



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN
ESPECIALIDAD EN:
GENÉTICA MÉDICA

***POLIMORFISMOS GÉNICOS RELACIONADOS CON FRACTURAS DE
CADERA EN MUJERES MEXICANAS CON OSTEOPOROSIS.***

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE
MÉDICO ESPECIALISTA EN

GENÉTICA MÉDICA

P R E S E N T A:

DR. JORGE RAMÍREZ ZENTENO

PROFESOR TITULAR Y ASESOR: DRA. en C. MARGARITA VALDÉS
FLORES



MÉXICO, D.F.

FEBRERO DE 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DRA. MATILDE L. ENRIQUEZ SANDOVAL
DIRECTORA DE ENSEÑANZA

DRA. XOCHIQETZAL HERNANDEZ LÓPEZ
SUBDIRECTORA DE POSTGRADO
Y EDUCACIÓN CONTINUA

DR. LUIS GÓMEZ VELAZQUEZ
JEFE DE ENSEÑANZA MÉDICA

DRA. en C. MARGARITA VALDÉS FLORES

PROFESOR TITULAR

DRA. EN C. MARGARITA VALDÉS FLORES

ASESOR CLÍNICO

DRA. EN C. MARGARITA VALDÉS FLORES

ASESOR METODOLÓGICO

AGRADECIMIENTOS:

A mis padres: por su apoyo y ser ejemplo a seguir durante toda mi vida.

A mi esposa: por creer en mi, en mis planes y en mis proyectos. Por su apoyo desde la distancia, manteniendo a salvo a lo máspreciado de mi vida, mis hijos.

A mi hermana que siempre me provoca una sonrisa cuando pienso en ella.

A mis maestros por compartir sus experiencias y conocimientos.

A mi asesora y profesora titular que nunca me ha dejado de apoyar.

A mis compañeros por su amistad en especial a Ara, que me ha animado cuando lo he necesitado.

A todas las personas que me han dejado sus enseñanzas, buenas y malas.

DEDICATORIA

A mis hijos

A mis padres

A mi esposa

A mi familia

ÍNDICE

	CONTENIDO	PÁGINA
I.	ANTECEDENTES	7
II.	JUSTIFICACIÓN	42
III.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	43
IV.	HIPÓTESIS	43
V.	OBJETIVOS	43
VI.	TIPO DE INVESTIGACIÓN	43
VII.	UNIVERSO DE TRABAJO	44
VIII.	VARIABLES DE ESTUDIO	46
IX.	PROCEDIMIENTO	47
X.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	48
XI.	RESULTADOS	49
XII.	DISCUSIÓN	51
XIII.	BIBLIOGRAFÍA	55

I.- ANTECEDENTES

El hueso es un órgano metabólicamente muy activo y se encuentra en constante remodelación la cual se encuentra regulada por múltiples factores locales y sistémicos,. Cumple con funciones tanto estructurales (movimiento, respiración y protección de órganos internos) como metabólicas (almacena calcio, fosforo y carbono; disminuye el daño por intoxicación al retener toxinas y metales pesados) (Seeman E, 2006).

Desarrollo Óseo

Los procesos de diferenciación celular que dan lugar al hueso son reguladas por los genes que crearán el patrón de la estructura ósea en forma de cartílago y el mesénquima para luego reemplazarlos con hueso a través de la diferenciación de los osteoblastos. Estos procesos se encuentran regulados por diversos genes entre ellos los de la familia de los genes homeóticos. Por otro lado, la vía de señalización Notch permite la proliferación de condrocitos y la diferenciación en hueso, mientras que la expresión de PTHrP (péptido relacionado con la hormona paratiroidea) y IHH (Hedgehog Indios) permite la regulación de la placa de crecimiento de cartílago. Tenemos además a las BMP's (proteínas morfogénicas de hueso) las cuales también participan en la formación de hueso, mientras que la señalización por VEGF (factor de crecimiento vascular endocondral) da lugar a la formación de vasos sanguíneos lo que favorece que el cartílago y posteriormente el tejido óseo estén altamente vascularizados (Wellik DM, 2003).

La diferenciación de los osteoblastos esta dada por la expresión de factores de transcripción específicos que transforman el cartílago en hueso (RUNX-2, SP7). (T.Komori, 2010), mientras que la vía de señalización Wnt (Wingless) regula el desarrollo esquelético estimulando la expresión del gen RUNX2 y de otros genes reguladores (Catenina beta, BMP-2). La vía Wnt es activada por el receptor de LRP5 dando lugar a la formación de

hueso y disminuyendo su reabsorción, aumenta la producción de Osteoprotegerina y disminuye la adipogénesis. (Gaur T, 2005). En los osteocitos la Esclerotina (regulador negativo del hueso) se puede unir a LRP5, así como otras proteínas solubles, pueden unirse a ligandos de Wnt impidiendo la activación de la vía. Cualquier alteración en la vía de señalización Wnt puede producir cambios en la homeostasis esquelética (SM, 2005).

Tipos de Hueso

Durante la vida fetal sucede el reemplazo de cartílago por hueso, posteriormente, durante la niñez y la adolescencia se presenta el crecimiento óseo con formación de hueso nuevo y remodelación del hueso viejo.

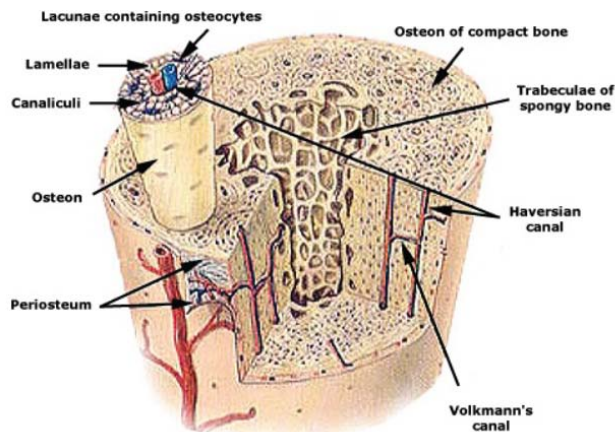
Existen dos tipos de hueso de acuerdo a su desarrollo:

- Un primer hueso formado del mesénquima que sucede durante el desarrollo temprano así como durante la reparación rápida (presenta un patrón desorganizado de fibras de colágena).
- Un segundo hueso bien conformado, el hueso laminar (capas organizadas y sucesivas de colágeno).

En el adulto existen dos tipos variedades (figura 1):

- **Hueso cortical.**- El cual es denso y compacto, se encuentra en la parte externa de todas las estructuras esqueléticas y se dispone en laminas circulares concéntricas “osteonas”. Estas incluyen el 80% del esqueleto y brindan resistencia mecánica y protección.
- **Hueso trabecular o esponjoso.**- Se encuentra dentro de huesos largos (en especial en los extremos, es más activo metabólicamente aunque también sirve como soporte mecánico (vértebras).

FIGURA 1. Hueso Cortical y Hueso Trabecular

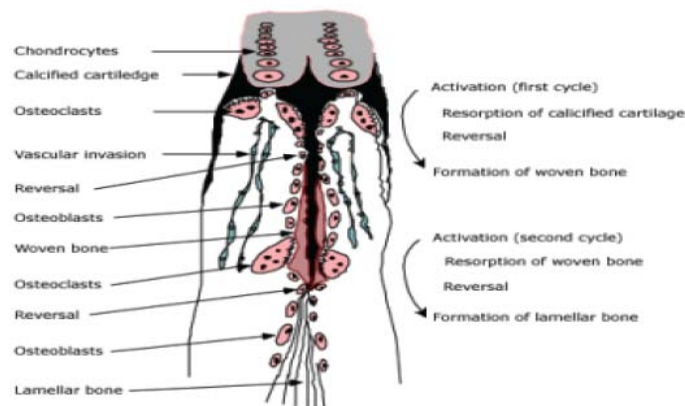


Fuente: US National Cancer Institute's Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER) Program.

Modelado

Durante éste proceso, se produce el crecimiento del esqueleto y los cambios en la forma del hueso. El crecimiento lineal que ocurre durante la niñez y la adolescencia es promovido mediante el crecimiento del cartílago en los discos de crecimiento seguida por la formación endocondral del hueso (figura 2), mientras que, la oposición de endostio aunado al engrosamiento trabecular da lugar al pico de masa ósea (momento con máxima masa esquelética y mayor resistencia), por otro lado el ancho de los huesos aumenta por sobreposición perióstica (acompañado de reabsorción de endostio que produce aumento de la cavidad medular de forma secundaria) (E., 2003).

Figura 2.- Formación de Hueso Endocondral



Representación esquemática de la formación de hueso endocondral. La fase inicial de crecimiento ocurre con la replicación de condrocitos hipertróficos. El cartílago se calcifica y posteriormente es reabsorbido parcialmente por osteoclastos. Las espículas de cartílago restante son fortalecidas con la formación de tejido óseo. Éste primer tejido esponjoso es removido por un segundo ciclo de remodelación, dando lugar a la formación de hueso laminar de tejido esponjoso secundario, el cual puede ser nuevamente remodelado.

Fuente: Baron R. Anatomy and ultrastructure of bone. Primer on the Metabolic Disease en Disorders of Mineral Metabolism, 1993.

Remodelación

Este proceso se inicia de manera temprana durante el desarrollo del esqueleto y la mayor parte del esqueleto consiste de hueso remodelado en unidades estructurales ósea “unidades de remodelación” (BSU) (Li X, 2005). Por otro lado, la remodelación endocondral convierte las espículas débiles de cartílago calcificado en hueso trabecular fuerte.

Estas BSU pueden estar compartimentadas:

- En las superficies del hueso trabecular, estos consisten en placas irregulares, produciendo hendiduras (lagunas de Howship) que son llenados por hueso nuevo.

En el hueso cortical, la unidad estructural del hueso es el osteón, un cilindro de hueso formado por los osteoblastos después de que los osteoclastos formaron un túnel en la corteza para formar un canal de Havers.

La remodelación Haversiana ocurre en la corteza de huesos largos y es necesaria para mantener la vitalidad celular cerca de la superficie del hueso. Este tipo de remodelación se utiliza para la reparación de daños por fatiga del esqueleto.

Ciclo de Remodelación Ósea

Inicia con la activación mediada por células de linaje osteoblástico (osteocitos, células de revestimiento, pre-osteoblastos en médula). (van Bezooijen RL, 2007). Éstas células son capaces de cambiar de forma, secretan colagenasas y otras proteínas y expresan además a *RANKL* (ligando del receptor activador del NF kappa B) ó factor de diferenciación de osteoblastos (Diarra D, 2007).

Receptor Activador del Factor Nuclear kappa B (RANK)

Este factor, interactúa con el receptor de precursores de osteoclastos. La interacción RANK/RANKL da lugar a la activación, migración, diferenciación y fusión de células hematopoyéticas (linaje de osteoclastos).

RANKL

Este ligando, se puede unir a la proteína osteoprotegerina (OPG) (producida por osteoblastos) con funciones reguladoras en el ciclo de remodelación (Bodine PV, 2007).

Ciclo de Remodelación (figura 3)

Tiene 3 fases:

- Reabsorción osteoclástica

Duración: 2 semanas aproximadamente

Inicia con la migración de pre-osteoblastos mononucleares parcialmente diferenciados, posteriormente en la superficie del hueso se unen formando osteoclastos multinucleados. Estos osteoclastos son capaces de remover minerales a una profundidad limitada (Almeida M H. L.-M., 2007).

- Inversión

Duración: 4 a 5 semanas

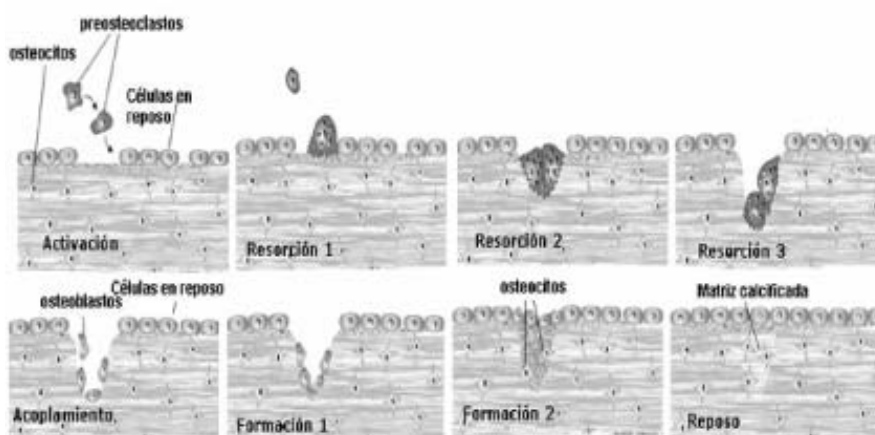
En este proceso, las células mononucleares aparecen en la superficie del hueso preparando la superficie para los osteoblastos con línea de “cemento” (capa rica en glicoproteínas). En este proceso la osteopontina resulta una proteína en el cual las células en el sitio de inversión producen señales para la diferenciación y migración de osteoblastos (Almeida M A. E., 2009).

- Formación

Duración: 4 meses

Aquí se observan oleadas sucesivas de osteoblastos hasta que el hueso reabsorbido es reemplazado volviéndose a formar completamente la unidad estructural seguido de un estado de reposo.

Figura 3.- Ciclo de Remodelación Ósea



Representación del ciclo de remodelación ósea. El ciclo de remodelación inicia con la activación mediada por células de linaje osteoblástico seguido de tres fases: resorción; inversión y formación. La resorción osteoclástica puede iniciar con la migración de preosteoclastos mononucleares parcialmente diferenciados a la superficie ósea, los cuales se desplazan para formar osteoclastos grandes y multinucleados. Los osteoclastos remueven mineral y matriz limitándose a cierta profundidad en la superficie trabecular o dentro del hueso cortical. Después que la resorción osteoblástica se concluye, se presenta la fase de inversión en la cual células mononucleares (línea monocitos-macrófagos) aparecen en la superficie ósea. Éstas células preparan la superficie con la llamada “línea de cemento” con la cual los nuevos osteoblastos pueden adherirse. La Osteopontina puede ser la proteína clave en éste proceso. En la siguiente fase de formación, hay sucesivas ondas de osteoblastos restableciendo las unidades óseas hasta que el hueso es completamente reemplazado por nuevas unidades estructurales. Cuando esta fase termina, la superficie es cubierta con células planas comenzando un periodo largo de reposo con poca actividad celular hasta que una nueva remodelación inicia.

Fuente: Reynaga Belem, Marcadores bioquímicos del remodelamiento óseo. Utilidad clínica. Acta Bioquím Clín Latinoam 2009

Modelación Normal y Remodelación Ósea Anómala

En el hueso de adultos normales los procesos de reabsorción y remodelación ósea están íntimamente acoplados y equilibrados dando lugar a una proporción igual entre la cantidad de hueso formado (unidades estructurales óseas -BSU-) y la cantidad de tejido que se reabsorbe, en este proceso participan varios factores de crecimiento, entre ellos TGF beta. En este caso, las BSU corticales (Osteon) son relativamente uniformes en tamaño y forma, no así las BSU trabeculares, las cuales varían en tamaño (sin embargo esto no propicia inestabilidad) (Manolagas SC, 2007).

Remodelación Patológica

En ésta ocurre pérdida de hueso a través de varios mecanismos, entre ellos:

1.- Reabsorción excesivamente profunda; en la cual ocurre una pérdida completa de estructuras trabeculares (sistema con apariencia en barras discontinuas muy inestable).

2.- Aumento en el área de reabsorción y aumento en el número de sitios de reabsorción por aumento en la frecuencia de activación; en éste caso, los osteoblastos son incapaces de rellenar la cavidad (BSU incompleta) dando lugar a paredes débiles de hueso trabecular. Esto puede ocurrir por defectos en osteoblastos o bien por una vida media de los osteoblastos muy corta (Hoogeboom D, 2009).

El aumento en la densidad ósea puede producirse por:

- Aumento en la estimulación para formar hueso (se ha observado en el caso de mutaciones en los genes de la vía Wnt).

- Reabsorción patológica (ésta produce huesos densos -como en la osteopetrosis y hematopoyesis deficiente) y se presenta cuando existe función anormal de los osteoclastos por defectos en:

La subunidad de protones específica de osteoclastos *TCIRG1*. Mutación más común ligada a osteopetrosis en humanos.

Mutaciones en el canal de cloro específico de osteoclastos *CLCN7*

Mutaciones en la proteína transmembrana 1 asociada a Osteopetrosis *OSTM-1*.

Involucrada en la vía de señalización Wnt.

Mutaciones en el gen de la Anhidrasa carbónica II *CAII*

Mutaciones en el miembro 11 de la Superfamilia TNF *TNFSF11 (RANKL)*. Produce una forma de Osteopetrosis pobre en osteoclastos (Takayanagi H, 2002).

Osteoblastos

Éstos se derivan de células madre del mesénquima pluripotenciales.

Existen dos tipos:

- Preosteoblastos
 - Presentan un patrón temporal de síntesis de colágena y fosfatasa alcalina seguido de osteocalcina.
- Osteoblastos diferenciados
 - Los cuales expresan genes de Colágena, Fosfatasa alcalina, Osteocalcina, Osteopontina y Sialoproteína ósea. Estos permanecen en la superficie ósea, sufren apoptosis y algunos quedan atrapados en la matriz ósea convirtiéndose en osteocitos (células más abundantes del hueso). Son heterogéneos según la fase rápida o lenta de formación de hueso.
 - Tienen receptores para factores que controlan la remodelación ósea y el crecimiento óseo (Hormona paratiroidea -PTH-, Calcitriol, Glucocorticoides, etc.). Producen Prostaglandinas, IL-6, IGFs, IGF-BPs, BMP,

FGF, PDGF y factores de crecimiento vascular-endotelial (Xiong J, 2011)
(Kearns AE, 2008).

Osteoclastos

Esta estirpe celular se deriva de las unidades formadoras de colonias de Monocitos-Macrófagos CFU-GM que forman progenitores osteoclásticos en médula ósea, bazo y circulación (Lee NK, 2005).

Su formación requiere:

- Interacción de células de linaje osteoblástico (mediada por RANK/RANKL)
- La presencia de M-CSF producido por osteoblastos (para iniciar la diferenciación osteoclástica) (Kim MS, 2010).

Los osteoclastos son células grandes, multinucleadas, con vida media de tres a cuatro semanas, se agrupan en la superficie ósea (lagunas de Howship) o perforando hueso cortical (canales de Haversian). Éstas células disuelven minerales, degradan matriz ósea y presentan diferenciación funcional según la expresión de genes en el medio local. Es importante señalar que existen factores que previenen la promoción de osteoclastogénesis como la osteoprotegerina e IL-18.

Bioquímica de la Matriz Mineral Ósea

Está compuesta por matriz de colágena tipo 1 (90%), forma depósitos laminares unidos por enlaces múltiples (Piridinolinas) en los que se deposita calcio y fosforo (Hidroxiapatita). Contiene además una matriz de proteínas no colágenas (proteínas que se unen al calcio y proteínas que se unen al calcio y a la colágena) (Grigoriadis AE, 1994).

Regulación del Metabolismo óseo

- Regulación sistémica
 - Principalmente por hormonas reguladoras del calcio (PTH, Calcitriol, Calcitonina)
 - Otras hormonas (GH, Glucocorticoides, tiroideas y sexuales)
- Regulación local (prostaglandinas, TGF beta, BMP, citosinas)

Hormona Paratiroidea (PTH)

Regulador más importante de la homeostasis del calcio. Mantiene las concentraciones de calcio estimulando la reabsorción ósea, elevando la reabsorción de calcio tubular renal y aumenta la producción renal de calcitriol. Presenta diferentes efectos según la concentración y la temporalidad de su administración (Nakamura T, 2007).

Calcitriol (1,25 dihidrocolecalciferol, vitamina D3)

Aumenta la absorción intestinal de calcio y fósforo, puede estimular la reabsorción ósea en casos de deficiencia de minerales (Martin-Millan M A. M., 2010).

Hormona de Crecimiento e IGFs

Induce el crecimiento de cartílago en los discos de crecimiento, inducen la formación ósea endocondral.

Glucocorticoides

Estimulan e inhiben efectos en las células óseas.

Son esenciales para la diferenciación de osteoblastos, sensibilizan a los reguladores de la remodelación ósea (IGF-1 y PTH).

Inhiben la formación de hueso mediante la inducción acelerada de apoptosis de osteoblastos y osteocitos (Mentaverri R, 2003).

Hormonas Tiroideas

Estimulan tanto la resorción como la formación ósea. En el hipertiroidismo aumenta la remodelación ósea.

Hormonas Sexuales

- Estrógenos
 - Disminuyen la remodelación inhibiendo la resorción ósea, provocan el cierre de epífisis en ambos sexos e influyen en la expresión de factores locales (Little RD, 2002).
- Andrógenos
 - Pueden estimular la formación ósea por efecto directo o indirecto (a través de efectos en el músculo adyacente).

Osteoporosis

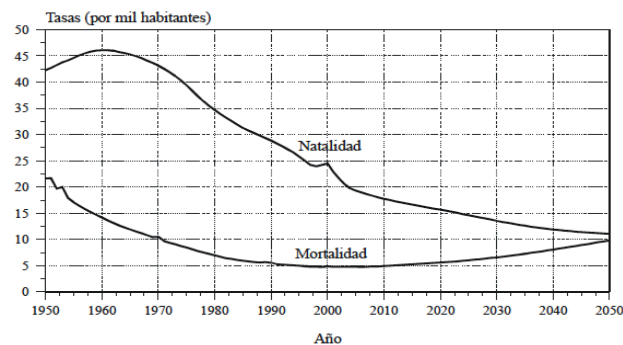
La osteoporosis (OP) es un desorden esquelético caracterizado por baja masa ósea con alteraciones en la microarquitectura, lo que favorece fragilidad del tejido óseo y mayor riesgo de fracturas (Manolagas, 2000).

Epidemiología

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera a la OP el quinto problema de salud pública en el mundo. Este desorden está presente en 44 millones de norteamericanos, lo que representa el 55% de la población de 50 años o mayor (NOF, 2002). En México se estima que 2.1 millones de personas mayores de 60 años tienen OP y 1.4 millones presentan osteopenia (figura 4). Es importante mencionar que se espera que el número de

habitantes mayores de 65 años aumente a 15 millones para el año 2030 y a 28 millones para el año 2050, esto se traduce en un aumento considerable en el número de individuos afectados por enfermedades crónico degenerativas como la OP (Asociación mexicana de metabolismo óseo y mineral., 2001) (Delezé M, 1997).

Figura 4.- Transición Demográfica
Gráfica 9. Transición demográfica de México, 1950-2050



Fuente: Estimaciones del CONAPO.

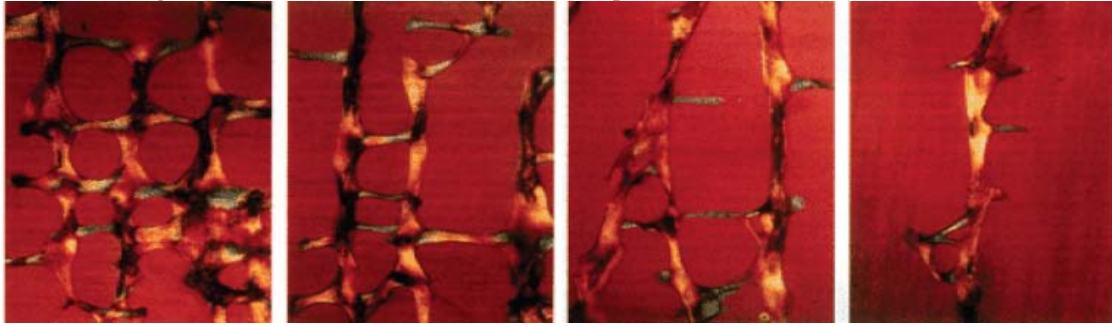
Fracturas

En EUA ocurren 1.5 millones de fracturas por fragilidad cada año; 700,000 son fracturas de columna y 300,000 son fracturas de cadera. Las fracturas de columna y cadera se asocian a dolor crónico, deformidad, depresión, inestabilidad y muerte además de que el 50% de los pacientes con fracturas de cadera no vuelven a deambular sin asistencia y el 25% de ellos requieren de cuidados a largo plazo. (Burge R, 2007). Debemos señalar que la tasa de mortalidad a 5 años después de una fractura de cadera o vertebral es del 20%. (Riggs BL, 1995). Por otro lado, el costo directo por las fracturas consecuencia de OP en EUA es de 12 billones de dólares por año (2001) (Cooper C, 1993).

Patogénesis de la Osteoporosis

La microarquitectura ósea anormal es una característica que distingue a la OP de otras entidades en las que se presenta baja masa ósea. Estos cambios en la *microarquitectura* se deben a un aumento en la remodelación ósea, la presencia de microfracturas y daño por fatiga con excesiva pérdida de estructuras trabeculares (Duncan EL, 2011).

Figura 5.- Pérdida de Hueso Trabecular por Efecto del Envejecimiento



Pérdida secuencial de trabéculas mostrada mediante examen histológico de tejido óseo. 1 cuadro: hombre normal de 50 años con una red trabécula continua. 2º cuadro: hombre de 58 años con adelgazamiento de las trabéculas horizontales y algunas pérdidas de continuidad. 3er cuadro: hombre de 76 años con adelgazamiento de trabéculas horizontales y gran separación entre las verticales. 4º cuadro: mujer de 87 años con pérdida importante de la red trabecular soportada únicamente por trabéculas verticales. El 3º y 4º cuadro representan el grado de pérdida de masa ósea y deterioro de la microarquitectura que definen la osteoporosis.

Fuente: Mosekilde, Li, Bone 1988.

Disminución en la masa ósea

Esta puede ocurrir porque el pico de masa ósea es bajo, la resorción es excesiva o la formación ósea durante la remodelación está disminuida. (Looker AC, 2011), la edad y las alteraciones hormonales son factores patogénicos importantes (Wetzsteon RJ, 2011). Este pico de masa ósea está determinado por diversos factores, entre ellos se encuentran los factores genéticos, se considera que estos factores representan hasta el 40-80% de las diferencias en el pico de masa óseas, de la estructura y también del grado de remodelación del hueso. En la tabla 1 se muestran algunos de los genes implicados en el fenotipo óseo, los cuales se distribuyen a lo largo de todo el genoma humano.

Tabla 1.- Genes Involucrados en Fenotipo Óseo		
Gen	Comentario	
<i>VDR</i>	Receptor de vitamina D (1,25 dihidroxivitamina D3)	Genes involucrados en la vía endocrina de la vitamina D
<i>DBP</i>	Proteína de unión al sitio D del promotor de albumina (albumina D-box)	
<i>ESR1</i>	Receptor de estrógenos alfa	Genes involucrados en la vía endócrina de los estrógenos
<i>ESR2</i>	Receptor de estrógenos beta	
<i>ESRRA</i>	Receptor alfa relacionado con estrógenos	
<i>ESRRG</i>	Receptor relacionado a estrógenos gama	
<i>CYP19A1</i>	Citocromo P450, familia 19, subfamilia A, polipéptido 1	
<i>CYP17A1</i>	Citocromo P450, familia 17, subfamilia A, polipéptido 1	
<i>UGT2B17</i>	UDP Glucuronosiltransferasa, familia 2, polipéptido B17	
Vía de señalización Wnt/beta		
<i>LRP5</i>	Proteína 5 relacionada al receptor de lipoproteínas de baja densidad	Genes involucrados en la vía de señalización Wnt/beta Catenina
<i>LRP6</i>	Proteína 6 relacionada al receptor de lipoproteínas de baja densidad	
<i>LRP4</i>	Proteína 4 relacionada al receptor de lipoproteínas de baja densidad	
<i>SOST</i>	Esclerostina	
<i>DKK2</i>	Dickkopf homólogo 2 (<i>Xenopus laevis</i>)	
<i>FZD1</i>	Receptor 1 de familia rizado	
<i>SFRP1</i>	Proteína 1 secretada relacionado a rizado	
<i>SFRP4</i>	Proteína 4 secretada relacionado a rizado	
<i>WNT10B</i>	Familia del sitio de integración MMTV tipo sin alas, miembro 10B	
<i>WNT3A</i>	Familia del sitio de integración MMTV tipo sin alas, miembro 3A	
<i>CTNNB1</i>	Catenina, beta1	
<i>APC</i>	Proteína de colon polipósico adenomatoso	
<i>FOXC2</i>	Proteína con cabeza de asa Box C2	
Vía RANK/RANKL/OPG		
<i>OPG</i>	<i>TNFRSF11B</i>	Genes relacionados con la vía RANK
<i>RANK</i>	<i>TNFRSF11A</i>	
<i>RANKL</i>	<i>TNFRSF</i>	
Superfamilia del factor de crecimiento transformante beta (TGF beta)		
<i>TGFB1</i>	Factor de crecimiento transformante beta 1	Genes de la superfamilia del Factor de Crecimiento Transformante beta (TGF beta)
<i>BMP2</i>	Proteína morfogénica de hueso 2	
<i>BMP4</i>	Proteína morfogénica de hueso 4	
<i>BMP7</i>	Proteína morfogénica de hueso 7	
<i>BMPRI1B</i>	Receptor de la proteína morfogénica de hueso 1B	
<i>SMAD6</i>	Familia SMAD miembro 6	
<i>TGFBR3</i>	Receptor III del factor de crecimiento transformante beta	
<i>SPTBN1</i>	Espectrina beta, no eritrocítico 1	

Fuente: Li WF, Hou SX, Yu B. Genetics of osteoporosis: accelerating pace in gene identification and validation. Hum Genet (2010) 127:249-285

Mecanismo de Pérdida Ósea en OP

Los mecanismos que participan en la pérdida ósea son:

Aumento en la resorción ósea (principal en OP) consistente con el patrón morfológico de pérdida de hueso trabecular y aumento en la porosidad cortical.

Aumento en la frecuencia de activación (de sitios de remodelación) donde la perforación de placas trabeculares provoca alteraciones de la estructura dando origen a la pérdida de andamios para formación de hueso nuevo con resultado de pérdida de hueso irreversible (Vanderschueren D, 1992).

Papel de las Hormonas en la OP

Los cambios en el ambiente hormonal están relacionados a la edad, la menopausia, el sexo, la homeostasis del calcio y la disponibilidad de las hormonas del crecimiento. De tal manera que, la deficiencia estrogénica en mujeres postmenopáusicas da lugar a un aumento en la resorción ósea por falta de inhibición de los osteoclastos que da lugar en aumento en la profundidad de la cavidad de remodelación, defectos en la formación de hueso nuevo y falta de repuesta anabólica a la carga mecánica. (Lee SK, 2006). Por otro lado, la deficiencia de andrógenos promueve la pérdida ósea con aumento en la remodelación y disminución en la formación (Schiessl H, 1998).

Citosinas Locales y Prostaglandinas en OP

Tanto la remodelación como la regulación de la estructura ósea están determinados por fuerzas locales (citosinas, prostaglandinas y GFs). En este caso, podemos mencionar que, la IL-1 y TNF alfa son potentes estimuladores de la resorción ósea e inhiben la formación de hueso. Su principal fuente son los macrófagos. (Almeida M A. E., 2009). Por otro lado, IL6, es la principal citosina producida por osteoblastos ya que aumenta la

osteoclastogénesis y la resorción ósea (principalmente por mecanismos dependientes de prostaglandinas). Es importante mencionar que, la producción de IL6 y sus receptores está regulada por hormonas sexuales, es por eso que, la deficiencia estrogénica se asocia a aumento de IL6, de tal forma que la expresión de IL6 (mRNA) está aumentada en humanos con OP, sin embargo su concentración sérica disminuye con la edad.

Otras citosinas que impactan sobre el metabolismo óseo son:

- IL7 aumenta la proliferación de células B provocando mayor pérdida ósea.
- IL4 e IL13 inhiben la resorción ósea (por disminución en la síntesis de prostaglandinas)
- Factores estimulante de colonias (CSF-1) y (M-CSF) son fundamentales para la activación de osteoclastos por citosinas.
- IL8 disminuye la osteoclastogénesis (por aumento de GM-CSF)

Prostaglandinas

- Prostaglandina E2.
 - Aumenta la resorción y la formación ósea.
 - Tiene participación en la respuesta esquelética a fuerzas mecánicas.
 - Su producción excesiva (en pacientes con deficiencia estrogénica) aumenta la resorción.
 - En los casos de deficiencia se impide la respuesta formativa a la carga mecánica.

Factores Locales de Crecimiento en OP

Dos de los factores de crecimiento producidos por células óseas que participan en la patogénesis de OP son; IGF y sus proteínas de unión ya que mantienen la diferenciación y función de osteoblastos. El factor de crecimiento similar a la insulina (IGF I y II), en este

caso, su disminución se relaciona al envejecimiento y su concentración es paralela a la disminución de la masa esquelética. Tenemos además a TGF beta/ familia BMP, los cuales son mitógenos y precursores de células óseas y participan en la diferenciación embrionaria.

TGF beta es abundante en el hueso, puede inhibir la resorción ósea (acelerando la apoptosis de osteoclastos) y es capaz de estimular su formación (estimulando la diferenciación de osteoblastos), sirve como factor de acoplamiento y parte del efecto protector estrogénico en contra de la pérdida ósea está mediado por TGF beta. De hecho, se sabe que la deficiencia de TGF beta puede originar OP (esto se ha observado en ratones ovariectomizados en donde ocurre deficiencia de proteínas de matriz ósea). En contraste, en humanos, la sobreexpresión de TGF beta en hueso origina OP severa.

Proteína Relacionada a PTH (PTHrP)

Esta se produce en el hueso y en las células de cartílago, siendo un importante regulador de la función durante el desarrollo de estos dos tejidos y también en la regulación local en hueso adulto. Es secretada por la glándula mamaria y tiene un papel en el aumento de la tasa de resorción y pérdida ósea en las mujeres que están lactando.

Factor de Crecimiento de Fibroblastos

- Es producido por células óseas y tejido conectivo. Su producción está regulado por PTH, Prostaglandina E2 y TGF beta. *In vivo* estimula la formación de hueso, *in vitro* disminuye la síntesis de colágena.

Actualmente el único marcador accesible para investigar la calidad ósea son los de la remodelación ósea, sin embargo, se encuentran en fase de análisis nuevas alternativas como son; (MICRO CT, técnicas de MR) para valorar la microarquitectura, se espera que

en poco tiempo se encuentren disponibles en el mercado. De momento, el análisis de DMO, es el mejor predictor del riesgo de fracturas (en ausencia de fracturas por fragilidad).

Evaluación de la Densidad Mineral Ósea

Absorciómetro de Rayos X con energía dual (DXA)

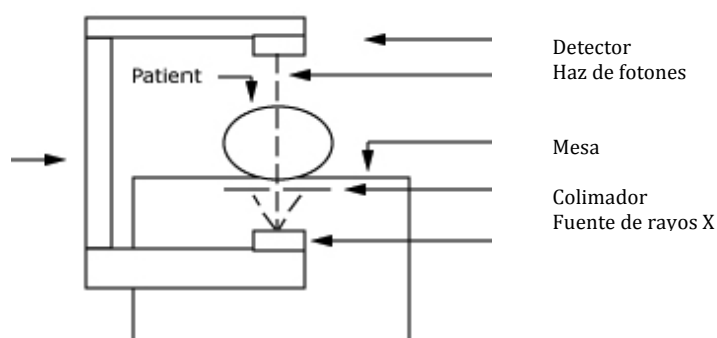
Es el mejor método para el diagnóstico de OP y para monitorear los cambios en DMO por las siguientes razones:

- Los estudios en biomecánica muestran amplia correlación entre la resistencia mecánica y la DMO medida por DXA.
- Estudios de Cohortes muestran fuerte correlación entre el riesgo de fractura y la DMO medida por DXA.
- Ensayos clínicos muestran disminución en el riesgo de fractura con tratamiento farmacológico basados en la medición de DMO medido por DXA.
- La exactitud y la precisión son excelentes; la exposición a radiación es muy baja.

Tecnología DXA

Esta tecnología consiste en una plataforma en donde se recuesta el paciente, un brazo móvil en forma de C, un tubo de rayos X debajo del paciente (que genera dos haces de fotones con un colimador) y un decodificador arriba del paciente (figura 6). Su principio es el siguiente: la diferencia en la atenuación de los dos haces de fotones durante su paso por el cuerpo permiten la cuantificación de la DMO.

Figura 6.- Sistema DXA típico



Fuente: Uptodate, Overview of dual-energy x-ray absorptiometry, 2010

El DXA evalúa:

El contenido mineral óseo (BMC) en gramos dividido entre el área del hueso (BA) en cm^2 lo que nos da una medición de la DMO en g/cm^2 . En donde el T-score. Es el valor usado para el diagnóstico de OP. Se calcula sustrayendo la DMO media (de la población joven adulta) de la DMO del paciente y dividida entre la SD de la población adulta joven. Mientras que el valor Z, se usa para comprar la DMO del paciente a la de sus iguales. Se calcula restando la DMO media (de una edad, etnia y sexo similar) menos la DMO del paciente entre la SD de la población de referencia. Es importante que las diferentes mediciones se realicen con un mismo equipo para evitar sesgos de medición (Njeh CF, 1999).

Indicaciones: los lineamiento de Fundación Nacional de OP (NOF) son la guía más completa y tal vez más útil en la práctica clínica (Shepherd JA, 2006).

Contraindicaciones: DXA no debe realizarse en mujeres que estén o puedan estar embarazadas. Las mediciones pueden no ser validas en situaciones que originan anomalías estructurales esqueléticas (osteoartritis, material quirúrgico, escoliosis etc.)

Selección del sitio esquelético. La OMS recomienda que el diagnóstico de OP debe hacerse usando mediciones de DXA en cuello de fémur (The National Osteoporosis Foundation).

La NOF y la ISCD sugieren que el diagnóstico de OP puede hacerse por DXA usando el T-score más bajo de columna lumbar (L1-L4), de fémur proximal total o de cuello femoral. También puede usarse el antebrazo midiendo el 1/3 del radio (Kanis JA M. E., 2008).

Valores de referencia. La base de datos de referencia para calcular Z score debe ser pareado con edad, etnia y sexo. Se recomienda el uso de NHANES III data-base para la medición del cuello femoral en mujeres caucásicas jóvenes adultas.

Diagnóstico de OP

El diagnóstico clínico de OP puede hacerse en presencia de fracturas por fragilidad (fractura que ocurre después de una caída estando en bipedestación desde la propia altura o una asociada a baja DMO que aumentan en incidencia con la edad) independientemente de DMO ó en presencia de DMO baja y factores de riesgo para fractura (terapia con glucocorticoides, hiperparatiroidismo).

La OMS ha establecido una clasificación de DMO de acuerdo al T-score (estándar mundial para el diagnóstico de OP). Seleccionó un T-score de -2.5 o menor para definir OP. (éste identifica aproximadamente el 30% de las mujeres caucásicas post-menopáusicas con OP y es también el riesgo estimado de fractura por fragilidad en ésta población a lo largo de su vida)

Tabla 2.- Categorías Diagnósticas de Osteopenia y Osteoporosis basado en la Medición de DMO por DXA	
Categoría	Masa Ósea
Normal	Valor de DMO dentro de 1 SD de la media de referencia de mujeres adultas jóvenes (T-score \geq o = a 1SD)
Osteopenia (baja masa ósea)	Valor de DMO $>$ a 1 pero $<$ de 2.5 SD debajo de la media de referencia de mujeres adultas jóvenes (T-score $<$ -1 y $>$ -2.5 SD)
Osteoporosis (OP)	Un valor de DMO de 2.5 o más SD debajo de la media de mujeres adultas jóvenes (T-score $<$ o = a -2.5)
Severa (OP avanzada)	Valor de DMO $>$ de 2.5 SD debajo de la media de mujeres adultas jóvenes en presencia de 1 o más fracturas por fragilidad.

Fuente: WHO, Assessment of osteoporosis at the primary health care level. Summary report of a WHO Scientific Group. 2007

Debemos mencionar que esta clasificación de la OMS no debe usarse en mujeres premenopáusicas sanas (la relación DMO y riesgo de fractura no se ha establecido). Se debe utilizar el Z-score (Baim S L. M., 2008).

Mediciones Seriales de la Densidad Mineral Ósea (DMO)

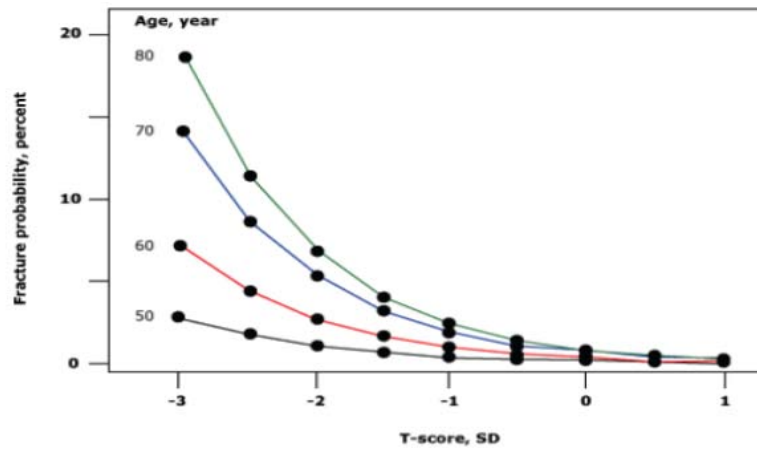
Se recomienda a pacientes que iniciaron tratamiento para OP y en pacientes que no han iniciado tratamiento y que la evidencia de pérdida ósea marcará la pauta para iniciar tratamiento. Se debe usar el mismo equipo y la comparación de la DMO debe realizarse en g/cm². El intervalo entre las mediciones seriales debe ser de 1 a 2 años después de iniciar el tratamiento farmacológico o cada 6 meses después de iniciar tratamiento con glucocorticoides (Kanis JA M. E., 2008).

Sitio esquelético monitor. El mejor sitio es el que responda rápidamente a la terapia (o la falta) y tenga un menor cambio significativo (LSC) bajo. Usualmente es la columna lumbar o en su defecto el fémur proximal.

Medición de la precisión. Usar el LSC a un nivel de confianza del 95% (usar los valores de error de precisión dados por el fabricante).

Interpretación. La pérdida de DMO (más que el LSC) pueden estar asociados a mala adherencia al tratamiento o a factores contribuyentes no identificados que requieren intervención adicional (NH., 1997).

Figura 7.- Probabilidad de Fractura a 10 años de acuerdo a DMO T-score y Edad



La relación entre DMO T score del cuello femoral, edad y la posibilidad de fractura de cadera en mujeres. La probabilidad de fractura de cadera por cada T-score dado es mayor con el aumento en la edad.

Fuente: Kanis, JA, Johell, O, Oden, A, et al. Ten year probabilities of osteoporotic fractures according to DMO and diagnostic thresholds. *Osteoporos Int* 2001.

Medición de fracturas vertebrales. Es un potente predictor de futuras fracturas en todos los sitios, son las fracturas por fragilidad más comunes pero 2/3 de ellas no se detectan clínicamente (Ferrar L, 2005).

Ultrasonido Cuantitativo (QUS)

Mide la transmisión del US a través de los huesos de las extremidades. No mide DMO. Los parámetros evaluados incluyen: la atenuación del US (BUA), la velocidad del sonido (SOS) y calcula valores como el índice de US cuantitativo (QUI) o índice de rigidez. Las ventajas potenciales del QUS comparado con DMO incluyen: menos costoso, portátil, no hay exposición a radiación. Las mediciones se hacen principalmente en el calcáneo (hueso principalmente trabecular semejante a las vertebrales). El QUS es un buen predictor de fracturas por osteoporosis, tan bueno como el uso de factores de riesgo clínicos en mujeres con riesgo de OP. QUS no puede ser usado para la clasificación diagnóstica, para el uso con FRAX o para monitorizar la respuesta al tratamiento (Melton LJ 3rd C. C., 2003).

Evaluación de factores de riesgo

La mayoría de las fracturas ocurren en individuos con osteopenia (T-score entre -1 y -2.5) (Siris ES, 2001). Varios de los factores de riesgo se hacen evidentes durante el interrogatorio y la exploración física. Todos juntos son predictivos para futuras fracturas de cadera, incluso en ausencia de una medición de DMO. (Miller PD B. S.-C., 2004). La edad avanzada y la historia personal de fracturas son dos de los más importantes factores de riesgo independientemente de la DMO. (NOF., 2002). Otros factores de riesgo incluyen: la terapia con glucocorticoides (con una relación dosis dependiente entre el uso crónico y el riesgo de fracturas) (Sambrook PN, 2011), historia de fracturas por fragilidad en parientes de 1er grado (aumentan 2 veces el riesgo de fractura de cadera en mujeres independientemente de la DMO) (Miller PD B. S.-C., 2004), bajo peso corporal (< 58kg) (posiblemente relacionado al pequeño tamaño de los huesos) (Center JR, 2007), la pérdida de peso después de los 50 años y aumento en la altura (aumenta el riesgo de fractura posiblemente por efecto en la fisiología ósea) (Hodsman AB, 2008), tabaquismo (se asocia con disminución en la DMO y está temporalmente relacionado con el aumento en el riesgo de fracturas) (Ensrud KE, 1997), consumo excesivo de alcohol (efecto dosis dependiente – más de 2 bebidas o 28gr de alcohol por día- aumenta el riesgo de fracturas) (Langlois JA, 1996).

Existen diversos padecimientos que pueden presentar disminución de la densidad mineral ósea y aumento en el riesgo de fractura, entre ellos están la mala absorción de nutrientes, excreción renal de calcio o efecto directo de la terapia farmacológica, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad celiaca, fibrosis quística, hipertiroidismo previo, DM tipo 1 y 2 y enfermedad renal (en especial en estadios tardíos). Otros factores más incluyen la deficiencia de vitamina D, uso recurrente de órtesis para la marcha, fármacos (ansiolíticos, anticonvulsivos, antidepresivos y neurolépticos), demencia e historia personal de cáncer de mama. En la tabla 3 se resumen algunos de estos factores.

Tabla 3.- Factores de Riesgo Clínicos para Fractura por OP
Edad Avanzada
Fractura previa
Terapia con glucocorticoides
Historia familiar de fractura de cadera
Bajo peso corporal
Tabaquismo
Abuso en el consumo de alcohol
Artritis reumatoide
OP secundaria (hipogonadismo o menopausia prematura, malabsorción enfermedad hepática crónica, enfermedad inflamatoria intestinal, etc)

Fuente: Kanis, JA, Borgstrom, F, De Laet. C et al. Assessment of fracture risk. Osteoporosis International 2005

Diagnóstico y Prevención de OP

La resistencia ósea refleja la integración de la densidad ósea y la calidad ósea. En ausencia de una fractura por fragilidad, la DMO por DXA es la herramienta clínica para el diagnóstico de OP (La DMO de -2.5 SD o menor de la media de la población de referencia de jóvenes adultos → T-score de -2.5 o menor → Dx OP). (WHO., 1994). Si la DMO disminuye, el riesgo de fractura aumenta (sin que exista un umbral), por cada SD que disminuye la DMO en cadera, se incrementa 2.6 veces el riesgo de fractura de cadera (Marshall D, 1996).

Prevención de la OP y de la Osteopenia

En la OP al igual que en otras entidades, las medidas preventivas son sin duda la mejor alternativa ya que los cambios asociados al deterioro de la microarquitectura son irreversibles, de hecho, el tratamiento es incapaz de restaurar completamente la cantidad y resistencia ósea previa.

La prevención se dirige a los siguientes puntos:

- Maximizar el pico de masa ósea (PBM).- máximo de masa ósea adquirido durante la vida, ocurre en la 3ª década de la vida con diferencias en el tiempo debido a

variables genéticas y hormonales, así como al sitio esquelético (tipo de hueso) y método de medición (Heaney RP, 2000).

- Minimizar la tasa de pérdida ósea.

La DMO en adultos está determinado por PBM y la tasa de pérdida de hueso. El 60 a 70% de la variabilidad en la magnitud del PBM está determinado genéticamente (expresado fenotípicamente como etnia, sexo y masa corporal). El 30 al 40% de la variabilidad se relaciona a factores ambientales (dieta, ejercicio, hábitos, enfermedades intercurrentes y consumo de medicamentos). Los factores asociados a baja DMO son el tabaquismo, un IMC bajo y ser caucásicos o asiáticos (Pocock NA, 1987).

Figura 8.- Fases de Integración y Pérdida de Masa Ósea en Mujeres

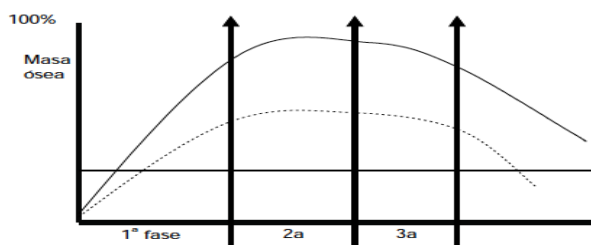


Figura 2. Fases de integración y pérdida de masa ósea en mujeres. La primera fase o fase de formación termina cuando cierran los cartilagos de crecimiento. La segunda fase o fase de consolidación o mantenimiento termina entre los 30 y 40 años; después inicia la fase de pérdida lenta en hombres y mujeres, pero al llegar la menopausia, en la mujer, se inicia una fase de pérdida rápida. La línea delgada esquematiza la evolución de la masa ósea de una mujer, que por factores genéticos y ambientales alcanzó un pico óptimo de masa ósea, de tal manera que, en la fase de pérdida rápida que tiene una duración de 4 a 8 años, quizá no alcance una masa ósea tan baja que llegue a tener riesgo de fractura. La línea gruesa representa el umbral de riesgo de fractura. En la línea punteada se esquematiza la masa ósea de una mujer que no alcanzó un pico de masa ósea óptimo en sus fases de formación y consolidación y que por tanto, al llegar a las fases de pérdida lenta y rápida, inmediatamente alcanza una masa ósea tan baja que le representa un riesgo alto de fractura.

Fuente: Albarrán. Osteoporosis Posición de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología. Revista de Endocrinología y Nutrición 2004

Medidas terapéuticas en osteoporosis

Terapia no farmacológica

Las intervenciones para optimizar el PBM y la salud esquelética se orientan al estilo de vida saludable (especialmente durante los años de formación de hueso). Se ha dividido en categorías:

- Nutrición.- ingesta de calcio y vitamina D.
- Actividad física.- ejercicios de alto impacto. Cuando el ejercicio es excesivo, la nutrición pobre y poca grasa corporal se llega al estado de la triada del atleta donde existen: desordenes alimentarios, amenorrea y OP (NH, 2002).
- Factores del estilo de vida.- tabaquismo, ingesta de alcohol excesiva y consumo de fármacos (glucocorticoides y anticonvulsivos) (Services., 2004).

En la tabla 4 se muestran algunas de las recomendaciones con relación al estilo de vida y prevención de OP.

Tabla 4.- Recomendaciones en el Estilo de Vida para la Salud Ósea			
Edad	Calcio mg/d	Vitamina D IU/d	Actividad Física
0-6 meses	210	400	Juego interactivo
6-12 meses	270	400	
1-3 años	500	400	Actividad moderada a vigorosa al menos 60 min por día
4-8 años	800	400	
9-18 años	1300	400	
18-50 años	1000	400	Actividad moderada al menos 30 min por día
51-70 años	1200	400	
>70 años	1200	600	

Fuente: US Department of Health and Human Service, Office of Surgeon General, Rockville, MD 2004

Pérdida Ósea

Minimizar la pérdida ósea

El uso de calcio y vitamina D, aumenta la DMO y disminuye el riesgo de fractura, la ingesta diaria recomendada de calcio elemental en mujeres post-menopáusicas es de 1,200mg y el recomendado de vitamina D es de 400 a 800UI (NOF, 2008).

Por otro lado, sin duda la actividad física con carga mejora la DMO en mujeres pre y postmenopáusicas así como el tono muscular, disminuyendo el riesgo de caídas (AC, 2003).

Terapia Farmacológica

Está diseñada para minimizar la pérdida ósea.

La FDA distingue entre fármacos aprobados para la prevención de OP y los dirigidos al tratamiento de OP (Felson DT, 1995).

Tratamiento farmacológico preventivo

Está dirigido a mujeres ambulatorias de 1 a 2 años de postmenopausia u ovariectomía con aumento de FSH y disminución del estradiol sérico; de 45 años o mayor y sin OP (definida por la FDA con un T-score lumbar de -2 o menor y/o 1 o más fracturas por fragilidad de columna).

Los fármacos actualmente aprobados para prevenir la OP por la FDA son:

Estrógenos, Alendronato, Risedronato, Ibandronato y Raloxifeno.

En mujeres candidatas a iniciar tratamiento farmacológico preventivo se sugiere usar Raloxifeno o un bifosfonato oral como primeras opciones.

- Estrógenos

La Women's Health Initiative (WHI) ha mostrado que los estrógenos conjugados equinos (CEE) a 0.625mg/día con o sin acetato de Medroxiprogesterona (MPA) 2.5mg/día disminuyen el riesgo de fractura en mujeres post-menopáusicas. Los estrógenos deben usarse para la prevención de OP postmenopáusica sólo si existe un alto riesgo de fractura y no toma otra medicación no estrogénica (Rossouw JE, 2002).

- Bifosfonatos

Son potentes anti-resortivos óseos. Aumentan la DMO y disminuyen el riesgo de fractura. Son usados en el tratamiento y prevención de OP a dosis reducida para éste último fin. El efecto adverso más común es el del Ácido Zolendróico IV que da lugar a una reacción de fase aguda (fiebre, cefalea, artralgia mialgia) (Cranney A, 2002).

Alendronato. Es eficaz en la prevención y tratamiento de OP. Aumenta la DMO en 1 a 4%. El efecto terapéutico desaparece rápidamente después de interrumpir su uso. Su

administración debe ser cuidadosa por su farmacocinética pues su absorción por VO es muy pobre (<1%). Como efecto secundario se presenta esofagitis en pacientes con ERGE así como a ligera toxicidad a nivel gastrointestinal.

Raloxifeno. Es un modulador selectivo del receptor de estrógenos (SERM). Aumenta la DMO y disminuye el riesgo de fracturas vertebrales y no vertebrales. Dosis 60mg/día. Consideraciones no esqueléticas: disminuyen el riesgo de cáncer de mama pero aumentan el riesgo de eventos trombo-embólico y bochornos.

Debe mencionarse que los fármacos aprobados para la prevención de la OP no han mostrado disminución en el riesgo de fractura en mujeres con postmenopausia temprana sin OP, por lo que las candidatas se determinan con mediciones de DMO con factores de riesgo. La NOF recomienda el tratamiento de pacientes con baja masa ósea si se estima que la probabilidad de fractura de cadera es > al 3% o el riesgo de una fractura osteoporótica >20% en 10 años.

Estrógenos y Receptores de Estrógenos

Los estrógenos son hormonas que tienen múltiples efectos en diversos procesos fisiológicos, los cuales están mediados por dos tipos de receptores, ER alfa y beta. Estas hormonas sexuales son producidas en los ovarios y glándulas suprarrenales, de ellos existen tres tipos principales: estrona, estradiol y estriol.

Tanto los estrógenos como sus receptores están involucrados en el desarrollo sexual, la función reproductiva, crecimiento y mantenimiento esquelético, funcionamiento del sistema cardiovascular y sistema nervioso; así como en procesos patológicos como el cáncer de mama, cáncer de endometrio y Osteoporosis. En mujeres sus tejidos blanco son: útero, vagina y glándulas mamarias; en hombres son: testículo, próstata y epidídimo (RefSeq).

Los efectos de los estrógenos en el esqueleto incluyen:

- Control de la maduración de la placa de crecimiento, cierre durante el crecimiento longitudinal del hueso.
- Regulación del metabolismo del hueso cortical y trabecular.
- Adquisición del pico de masa ósea.
- Regulación de la homeostasis esquelética en hombres y mujeres.
- Inhibición de la pérdida ósea

La acción de los estrógenos es tripartita, involucrando al receptor, su ligando y sus proteínas reguladoras y el complejo formado; ligando/receptor/efectores activan los siguientes procesos:

- Diferentes elementos de respuesta del DNA (activación transcripcional)
- Proteínas correguladoras de la magnitud de respuesta transcripcional
- Respuestas rápidas (no genómicas) de las células (flujos de calcio y activación de la vía MAP cinasa entre otros) (J.A. Katzenellenbogen, 1996).

Tabla 5.- Acción Tripartita Mediado por Receptores Hormonales Nucleares			
Interacciones			
Ligando	Receptor	Efector	
Naturales Artificiales	<ul style="list-style-type: none"> • Subtipos • Isoformas • Variantes (splicing) 	Elementos de respuesta en DNA Co-reguladores <ul style="list-style-type: none"> • Activadores • Represores Proteínas integradoras Otros TFs, ERs, TFs basales	Transcripción Otras acciones

Fuente: J.A. Katzenellenbogen, B.W. O'Malley, B.S. Katzenellenbogen. Tripartite steroid hormone receptor pharmacology: interaction with multiple effector sites as a basis for the cell and promoterspecific action of these hormones. Mol. Endocrinol. 1996

Receptores de Estrógenos

Los receptores de estrógenos (ER) pertenecen a la super-familia de receptores hormonales nucleares, familia de factores de transcripción activados por ligando. Existen dos tipos (alfa y beta) con varias isoformas.(RefSeq) Ambos receptores tienen alta homología, especialmente en los dominios de unión a DNA y a su ligando, difieren principalmente en su dominio N-terminal (solo son parecidos en un 18%), brindando

especificidad celular y génica, respondiendo a diferentes ligandos (B.S. Katzenellenbogen, 1997).

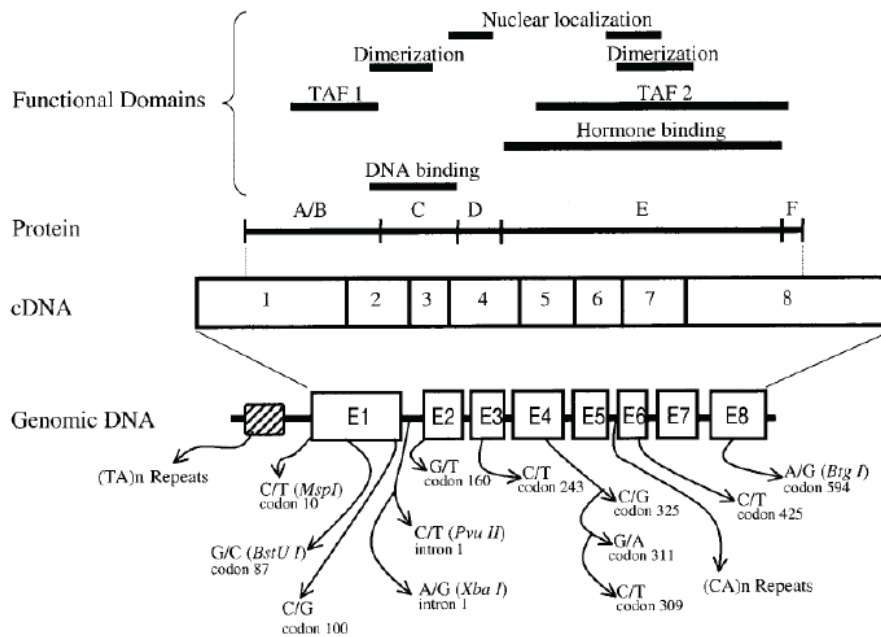
La actividad transcripcional de los ER depende en gran medida del contexto celular/promotor y la naturaleza del ligando. De hecho, la unión del ligando al ER provoca un cambio conformacional, permitiendo la dimerización espontánea dando lugar a homodímeros (principalmente) y heterodímeros. El ER como dímero se une entonces a los elementos de respuesta a los estrógenos (ERE). (RefSeq), cabe mencionar que de todos los estrógenos el estradiol es el mejor estimulador de los ERE (M.M. Montano, 1998).

El Receptor de Estrógenos alfa

El gen que codifica para el receptor alfa se conoce como *ESR1*, se localiza en 6q25, posee 8 exones, 7 intrones y 140kb y se expresa en osteoblastos, osteoclastos y células de médula ósea. (JE., 2001). Este receptor predomina en hueso cortical y es el principal receptor mediador del efecto estrogénico en hueso, tiene sin duda gran importancia en la regulación de la remodelación y mantenimiento óseo. En este gen se han identificado al menos 3 promotores así como varios sitios de inicio de transcripción. (Donaghue C, 1999).

La figura 9 muestra la estructura del gen *ESR1* y su producto.

Figura 9.- Estructura de los dominios funcionales y polimorfismos descritos en el gen *ESR1*. Los exones se representan como recuadros. TAF activador transcripcional.



Fuente: Donaghue C, Westley BR, May FE. Selective promoter usage of the human estrogen receptor- α gene and its regulation by estrogen. *Mol Endocrinol* 1999.

Diversos estudios del locus ER alfa han revelado la existencia de varios sitios polimórficos dentro del gen, los más ampliamente estudiados son los RFLPs *PvuII* (T397C) y *XbaI* (C351G) en el intrón 1 (Alelos *P* y *X* ausencia de sitios de restricción), alelos *p* y *x* (presencia de sitios de restricción) y una VNTR (TA)_n en la región del promotor. Estos polimorfismos se han asociado con varias condiciones patológicas como el cáncer de mama y cáncer de próstata, OP, AD y enfermedad cardiovascular (Zuppan PJ, 1989).

Polimorfismos tipo SNPs en el gen *ESR1* de interés en nuestro estudio

Se ha documentado la posible relación de los polimorfismos tipo SNP en el gen *ESR1* y el riesgo de OP en mujeres postmenopáusicas. Nosotros abordamos dos de estos polimorfismos tipo SNP en el gen *ESR1*: Rs2228480 en el exón 8 y Rs2234693 en el intrón 1 (figura 10).

Figura 10.- SNPs en *ESR1* Estudiados



(A) posiciones de los polimorfismos tipo SNPs en el gen *ESR1*. Los exones aparecen como cuadros negros y los intrones como líneas dobles. (B) Localización de los tres SNPs codificantes en los 6 dominios funcionales (A a F) en el gen *ESR1*.

Fuente: Long, H Xu, L-J Zhao, P-Y Liu, H Shen, Y-J Liu, D-H Xiong, P Xiao, Y-Z Liu, V Dvornyk, J-L Li, R R Recker, H-W Deng. The oestrogen receptor a gene is linked and/or associated with age of menarche in different ethnic groups. *J Med Genet* 2005

Tabla 6.- Estudios de Asociación
Estudios realizados en mujeres con OP y búsqueda de asociación con los
polimorfismos de interés en nuestro análisis.

Polimorfismo	Asociación	Resultados	Autores
Rs2228480 G2014A	Asociación de dos polimorfismos en el gen ESR1, un repetido en tándem TA y un SNP G2014A en el exón 8 en 140 mujeres mexicanas con y sin OP y confrontarlo con una muestra de población abierta de 500 individuos para buscar la frecuencia genotípica y alélica correspondiente a la población.	Con respecto al SNP G2014A se encontró que el alelo G (69.7%) y el genotipo GG (47.4%) eran predominantes en la población general y que el alelo G y el genotipo GG eran más altos en las mujeres con OP encontrando asociación entre el alelo G con OP ($p < 0.0001$) y un riesgo aumentado de presentar OP cuando se asocia al alelo G.	Gómez R, Magaña JJ, Cisneros B, Pérez-Salazar E, Faugeton S, Véliz D, Castro C, Rubio J, Casas L, Valdés Flores M. Clin Genet 2007
Rs2234693 PvuII	Se evaluaron variantes polimórficas tipo SNP en los genes <i>ESR1</i> y <i>ESR2</i> y la DMO de columna y cadera en mujeres de 4 etnias perimenopáusicas con una muestra de 1301 participantes del estudio SWAN (46+-2.6 años)	Las mujeres afroamericanas y japonesas con el polimorfismo PvuII con genotipo CC tuvieron una DMO de columna lumbar más alta que los del genotipo TT ($p=0.009$); para chinas y caucásicas no hubo significancia estadística asociado a la DMO lumbar con el SNP. No se estableció relación con la DMO de cadera con el polimorfismo. El hecho de que el reconocimiento de la secuencia por PvuII pueda ser alterado por otros SNPs puede explicar la falta de consistencia de los resultados reportados entre el ESR1 Rs2234693 y la DMO	Gail A. Greendale, MD, ^a Jian Chu, MS, ^b Robert Ferrell, PhD, ^c John F. Randolph, Jr., MD, ^d Janet M. Johnston, PhD, ^e MaryFran R. Sowers, AmJMed.2006
Rs2228480 G2014A	Se evaluaron 405 familias nucleares con 1,873 individuos caucásicos, 744 de ellos fueron mujeres (37+- 10 años), premenopáusicas (90%)	Se investigaron 7 SNPs en el gen ESR1. Se midió la DMO de columna lumbar y cuello femoral por DXA. Se encontró que la asociación entre el SNP Rs2228480 y la DMO no fue consistente. Las diferencia encontradas con otros estudios se atribuyen a la etnia, el tamaño de la muestra, el método de análisis y la estructura de la población.	Lan-Juan Zhao, Peng-Yuan Liu, Ji-Rong Long, Yan Lu, Fu-Hua Xu, Yuan-Yuan Zhang, Hui Shen, Peng Xiao, Leo Elze, Robert R. Recker, and Hong-Wen De Bone.2004
Rs2228480 G2014A	Se buscó la asociación en 228 mujeres tailandesas postmenopáusicas mayores de 55 años entre el SNP G2014A y OP	La muestra se dividió en 2 grupos, con OP n=106 y sin OP n=122. Se identificó al SNP por PCR-RFLP y se hizo el diagnóstico según la DMO de columna lumbar y cuello femoral por DXA. La frecuencia alélica del polimorfismo fue 26.4% en mujeres con OP y de 15.2% en mujeres sin OP ($p < 0.05$). se encontró un OR de 2.7 para el alelo A y OP. Ellos concluyen que el polimorfismo G2014 se asocia a la presencia y severidad de OP en mujeres posmenopáusicas.	Ongphiphadhana kul B, Chanprasertyothin S, Payattikul P, Saetung S, Piaseu N, Chailurkit L, Rajatanavin R. Ost Int. 2001

Diversas investigaciones han asociado a la variante Rs2228480 con los siguientes rasgos fenotípicos:

- Riesgo de cáncer tiroideo [PMID 19519176],

- Engrosamiento patológico de la íntima y media de la carótida en mujeres taiwanesas [PMID 19926619],
- Falla de la acción del mifepriston para inducir el aborto en el embarazo temprano [PMID 20046055],
- Riesgo de cáncer de próstata [PMID 19654868],
- Osteoartritis de rodilla en pacientes tailandesas [PMID 20128071],
- Riesgo de desarrollar procesos neoplásicos [PMID 20383761],
- Riesgo de cáncer de tracto biliar y cálculos biliares en una población en Shanghai [PMID 20172949],
- Correlación clínico-patológica en el cáncer de mama [PMID 20429621],
- Haplotipos relacionados a la esquizofrenia [PMID 18424448].

Mientras que la variante Rs2234693 se ha asociado con:

- Resultados favorables en la fertilización in vitro usando estimulación ovárica controlada [PMID 17540666].
- Riesgo mayor de desarrollar EVC isquémico en individuos alemanes [PMID 18309176].
- Esquizofrenia en afroamericanos [PMID 18424448].
- El uso de isoflavone y el riesgo de cáncer de mama en japoneses [PMID 19298602].
- La inducción de psicosis por el uso de metanfetaminas en japoneses [PMID 19386276].
- El riesgo de tromboembolia venosa durante la terapia con tamoxifen [PMID 19082882].
- Los efectos del envejecimiento en las características del hueso en mujeres sanas fértiles: estudio BONTURNO [PMID 19386104].
- Su asociación con el síndrome metabólico en mujeres [PMID 19032032].

- En variaciones en la densidad histológica durante la mamografía en mujeres perimenopáusicas [PMID 19630952].
- En la susceptibilidad a la migraña en población hindú [PMID 19673915].
- La falla de la terminación del embarazo temprano inducido por mifepriston [PMID 20046055].
- El riesgo de falla ovárica prematura y menopausia temprana [PMID 20095908].
- El riesgo de cáncer [PMID 20383761].
- El riesgo de cáncer de tracto biliar y litiasis vesicular en pobladores de Shanghai [PMID 20172949].
- La fertilidad en la endometriosis [PMID 20586553].
- La enfermedad de Alzheimer [PMID 20674091].
- La presencia de osteoartritis de rodilla en mexicanos [PMID 21445546].
- La susceptibilidad de cáncer de mama en población china [PMID 21528353].
- El desarrollo de episodios de depresión mayor [PMID 22051074].

II. Justificación

Actualmente, se considera a la OP como un problema de salud pública internacional y nacional. Esta problemática se acompaña de tasas elevadas de morbimortalidad que representa grandes costos económicos y sociales por lo que se considera una de las prioridades de investigación de nuestro sector salud. En México, como en otros países existe un incremento notable en la esperanza de vida de la población, sobre todo en las últimas cinco décadas, sin embargo, esto viene acompañado de una frecuencia mayor de enfermedades crónico-degenerativas como es la osteoporosis. Información del Consejo Nacional de Población estima que el número de individuos mayores de 65 años para el año 2050 será de aproximadamente 28 millones, por lo que debemos prestar atención a este nuevo panorama epidemiológico y acelerar las investigaciones con impacto en el nuevo conocimiento, el tratamiento y sobre todo la prevención oportuna de este tipo de enfermedades.

Por otro lado, a pesar de que la OP se considera un desorden multifactorial y poligénico, la mayoría de las investigaciones nacionales muestran orientaciones clínicas, epidemiológicas, y son pocas las investigaciones encaminadas a conocer el componente genético de esta enfermedad en nuestra población. Conocer las variaciones genéticas que presenta nuestra población nos permitirá con el paso del tiempo y otras investigaciones estructurar un perfil de riesgo genético de osteoporosis en nuestra población. Es posible que el nuevo conocimiento nos permita dirigir nuestra atención a nuevas investigaciones con utilidad terapéutica y sobre todo preventiva en esta enfermedad.

III. Planteamiento del problema

Identificar y analizar dos polimorfismos tipo SNP (Rs2234693, Rs2228480) en el gen del Receptor de Estrógenos alfa (*ESR1*) en una muestra de mujeres mexicanas con OP y sin fractura de cadera.

IV. Hipótesis

Es posible que las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos analizados sea diferente en las mujeres con fractura de cadera con relación a las mujeres sin fractura de cadera.

V. Objetivos

Objetivo General

Analizar dos polimorfismos tipo SNP (Rs2228480 en el exón 8 y Rs2234693 en el intrón 1) en el gen *ESR1* en una muestra de mujeres mexicanas con OP con y sin fractura de cadera.

Objetivo específicos

Identificar las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos estudiados en los dos grupos de estudio ya referidos y su relación con la presencia de fracturas de cadera.

VI. Tipo de investigación

Casos y controles

VII. Universo de Trabajo

Mujeres mexicanas mayores de 50 años de edad, procedentes del Instituto Nacional de Rehabilitación (consulta de osteoporosis, área de densitometría, urgencias y cirugía traumatológica). Las pacientes se capturaron en las áreas señaladas y a todas se les realizará una densitometría ósea de cadera para confirmar la presencia de OP. Posteriormente, se formaron los grupos de mujeres con y sin fracturas (casos y controles).

Grupos de estudio

Casos

Mujeres con fractura de cadera.

Criterios de Inclusión:

- 1.- Más de 50 años con antecedente de fractura de cadera.
- 2.- Que aceptaron participar en el estudio mediante consentimiento informado.

Criterios de eliminación:

- 1.- Mujeres con ingesta de fármacos que de alguna u otra forma repercuten sobre la densidad mineral ósea (anticonvulsivantes, corticoesteroides).
- 2.- Presencia de enfermedades óseas concomitantes (displasias óseas).
- 3.- Desórdenes de tipo hormonal y metabólico que afectan la densidad mineral ósea.
- 4.- Pacientes en quienes no fue posible la realización del 100% de las prácticas moleculares, requeridas para el desarrollo de la investigación.

Controles

Criterios de Inclusión:

- 1.- Más de 50 años sin historia de fractura de cadera y sin OP en esta región anatómica.

2.- Que aceptaron participar en el estudio mediante consentimiento informado.

Criterios de eliminación:

1.- Mujeres con ingesta de fármacos que de alguna u otra forma repercuten sobre la densidad mineral ósea (antincomiciales, corticoesteroides).

2.- Presencia de enfermedades óseas concomitantes (displasias óseas).

3.- Desórdenes de tipo hormonal y metabólico que afectan la densidad mineral ósea.

4.- Pacientes en quienes no fue posible la realización del 100% de las prácticas moleculares, requeridas para el desarrollo de la investigación.

Evaluación densitométrica

Se determinó por absorciómetro radiológico de doble energía con un equipo (HOLOGIC 2000). Ésta se realizará en cadera (cuello, trocánter, ángulo de Ward y total). Se obtuvieron datos de densidad mineral ósea en g/cm². La ausencia o presencia de OP se estableció con base en los criterios densitométricos establecidos por la OMS.

Identificación de factores de riesgo

Para este fin, en cada una de las mujeres con y sin OP se documentaron factores de riesgo relacionados con OP, para este fin se empleó un formato de recolección de datos que incluyó cuestionarios previamente validados en población mexicana.

Tamaño de muestra

En éste estudio el cual consideramos como piloto se estudiaron 124 mujeres con fractura de cadera y 90 mujeres sin fractura de esta región.

VIII. Variables de Estudio

Dependiente. Presencia o ausencia de fractura de cadera.

Escala: Nominal dicotómica

Independiente. Presencia o ausencia de la variación genética que caracteriza a los polimorfismos que se analizarán en *ESR1* (Rs//2228480 en el exón 8 y Rs2234693 en el intrón 1) Escala: Nominal dicotómica

IX.Procedimiento

Estudios Moleculares para la Identificación de los Diferentes Polimorfismos.

Obtención del DNA Genómico

Se trabajó a partir de muestras de sangre periférica de cada mujer, las cuales se procesaron por técnica de lisis y precipitación salina.

1. Se transfirieron 5ml de sangre periférica a un tubo cónico de 15ml y se agregó un volumen igual de amortiguador tris-tritón sacarosa (TTS) agitado por inversión.
2. Se centrifugó a 855 x g, 6min.
3. Se decantó el sobranete.
4. Se agregó al botón de leucocitos 1ml de amortiguador TTS, se agitó y resuspendió el botón, para después pasarlo a un microtubo de 1.5ml. Se agitó hasta homogenizar.
5. Se centrifugó a 15,633xg, 2min (se repitió 2 a 3 veces el paso 4).
6. Al botón limpio se le agregaron 570 µL de NaCl 5mM, se agitó 2min, se colocaron 30 µL de SDS al 10% y se agitó posteriormente 5min.
7. Se agregaron 200 µL de NaCl saturado y se agitó 10min.
8. Se centrifugó a 13,603xg, 15min a 4°C.
9. Se pasó el sobrenadante a otro microtubo limpio y se agregó un volumen de cloformo:isoamílico (24:1)
10. Se centrifugó por 1min a 13,603xg
11. Se colocó la parte superior (sin tomar la interfase) en un tubo de 13x100mm estéril. Se agregaron 2ml de etanol absoluto a -20°C, para precipitar el DNA.
12. Se agitó el tubo lentamente en forma circular.
13. Se dejó precipitando toda la noche a -20°C.

14. Se tomó el DNA con una varilla de vidrio y se lavó con etanol frío al 70%, se dejó evaporar el etanol en condiciones de esterilidad, posteriormente se resuspendió el DNA con agua estéril de acuerdo con el tamaño del botón.
15. Se colocó el tubo que contenía el DNA en baño María a 60°C durante 2hrs y posteriormente se guardó a -70°C hasta su uso.

Genotipificación

Para este fin y usando sondas TaqMan por PCR en tiempo real, los SNP's rs2234693 (C/T) y rs2228480 (G/A) localizados en el íntron 1 y el exón 8 respectivamente del gen ESR1. Las reacciones fueron efectuadas en placas de 48 pozos y la mezcla de reacción de 10µL/pozo contenía 2 ng de ADN genómico, 2.5µL de PCR Master mix que contiene Taq polimerasa AmpliTaq Gold, enzima UNG Amperasa, dNTP's con dUTP, referencia pasiva, buffer y MgCl₂, (Applied Biosystems); 0.125µL del genotyping Assay mix 20X que contiene los iniciadores y las sondas (Applied Biosystems) y agua estéril cbp 10µL. Las reacciones fueron realizadas en el equipo StepOne (Applied Biosystems, Foster city, CA, USA).

X. Análisis Estadístico

Las diferencias entre la distribución de los diferentes alelos genotipos de los diferentes loci entre los diferentes grupos y el equilibrio de Hardy-Weinberg se probaron a través de una prueba de chi cuadrada. Dado que no se detectaron diferencias estadísticas entre las frecuencias alélicas ni genotípicas en ningún polimorfismo no se determinó la razón de momios.

XI. Resultados

Considerando los criterios de inclusión ya establecidos, se capturaron 124 mujeres con antecedente de fractura de cadera y 90 sin historia de fractura de ésta región.

El promedio de edad del grupo de mujeres con fractura de OP en cadera fue de 76 años con un intervalo de 41 a 86 años; en el grupo sin historia de fractura fue de 50.6. En las tablas 7 y 8 se presentan las frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes analizadas.

Tabla 7.- Frecuencias alélicas y genotípicas en las mujeres con y sin fractura de cadera para variante Rs2234693				
Alelos	Mujeres con fractura de cadera		Mujeres sin fractura de cadera	
	Número	Frecuencia	Número	Frecuencia
C	76	30.6%	57	31.7%
T	172	69.4%	123	68.3%
Genotipos				
CC	13	10.5%	8	9%
CT	50	40.3%	41	45.5%
TT	61	49.2%	41	45.5%

Comparación entre alelos C vs T $X^2= 0.5$ p= 0.82

Comparación genotípica CC vs TT $X^2= 0.3$ p= 0.85

CC vs CT $X^2= 0.34$ p= 0.56

C+CC vs T+TT $X^2= 0.33$ p= 0.56

Significado de p con relación al el equilibrio de Hardy Weinberg 0.49

Tabla 8.- Frecuencias alélicas y genotípicas en las mujeres con y sin fractura de cadera para la variante Rs2228480				
Alelos	Mujeres con fractura de cadera		Mujeres sin fractura de cadera	
	Número	Frecuencia	Número	Frecuencia
G	166	66.9%	127	70.6%
A	82	33.1%	53	29.4%
Genotipos				
GG	56	45.2%	43	47.8%
GA	54	43.5%	41	45.5%
AA	14	11.3%	6	6.7%

Frecuencias alélicas G vs A $X^2= 0.63$ p= 0.42

Frecuencias genotípicas GG vs AA $X^2= 1.24$ p= 0.26

GG vs GA $\chi^2 = 0.00$ (En éste caso el programa no otorga el valor por ser una frecuencia pequeña)
 $p = 0.96$

Todos los que muestran **G+GG** vs todos los que presentan **A+AA** $\chi^2 = 0.17$
 $p = 0.67$

Significado de p con relación al equilibrio de Hardy Weinberg 0.82

XII. Discusión

La osteoporosis (OP) es una enfermedad caracterizada por la disminución progresiva de la masa y microarquitectura ósea, que conduce a un aumento en la fragilidad del hueso con el consecuente riesgo de fractura. La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera a la OP el quinto problema de salud pública en el mundo, en México se estima que 2.1 millones de personas mayores de 60 años tienen OP y 1.4 millones presentan osteopenia (fase primaria de la enfermedad). Debemos señalar que como consecuencia del incremento en la esperanza de vida de nuestra población y el aumento de condiciones ambientales que predisponen a este desorden es de esperarse un incremento importante de las cifras ya referidas.

La OP es una enfermedad multifactorial y poligénica que resulta de la interacción de múltiples factores genéticos, ambientales y epigenéticos. En los últimos años numerosas investigaciones han demostrado que los factores genéticos juegan un papel importante en la regulación de la DMO, en las propiedades ultrasonográficas del hueso, en la geometría esquelética, en el recambio óseo y en otros aspectos del metabolismo óseo, contribuyendo de manera importante en la patogénesis de la fractura osteoporótica. En la mayoría de los casos la OP es causada por el efecto combinado de alteraciones en diferentes genes y su interacción con influencias del medio ambiente. Múltiples y variadas investigaciones internacionales estiman que la heredabilidad de la DMO de columna y cadera oscila entre 70-85% y en muñeca es del 50-60%. Otros determinantes óseos, con evidente componente hereditario son la geometría y la longitud del cuello femoral, las propiedades ultraestructurales del hueso (que traduce el grado de interconectividad trabecular) y la velocidad de remodelado óseo. Por otra parte la historia familiar de fracturas en cadera ha mostrado ser consistentemente un factor de riesgo, independiente a la DMO; estudios en gemelos estiman que la heredabilidad de las fracturas por sí misma oscila entre 25-35%.

La cantidad de genes que de alguna u otra forma participa en el control genético del fenotipo óseo es muy grande, sin embargo entre los más importantes y los más estudiados se encuentran la familia de genes que codifica para los receptores de hormonas esteroideas, entre los que se encuentra VDR, ESR1 y ESR2. Particularmente ESR1 y ESR2 son de gran interés dado el papel que juegan los estrógenos en el metabolismo del hueso. Las dos variantes genéticas analizadas en éste trabajo se localizan en el gen ESR1 y a pesar de que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el análisis de las frecuencias alélicas ni genotípicas en ninguno de los dos casos debemos señalar que tanto el grupo de los casos como el de los controles son pequeños, incluso la cantidad de controles no es suficiente, considerando que en éste tipo de investigaciones en la actualidad se recomienda analizar cuando menos dos casos por cada control. Por esta razón, éstos resultados los consideramos preliminares, la captación tanto de casos como de controles seguirá llevándose a cabo y cuando contemos con un número mayor de participantes se analizarán nuevamente los datos y podremos así realizar un análisis más adecuado. No obstante, investigaciones realizadas por éste (en columna vertebral) y otros grupos de investigación han detectado una posible asociación entre estas variantes variantes alélicas y genotípicas y la presencia osteoporosis; algunos de estos trabajos se presentan en la tabla 9.

Tabla 9. Asociación de los SNP rs2228480 y Rs2234693 con relación a osteoporosis

Rs2228480	Se examinaron 70 mujeres con OP, 70 sin OP y 500 sujetos de población abierta. Se encontró que el SNP está asociado con la presencia de OP. Se concluyó que éste polimorfismo puede ser un marcador útil para estudios genéticos de OP en la población mexicana (Gómez R, 2007).
Rs2228480	Se buscó la asociación en 228 mujeres tailandesas postmenopáusicas mayores de 55 años. Concluyeron que la presencia del polimorfismo se relaciona con la presencia y severidad de la OP en éstas mujeres (Ongphiphadhanakul B C. S., 2001).
Rs2234693 Asociación del la DMO con polimorfismos en el gen del ER (búsqueda de asociación con 4 polimorfismos en los 2 genes ER)	En una muestra de 1,301 mujeres peri-menopáusicas de cuatro etnias distintas participantes del estudio SWAN, encontrando que la asociación del genotipo varía con la etnia y el sitio esquelético evaluado. (Greendale GA, 2006)
Rs2234693 Asociación de haplotipos (buscando interacción gen-gen) con 16 polimorfismos en los genes <i>COL1A1</i> , <i>ESR1</i> , <i>VDR</i> y <i>TGFB1</i> y la DMO	Se buscó la asociación en una muestra de 719 mujeres españolas post-menopáusicas. Ellos concluyeron que los polimorfismos buscados en <i>COL1A1</i> y <i>ESR1</i> están asociados con la DMO (Bustamante M, 2007).
Rs2234693 Se buscó el efecto de los polimorfismos en <i>ESR1</i> y <i>ESR2</i> en función a la edad en las características esqueléticas de mujeres sanas	Participaron 641 mujeres sanas pre-menopáusicas participantes del estudio BONTURNO. Fueron evaluadas con DXA de columna, cadera y cuello femoral, así como se cuantifico niveles séricos de CTX, OC y P1NP. Los resultados obtenidos apoyan la idea de la presencia de efectos en la condición esquelética de los polimorfismos evaluados en función a la edad en mujeres sanas fértiles (Francesco Massart, 2009).

Por otro lado, es importante mencionar que cuando se llevan a cabo estos estudios de asociación ente variantes genéticas y características fenotípicas particulares como son la DMO en éste caso, deben considerarse algunos elementos capaces de impactar de manera positiva o incluso negativa en los resultados obtenidos, entre ellos están; el tamaño de la muestra de los grupos de análisis (casos y controles), la adecuada caracterización de los participantes, la homogeneidad de los grupos en cuanto a los criterios empleados para su adecuada selección y en el análisis considerar la heterogeneidad que presentan las poblaciones. Todos estos factores deberán considerarse en la planeación y el análisis final de éstas investigaciones.

Finalmente, De acuerdo con la Información generada en 1999 por el Instituto Nacional de Estadísticas Geografía e Informática (INEGI) se espera que el número de habitantes

mayores de 65 años aumente a 15 millones para el año 2030 y a 28 millones para el año 2050, esto se traduce en un aumento considerable en el número de individuos afectados por enfermedades crónico degenerativas como la OP. Resulta importante destacar que a pesar de que la OP tiene un componente genético muy importante, pocas son las investigaciones en México que intentan explorar la magnitud de la susceptibilidad de nuestra población con relación a este desorden. En los últimos años, en el Instituto Nacional de Rehabilitación se han analizado parcialmente algunos de los genes que se han relacionado de diferentes maneras con el metabolismo óseo, así como se han realizado algunos estudios de asociación entre polimorfismos génicos y osteoporosis. Los resultados preliminares que se han obtenido a partir de investigaciones anteriores de nuestro grupo han sugerido asociación entre algunos polimorfismos en los genes *COL1A1*, *ESR1*, *CT* e *IL6* en mujeres con OP de columna vertebral. En el caso de los dos polimorfismos analizados en este trabajo, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre casos y controles con ninguna de las dos variantes analizadas.

Bibliografía

- Albarrán, A. A. Osteoporosis Posición de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología. *Revista de Endocrinología y Nutrición*.
- Albagha OM, M. F. (2001). Estrogen receptor α gene polymorphism and bone mineral density: haplotype analysis in women from the UK. *J Bone Miner Res* .
- Almeida M, A. E. (2009). Increased lipid oxidation causes oxidative stress, increased peroxisome proliferator-activated receptor-gamma expression, and diminished pro-osteogenic Wnt signaling in the skeleton.. *J Biol Chem*.
- Almeida M, H. L.-M. (2007). Skeletal involution by age-associated oxidative stress and its acceleration by loss of sex steroids. *J Biol Chem*.
- Almeida M, A. E. (2009). Increased lipid oxidation causes oxidative stress, increased peroxisome proliferator-activated receptor-gamma expression, and diminished pro-osteogenic Wnt signaling in the skeleton. *J Biol Chem*
- Asociación mexicana de metabolismo óseo y mineral. (2001). Consenso Mexicano de osteoporosis. *Rev Invest Clin*.
- Baim S, L. M. (2008). Official Positions of the International Society for Clinical Densitometry and executive summary of the 2007 ISCD Pediatric Position Development Conference. *J Clin Densitom*.
- Baim S, B. N. (2008). Official Positions of the International Society for Clinical Densitometry and executive summary of the 2007 ISCD Position Development Conference. *J Clin Densitom*.
- Bodine PV, S.-W. L. (2007). Bone anabolic effects of parathyroid hormone are blunted by deletion of the Wnt antagonist secreted frizzled-related protein-1.. *J Cell Physiol* .
- B.S. Katzenellenbogen, K. K. (1997). Editorial: a new actor in the estrogen receptor drama — enter ER-b, . *Endocrinology*
- Burge R, D.-H. B. (2007). Incidence and economic burden of osteoporosis-related fractures in the United States, 2005-2025. . *J Bone Miner Res*.
- Bustamante M, N. X.-G.-E.-P. (2007). COL1A1, ESR1, VDR and TGFB1 polymorphisms and haplotypes in relation to BMD in Spanish postmenopausal women. *Osteoporos Int* .
- Center JR, B. D. (2007). Risk of subsequent fracture after low-trauma fracture in men and women. *JAMA*.
- Cooper C, A. E. (1993). Population-based study of survival after osteoporotic fractures. . *Am J Epidemiol*.
- Cranney A, W. G. (2002). Meta-analyses of therapies for postmenopausal osteoporosis. II. Meta-analysis of alendronate for the treatment of postmenopausal women. *Endocr Rev*
- Delezé M, A. E. (1997). The prevalence of osteoporosis and osteopenia by DEXA in an apparently healthy Mexican population. . *Arthritis Reuma* .
- Diarra D, S. M. (2007). Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling. . *Nat Med*.
- Duncan EL, D. P. (2011). Genome-wide association study using extreme truncate selection identifies novel genes affecting bone mineral density and fracture risk. *PLoS Genet*.

- Donaghue C, W. B. (1999). Selective promoter usage of the human estrogen receptor- α gene and its regulation by estrogen. *Mol Endocrinol*.
- E, S. (2003). The structural and biomechanical basis of the gain and loss of bone strength in women and men. *Endocrinol Metab Clin North Am*.
- Ensrud KE, L. R. (1997). Body size and hip fracture risk in older women: a prospective study. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Am J Med*
- Felson DT, Z. Y. (1995). Alcohol intake and bone mineral density in elderly men and women. The Framingham Study. *Am J Epidemiol*.
- Ferrar L, J. G. (2005). Identification of vertebral fractures: an update. *Osteoporos Int*.
- Francesco Massart, F. M. (2009). Age-specific effects of estrogen receptors' polymorphisms on the bone traits in healthy fertile women: the BONTURNO study. *Reproductive Biology and Endocrinology*.
- Gaur T, L. C. (2005). Canonical WNT signaling promotes osteogenesis by directly stimulating Runx2 gene expression.
- Gómez R, M. J.-S.-F. (2007). Association of the estrogen receptor alpha gene polymorphisms with osteoporosis in the Mexican population. *Clin Genet*.
- Greendale GA, C. J. (2006). The association of bone mineral density with estrogen receptor gene polymorphisms. *Am J Med*.
- Grigoriadis AE, W. Z. (1994). c-Fos: a key regulator of osteoclast-macrophage lineage determination and bone remodeling. *Science*.
- Heaney RP, A. S.-H. (2000). Peak bone mass. *Osteoporos Int*.
- Hodsmen AB, L. W. (2008). 10-year probability of recurrent fractures following wrist and other osteoporotic fractures in a large clinical cohort: an analysis from the Manitoba Bone Density Program. *Arch Intern Med*.
- Hoogeboom D, B. B. (2009). Should I stay or should I go: beta-catenin decides under stress. *Biochim Biophys Acta*.
- Hoshino S, H. T. (2000). Identification of a novel polymorphism of estrogen receptor-alpha gene that is associated with calcium excretion in urine. *J Bone Miner Metab*.
- Jurada S, M. J. (2001). Codon 325 sequence polymorphism of the estrogen receptor alpha gene and bone mineral density in postmenopausal women. *J Steroid Biochem Mol Biol*.
- Kanis JA, M. E. (2008). A reference standard for the description of osteoporosis. *Bone*.
- Kanis JA, M. E. (2008). A reference standard for the description of osteoporosis. *Bone*.
- Katzenellenbogen JA, B. O. (1996). Tripartite steroid hormone receptor pharmacology: interaction with multiple effector sites as a basis for the cell- and promoterspecific action of these hormones. *Mol. Endocrinol*.
- Kearns AE, K. S. (2008). Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease. *Endocr Rev*.
- Kim MS, Y. Y. (2010). RANKL-mediated reactive oxygen species pathway that induces long lasting Ca²⁺ oscillations essential for osteoclastogenesis. *J Biol Chem*.

- Koh JM, K. D. (2002). Estrogen receptor alpha gene polymorphisms PvuII and XbaI influence association between leptin receptor gene polymorphism (Gln223Arg) and bone mineral density in young men. *Eur J Endocrinol*.
- Komori T. (2010). Regulation of bone development and extracellular matrix protein genes by RUNX2. *Cell Tissue Res*.
- Langlois JA, H. T. (1996). Weight change between age 50 years and old age is associated with risk of hip fracture in white women aged 67 years and older. *Arch Intern Med*.
- Lee NK, C. Y. (2005). A crucial role for reactive oxygen species in RANKL-induced osteoclast differentiation. *Blood*.
- Lee SK, K. Y.-J. (2006). T lymphocyte-deficient mice lose trabecular bone mass with ovariectomy. *J Bone Miner Res*.
- Little RD, C. J. (2002). A mutation in the LDL receptor-related protein 5 gene results in the autosomal dominant high-bone-mass trait. *Am J Hum Genet*.
- Li X, (2005). Sclerostin binds to LRP5/6 and antagonizes canonical Wnt signaling. *J Biol Chem*.
- Long H Xu, L. LETTER TO JMG The oestrogen receptor a gene is linked and/or associated with age of menarche in different ethnic groups. *J Med Genet*.
- Long J, L. P. (2003). Interaction effects between estrogen receptor alpha gene, vitamin D receptor gene, age, and sex on bone mineral density in Chinese. *J Hum Genet*.
- Looker A. (2003). Interaction of science, consumer practices and policy: calcium and bone health as a case study. *J Nutr*.
- Looker AC, M. L. (2011). Lumbar spine bone mineral density in US adults: demographic patterns and relationship with femur neck skeletal status. *Osteoporos Int*.
- M.M. Montano, A. J. (1998). Transcriptional regulation of the human quinone reductase gene by antiestrogen-liganded estrogen receptor-a and estrogen receptorb. *J. Biol. Chem*.
- Manolagas SC, A. M. (2007). Gone with the Wnts: beta-catenin, T-cell factor, forkhead box O, and oxidative stress in age-dependent diseases of bone, lipid, and glucose metabolism. *Mol Endocrinol*.
- Manolagas. (2000). Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev*.
- Marcus R, F. D. (2007). Skeletal heterogeneity and the purposes of bone remodeling: implications for the understanding of osteoporosis. En P. AM., *Osteoporosis, 3rd Ed*, . San Diego: Elsevier.
- Marshall D, J. O. (1996). Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ*.
- Martin-Millan M, A. M. (2010). The estrogen receptor-alpha in osteoclasts mediates the protective effects of estrogens on cancellous but not cortical bone. *Mol Endocrinol*.
- Martin-Millan M, A. M. (2010). The estrogen receptor-alpha in osteoclasts mediates the protective effects of estrogens on cancellous but not cortical bone. *Mol Endocrinol*.
- Mead TJ, Y. (2009). Notch pathway regulation of chondrocyte differentiation and proliferation during appendicular and axial skeleton development. AU Mead TJ, Yutzey KE SO Proc Natl Acad Sci U S A. *Proc Natl Acad Sci U S A*.

- Melton LJ 3rd, C. C. (2003). Relative contributions of bone density, bone turnover, and clinical risk factors to long-term fracture prediction. *J Bone Miner Res*.
- Melton LJ 3rd, K. S. (2000). Cross-sectional versus longitudinal evaluation of bone loss in men and women. *Osteoporos Int*.
- Mentaverri R, K. S. (2003). Involvement of capacitive calcium entry and calcium store refilling in osteoclastic survival and bone resorption process. *Cell Calcium*.
- Miller PD, B. S.-C. (2004). An approach to identifying osteopenic women at increased short-term risk of fracture. *Arch Intern Med*.
- Nakamura T, I. Y. (2007). Estrogen prevents bone loss via estrogen receptor alpha and induction of Fas ligand in osteoclasts. *Cell*.
- NB., W. (2002). Bone quality: getting closer to a definition. *J Bone Miner Res*.
- NH, G. (2002). A review of the female athlete triad (amenorrhea, osteoporosis and disordered eating). *Int J Adolesc Med Health*.
- NH., M. (1997). Compliance with treatment regimens in chronic asymptomatic diseases. *Am J Med*.
- NIH. (2001). Consensus development Panel on Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA*.
- Njeh CF, F. T. (1999). Radiation exposure in bone mineral density assessment. *Appl Radiat Isot*.
- NOF. (2008). *Clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis*. Recuperado el 2009, de National Osteoporosis Foundation. Clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis, 2008 : http://www.nof.org/sites/default/files/pdfs/NOF_Clinicians_Guide2008.pdf
- NOF. (2002). America's Bone Health: The State of Osteoporosis and Low Bone Mass in Our Nation. *National Osteoporosis Foundation*.
- NOF. (2002). America's Bone Health: The State of Osteoporosis and Low Bone Mass in Our Nation. *National Osteoporosis Foundation*.
- Ongphiphadhanakul B, C. S. (2003). The implication of assessing a polymorphism in estrogen receptor alpha gene in the risk assessment of osteoporosis using a screening tool for osteoporosis in Asians. *Osteoporos Int*.
- Ongphiphadhanakul B, C. S. (2001). Association of a G2014A transition in exon 8 of the estrogen receptor-alpha gene with postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int 2001*.
- Patel MS, C. D. (2000). Alleles of estrogen receptor α gene and an estrogen receptor cotranscriptional activator gene, amplified in breast cancer-1 (AIB1), are associated with quantitative calcaneal ultrasound. *J Bone Miner Res*.
- Pocock NA, E. J. (1987). Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study. *J Clin Invest*.
- Recker R, L. J. (2000). Characterization of perimenopausal bone loss: a prospective study. *J Bone Miner Res*.
- Riggs BL, M. L. (1995). The worldwide problem of osteoporosis: insights afforded by epidemiology. *Bone*.

- Rossouw JE, A. G. (2002). Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*
- Sambrook PN, F. J.-P. (2011). Predicting fractures in an international cohort using risk factor algorithms without BMD. *J Bone Miner Res.*
- Sapir-Koren R, L. G. (2003). Association and linkage disequilibrium analyses suggest genetic effects of estrogen receptor alpha and collagen IA1 genes on bone mineral density in Caucasian women. *Calcif Tissue Int.*
- Seeman E, D. P. (2006). Bone quality--the material and structural basis of bone strength and fragility. *N Engl J Med.*
- Services., U. D. (2004). *Office of the Surgeon General*. Recuperado el 31 de October de 2011, de Bone Health and Osteoporosis: A Report of the Surgeon General: <http://www.surgeongeneral.gov/library/bonehealth/content.html>
- Shepherd JA, L. Y. (2006). Cross-calibration and minimum precision standards for dual-energy X-ray absorptiometry: the 2005 ISCD Official Positions. *J Clin Densitom.*
- Schiessl H, F. H. (1998). Estrogen and bone-muscle strength and mass relationships. *Bone.*
- Siris ES, M. P.-C. (2001). Identification and fracture outcomes of undiagnosed low bone mineral density in postmenopausal women: results from the National Osteoporosis Risk Assessment. *JAMA.*
- SM, O. (2005). Sclerostin and Wnt signaling--the pathway to bone strength. *J Clin Endocrinol Metab.*
- Takayanagi H, K. S. (2002). Induction and activation of the transcription factor NFATc1 (NFAT2) integrate RANKL signaling in terminal differentiation of osteoclasts. *Dev Cell.*
- The National Osteoporosis Foundation. (s.f.). *Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis*. Recuperado el 28 de April de 2008, de The National Osteoporosis Foundation Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. http://www.nof.org/professionals/NOF_Clinicians_Guide.htm. Accessed April 28, 2008.: http://www.nof.org/professionals/NOF_Clinicians_Guide.htm.
- Tucker KL, M. K. (2006). Colas, but not other carbonated beverages, are associated with low bone mineral density in older women: The Framingham Osteoporosis Study. *Am J Clin Nutr.*
- van Bezooijen RL, S. J. (2007). Wnt but not BMP signaling is involved in the inhibitory action of sclerostin on BMP-stimulated bone formation. *J Bone Miner Res.*
- Vanderschueren D, V. H. (1992). Bone and mineral metabolism in aged male rats: short and long term effects of androgen deficiency. *Endocrinology*.
- Wellik DM, C. M. (2003). Hox10 and Hox11 genes are required to globally pattern the mammalian skeleton. *Science.*
- Wetzsteon RJ, K. H.-P. (2011). Volumetric bone mineral density and bone structure in childhood chronic kidney disease. *J Bone Miner Res.*
- WHO. (1994). Assessment of Fracture Risk and Its Application to Screening for Postmenopausal Osteoporosis (Technical Report Series). *Technical Report Series*.
- Xiong J, O. M. (2011). Matrix-embedded cells control osteoclast formation. *Nat Med.*
- Zuppan PJ, H. J. (1989). Polymorphisms at the estrogen receptor (ESR) locus and linkage relationships on chromosome 6q. *Cytogenet Cell Genet*.

