entorno rural. *Tesis Doctoral*. Santiago de Compostela, España: Universidad de Santiago de Compostela.
41. Quevedo, I., Martínez, M., Castillo, M., & Rivera, N. (2008). Polimorfismos del gen del Receptor de Vitamina D y fractura de cadera en la Mujer Adulta Mayor de la Región del Bio Bio. *Rev Médica Chile* (136), 475-481.
42. Rachez, C., & Freedman, L. (2000). Mechanisms of gene regulation by vitamin D(3) receptor: a network of coactivator interactions. *Gene* (246), 9-21.
43. Ralston, S. H. (2007). Genetics of osteoporosis. *Proceedings of the Nutrition Society* (66), 158–165.
44. Rapuri, P., Gallagher, J., Balhorn, K., & Ryschon, K. (2001). Caffeine increases the rate of bone loss in elderly women. *Am J Clin Nutr* (74), 694-700.
45. Recker, R., Lappe, J., Davies, K., & Heaney, R. (2004). Bone remodeling increases substantially in the years after menopause and remains in older osteoporosis patients. *J Bone Miner Res* (19), 1628-1633.
46. Sambrook, J., & Russel, D. (2001). *A molecular cloning manual. Tercera edición*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
47. Stathopoulo, M. G., Dedoussis, G., Trovas, G., Theodoraki, E., Katsalira, A., Dontas, I., *et al.* (2011). The role of vitamin D receptor gene polymorphisms in the bone mineral density of Greek postmenopausal women with low calcium intake. *Journal of Nutritional Biochemistry* (22), 752-757.
48. Thakkinstian, A., D'Este, C., Eximan, J., Nguyen, T., & Attia, J. (2004). Meta-analysis of molecular association studies: vitamin D gene polymorphisms and BMD as a case study. *J Bone Miner Res* (19), 419-428.

49. Tolosa de Talamoni, N. (2007). Osteoporosis y polimorfismos del gen del receptor de vitamina D. *Endocrinol Nutr*, 54 (2), 96-101.
50. World Health Organization. (s.f.). *FRAX WHO Fracture Risk Assessment Tool*. Recuperado el 3 de Julio de 2012, de <http://www.shef.ac.uk/FRAX/>.
51. World Health Organization. (2003). Prevention and management of osteoporosis. *World Health Organization Tech Rep Ser* (921), 1-164.

## ANEXOS

### ANEXO A

#### Carta de Consentimiento Informado

Monterrey, Nuevo León a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del año \_\_\_\_\_

Por medio de la presente Yo: \_\_\_\_\_ declaro libre y voluntariamente que acepto participar en el estudio titulado "Asociación de los polimorfismos *BsmI*, *TaqI* y *Cdx2* del gen *VDR* con la densidad mineral ósea, consumo de calcio y riesgo a fracturas en mujeres en etapa de pre y posmenopausia" que se realiza en la Facultad de Salud Pública y Nutrición y cuyo objetivo consisten en: Determinar la asociación de los polimorfismos *BsmI*, *TaqI* y *Cdx2* del gen *VDR* con la DMO, el riesgo a fracturas y con el consumo de calcio en mujeres en estado de pre y posmenopausia Se me ha informado que mi participación en este estudio será de: contestar cuestionarios (un recordatorio de 24 horas y uno de riesgo a fracturas), la toma de una muestra única de 5 ml de sangre, así como la realización de la densitometría ósea con radiografía (llamado DXA), que me permitirá conocer mi diagnostico en cuanto a mi salud ósea.

Declaro que se me ha hecho saber sobre los posibles riesgos, inconvenientes y molestias derivados de mi participación de este estudio, que son los siguientes: por la toma de la muestra de sangre, presentar algún hematoma en el sitio de la toma de sangre. En la medición de la densitometría ósea se considera que no tiene efectos secundarios y sus riesgos son considerados mínimos.

Es de mi conocimiento que seré libre de retirarme de la presente investigación en el momento que yo así lo desee.

El investigador principal confirma que no se me identificará en las publicaciones que se deriven de este estudio y que mis datos privados serán manejados de forma absolutamente confidencial. Para cumplir lo anterior, el investigador utilizará un folio para identificarme y de esa forma conservar mi anonimato.

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del participante

\_\_\_\_\_  
Lic. Ninfa Esthela Escalante García Cédula profesional: 6506384

\_\_\_\_\_  
Testigo 1

\_\_\_\_\_  
Testigo 2

## ANEXO B

### Herramienta de Cálculo

Por favor responda las preguntas siguientes para calcular la probabilidad de fractura a diez años sin DMO o con DMO.



país: México

Nombre/ID:

[Sobre los Factores de riesgo](#)

#### Cuestionario:

1. Edad (entre 40-90 años) o fecha de nacimiento

Edad:

Fecha de Nacimiento:

A:

M:

D:

2. Sexo

Hombre

Mujer

3. Peso (kg)

4. Estatura (cm)

5. Fractura previa

No

Sí

6. Padres con Fractura de Cadera

No

Sí

7. Fumador Activo

No

Sí

8. Glucocorticoides

No

Sí

9. Artritis Reumatoide

No

Sí

10. Osteoporosis secundaria

No

Sí

11. Alcohol, 3 o más dosis por día

No

Sí

12. DMO de Cuello Femoral

Seleccione BMD

Borrar

Calcular

#### Weight Conversion

Pounds kg

Convert

#### Height Conversion

Inches cm

Convert

00052202

Individuals with fracture risk  
assessed since 1st June 2011