



## **Doctorado en Ciencias de la Salud Hospital Infantil de México “Federico Gómez”**

ALUMNA: M en C Nalleli Vivanco Muñoz

A handwritten signature in black ink that reads 'Patricia Clark'.

Tutor: Dra. Patricia Clark

Co tutor: Dra. Margarita Valdés Flores

Colaboradores:

Dr. Juan O. Talavera, Unidad de Epidemiología Clínica, Hospital de Especialidades CMN Siglo XXI

Dr. Gerardo Huitron Bravo, Director del Centro de Investigación Clínica de la Universidad Autónoma del Estado de México



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.

A Dios, por estar conmigo todos los días de mi vida.

A mis padres, por ser mi fortaleza, refugio y apoyo en esta gran etapa de mi vida.

A mi hermana, por llenar mis días de flores y estrellas.

Till Johan, mitt gömställe, jag älskar dig.

A mi tutora favorita, por su paciencia, enseñanzas y todo el tiempo invertido para lograr este maravilloso proyecto de vida.

Al Dr. Talavera, porque sin sus enseñanzas ningún análisis habría sido posible.

A las zorras, por escucharme y hacerme reír cuando la vida no era graciosa.

A todos los que de una manera u otra fueron parte de esta aventura...

GRACIAS

**TÍTULO**

**Asociación de la concentración de 25(OH) D con la densidad mineral ósea y las frecuencias alélicas del gen VDR en población mexicana.**

## INDICE

TEMA	Página
Introducción vitamina D	5
Osteoporosis	15
Aspectos genéticos	17
Planteamiento del problema y justificación	27
Metodología	29
Estudio de 25(OH) vitamina D	32
Asociación de polimorfismos	34
Consideraciones éticas	36
Resultados	37
Discusión	46
Conclusiones	53
Anexos	54
Referencias	103

## INTRODUCCIÓN

La deficiencia de 25-hidroxivitamina D (25(OH)D) ha sido reconocida como un problema de salud pública en diversas las poblaciones desde hace mucho tiempo. La primera descripción de esta deficiencia data del Siglo XVII, cuando por primera ocasión, se describe el raquitismo como una enfermedad caracterizada por la falta de mineralización y por deformación en el esqueleto de niños que vivían en ciudades del norte de Europa. Más tarde, en 1930 el descubrimiento de la estructura bioquímica de la 25(OH)D permitió estudiar factores determinantes en su síntesis y actividad, tal como la influencia del sol y la importancia de la nutrición.<sup>[1, 2]</sup>

La vitamina D es determinante en la salud de hueso y el metabolismo de elementos como el calcio ( $\text{Ca}^{++}$ ) y fósforo en el esqueleto. La deficiencia de esta pro-hormona evita el desarrollo del pico de masa ósea programada genéticamente en niños, adolescentes y adultos jóvenes influyendo en la presentación de osteoporosis en la edad adulta y senil o bien en el desarrollo de osteomalacia en los adultos. En los ancianos, la deficiencia de 25(OH)D reduce la absorción intestinal del  $\text{Ca}^{++}$  y favorece el balance negativo del mismo, con su consecuente salida del hueso, favoreciendo el desarrollo de osteoporosis.<sup>[3]</sup>

Existen dos fuentes principales de 25(OH)D, la exposición al sol y la dieta. La síntesis cutánea de vitamina  $\text{D}_3$  por exposición al sol, es la fuente natural de producción de esta vitamina. Esta obtención, tiene algunas limitaciones de acuerdo con la variabilidad del clima y color de la piel, por lo que es común que, durante los meses de invierno, en países en donde la latitud es mayor a  $37^\circ$  Norte, no se obtengan suficientes depósitos fisiológicos de 25(OH)D.<sup>[4, 5]</sup> Existen pocas fuentes alimentarias de esta vitamina, por lo que generalmente no se obtiene de manera suficiente.<sup>[6]</sup> Ambas fuentes se ven afectadas por los estilos de vida; el permanecer en lugares cerrados con limitada exposición al sol, el uso de protectores solares y la ingesta insuficiente de alimentos ricos en esta vitamina, lo cual genera una reducción en las concentraciones séricas.<sup>[7]</sup> Estos factores tienen una implicación importante sobre todo en los adultos mayores en los que su absorción disminuye con la edad y aunada a factores como la situación

geográfica, discapacidad física, costumbres y cultura de las poblaciones hacen que este grupo poblacional sea especialmente vulnerable a esta hipovitaminosis. [7, 8]

### **Estudios en poblaciones.**

La deficiencia o insuficiencia de esta pro-hormona, en los diferentes grupos de edad, incluyendo neonatos, está relacionada con factores de latitud geográfica y la estación del año; en países como Argentina<sup>[9]</sup>, Canadá y Nueva Zelanda<sup>[10]</sup>, se ha informado una variación importante en las concentraciones por la exposición al sol, aumentando en verano y comenzando a descender en otoño. Aunque pareciera que la exposición al sol no es el único determinante en las concentraciones de vitamina D; en países mediterráneos como Grecia, Italia y España que tienen adecuada radiación solar, se presentan las concentraciones de vitamina D más bajas de Europa<sup>[11]</sup>, es por ello que se han asociado también factores genéticos, dieta, edad y cultura. Así mismo, se han informado bajas concentraciones en mujeres de países Islámicos debido a la forma de vestir ya que no exponen ninguna superficie de su cuerpo al sol. [12, 13]

En Europa, la deficiencia de esta vitamina se identifica como un problema serio de salud en la población mayor de 65 años, ya que no tienen una exposición suficiente a la luz solar, sea por razones sociales o atribuibles a prácticas religiosas o por discapacidad.<sup>[14]</sup> En México existen pocos estudios relacionados con esta vitamina, Larracilla determinó las concentraciones en suero en recién nacidos en 1988, estableciendo valores óptimos para los niños eutróficos en 19.4 ng/mL y en los pretérmino de 18.7 ng/mL. <sup>[15]</sup> El grupo de Elizondo-Montemayor en la región noreste de México evaluó 198 niños escolares (6-12 años) encontrando una prevalencia de insuficiencia (21-29 ng/mL) del 62.1% y del 20.1% de deficiencia (< 20ng/mL).<sup>[16]</sup> Recientemente (dic 2011), el Instituto Nacional de Salud Pública presentó los resultados del estudio “Concentraciones séricas de Vitamina D en niños, adolescentes y adultos mexicanos” analizando las alícuotas del estudio ENSANUT 2006. Con un total de 8 millones de muestras concluyen que la prevalencia de deficiencia e insuficiencia en los tres grupos de edad alcanza el 30%. Sin embargo dicho estudio no evaluó las concentraciones de PTH y utilizó la técnica de laboratorio ELISA para la determinación

de las concentraciones de 25(OH)D, la cual no se considera el estándar de oro, por lo que los resultados no pueden ser comparados con estudios internacionales.

### **Puntos de corte**

Para definir las concentraciones de 25(OH)D se utilizan con frecuencia nanogramos por mililitro o nanomoles por litro, los cuales tienen un factor de conversión de 2.496. Los padecimientos óseos asociados a la deficiencia de 25(OH)D ocurren cuando las concentraciones en suero son inferiores a los 12.5 ng/mL, con un intervalo de normalidad de 40-160 ng/mL, ésto varía en cada país dependiendo de la luz del sol disponible y del consumo de alimentos ricos en esta vitamina. Su deficiencia está relacionada con osteomalacia y raquitismo en niños y adultos jóvenes respectivamente y con osteoporosis en los adultos mayores.<sup>[7, 17]</sup>

En la tabla 1 se pueden observar algunos de los estudios representativos de concentración de 25(OH)D en diferentes poblaciones y grupos de edad. La variabilidad en las concentraciones en estos estudios es importante y las cifras de deficiencia e insuficiencia varían. Ya que muchos de ellos han sido desarrollados con diferentes métodos de laboratorio o en diferentes estaciones del año es difícil hacer comparaciones entre regiones. Lo que puede observarse es que la deficiencia de esta vitamina es de moderada a alta y constante en todos los estudios publicados, principalmente en países en vías de desarrollo.



Tabla 1. Estudios de prevalencia de deficiencia e insuficiencia de Vitamina D

AUTOR	PAÍS	MUESTRA/EDAD N (AÑOS)	PUNTOS DE CORTE	RESULTADOS
Holvic <sup>[13]</sup>	Oslo, Noruega	H=39.(491) M=37.(509)		Deficiencia: Hombres:13.8% Mujeres: 15.2% Paquistanes Mujeres: 65% Hombres: 52.1% Deficiencia: 25%
Olivieri <sup>[9]</sup> (2004)	Argentina	H=113 (71.3) M=226 (71.3)	Deficiencia :<10 ng/ml Insuficiencia :10-19 ng/ml Hipovitaminosis: 20-40 ng/ml	Deficiencia: 25%
Rucker, <sup>[10]</sup>	Canadá	H=60 (27-89) M= 120 (27-89)	Insuficiencia < 16 ng/mL Deficiencia : < 10 ng/mL	Insuficiencia :34%
Moussavi <sup>[12]</sup>	Isfahan, Irán	H=153 (14-18) M= 165 (14-18)	Deficiencia= < 20ng/mL D.Moderada=>8-15 ng/mL D.Severa= < 8 ng/mL	Deficiencia= 46% M=72.1% H= 18.3 % Severa M= 14.5% Severa H= 0.6% Promedio 102±35 nmol/l Deficiencia 2%
Von Mühlen (2005)	San Diego, EUA	M:615 (74.6±10)		
Meddeb N (2005)	Túnez	H: 198 (20 – 60) M: 191 (20-60)	Hipovitaminosis ≤15 ng/mL Deficiencia ≤10 ng/mL	
Moreno- Reyes R (2008)	Bélgica	401 (40-60 a)	Suficiencia≥20 ng/mL Deficiencia 10 – 5 ng/mL Insuficiencia: ≤ 5 ng/mL.	Suficiencia: 77% Deficiencia: 34% Insuficiencia: 5%
Johnson MA (2008)	Georgia, USA	H:30 (77) M: 127 (77)	Insuficiencia: ≤ 20 ng/mL Deficiencia < 10 ng/mL	Insuficiencia: 36.7% Deficiencia: 8.2%
Salek M (2008)	Isafhan, Iran	Recién nacidos: 88 Madres: 88	Deficiencia: < 20 ng/ml (madres), < 12.5 ng/ml (RN).	Deficiencia en madres: 5.7% Deficiencia en RN: 4.5%
Hintzpeter B (2008)	Inmigrantes Alemania	2543 niños (3-17)	Deficiencia Moderada: <10 ng/mL Deficiencia leve: < 30 ng/mL.	Deficiencia Leve: Niños 92%, Niñas 94% Deficiencia Moderada: Niños 29% Niñas: 31%
Mark S (2008)	Québec, Canadá	1753 jóvenes (9, 13 y 16)	Suficiencia > 30 ng/mL. Hipovitaminosis:≤ 15 ng/mL, Deficiencia:≤ 11 ng/mL,	Hipovitaminosis: 93% Deficiencia: Niños: 2, 3, y 13% Niñas: 2, 8 y 10%
Mansbach JM (2009) <sup>[18]</sup>	USA (NHANES)	Niños (1-11)		<10 ng/m L 1% <20 ng/mL 18% <30 ng/mL 69%
Napiórkowska (2009)	Varsovia, Polonia	M: 274 (60-90)	Insuficiencia (20-30 ng/ml) Deficiencia (<20 ng/ml)	Insuficiencia 12.8% Deficiencia 83.2%
Soontrapa S (2009)	Tailandia	Urbanas: 106 Rurales: 32 Premenopausia: 357 Postmenopausia: 95	Hipovitaminosis (≤35 ng/ml)	Urbanas: 65.4% Rurales: 15.4% Premenopausicas: 60.2% Postmenopausicas: 77.8%

Braddy KK, (2009)	USA	229 veteranos	Sufficient $\geq 30$ ng/mL Insufficient 21-29 ng/mL, Deficient $\leq 20$ ng/mL	Suficiencia: 49% Insuficientes: 14% Deficiencia: 37%
Sadat-Ali M, (2009)	Arabia Saudita	H: 200 (28.2)	Deficiencia $\leq 20$ ng/mL Insuficiencia 20 - 30 ng/mL Suficiencia $\geq 30$ ng/mL.	Deficiencia 10% Insuficiencia 18%
Calatayud M (2009) <sup>[19]</sup>	España	M: 78 H: 38 (26.5 $\pm$ 3.3)	Deficiencia: $< 20$ ng/ml Insuficiencia: 20-30 ng/ml Suficiencia $\geq 30$ ng/ml .	Suficiencia: 16.37% Deficiencia: 27.58% Insuficiencia: 56.03%
Grant CC (2009)	Nueva Zelanda	Niños:353 ( 6-23)	Deficiencia: $< 11$ ng/mL	Deficiencia: 10%
Rabbani A (2009)	Tehran	H: 424 M: 539 (7-18)	Deficiencia: $< 20$ ng/ml.	Deficiencia: 53.6% niñas y 11.3% niños.

### Metabolismo de 25(OH)D.

Químicamente, se presenta en dos formas: a) vitamina D<sub>3</sub> o colecalciferol y b) Vitamina D<sub>2</sub> o ergocalciferol. Ambas formas difieren únicamente por la presencia del grupo metilo en el carbón 28 y un doble enlace entre el carbón 22 y 23 de la cadena de la vitamina D<sub>2</sub>; su metabolismo es similar. <sup>[14]</sup>

Las fuentes de ambas vitaminas son la levadura de cerveza y plantas (germen de trigo y algunos cereales) (D<sub>2</sub>), el aceite e hígado de pescado, los cuales no son de consumo habitual y aportan muy bajas concentraciones y la sintetizada en la piel (D<sub>3</sub>) que aporta la mayor parte de la concentración sérica. Una vez que entran a la circulación se unen a la proteína transportadora de vitamina-D y son trasladadas al hígado, donde la citocromo P 450 vitamina D-25 hidroxilasa (CYP27A1) introduce un OH en el carbón 25 para transformarla en 25 hidroxivitamina D o calcidiol. Además de la producción en el riñón, existe prueba de su síntesis en otros tejidos y células como los macrófagos activados, osteoblastos, queratinocitos, próstata, colon y mama, e incluso los granulomas que también tienen actividad de la 1- $\alpha$  hidroxilasa y por tanto tienen la capacidad de producir 1,25(OH)<sub>2</sub>D, aunque esta producción extra renal parece no jugar papel alguno en la homeostasis del Ca<sup>++</sup> en condiciones normales. <sup>[14]</sup> Las concentraciones de vitamina D en su forma de calcidiol 25(OH)D, son el principal indicador de la contribución combinada de la síntesis por la piel y de su ingestión dietética. <sup>[3, 7]</sup>

## Bioactivación

Durante la exposición al sol, el 7-desidro-colesterol 7DHC (provitamina D<sub>3</sub>), cuyo precursor inmediato es el colesterol, absorbe la radiación solar en ondas de energía ultravioleta B [UVB] entre 290 y 315nm, provocando la transformación de la 7-DHC al generar la ruptura del anillo B del pentanofenentreno del colesterol transformándolo en un esteroide (pre-hormona D<sub>3</sub>), a partir del colesterol situado en la grasa subcutánea. Existen pocos estudios precisos acerca de este tema, sin embargo se sabe que en condiciones normales, cerca del 50% de la vitamina D se produce en la piel [3,4] y que la radiación solar excesiva no causa intoxicación de 25(OH)D, ya que el exceso es fotolizado a productos biológicamente inactivos gracias a la melanina, la cual funciona como bloqueador natural. [3, 8]

Figura 1. Metabolismo de la vitamina D.

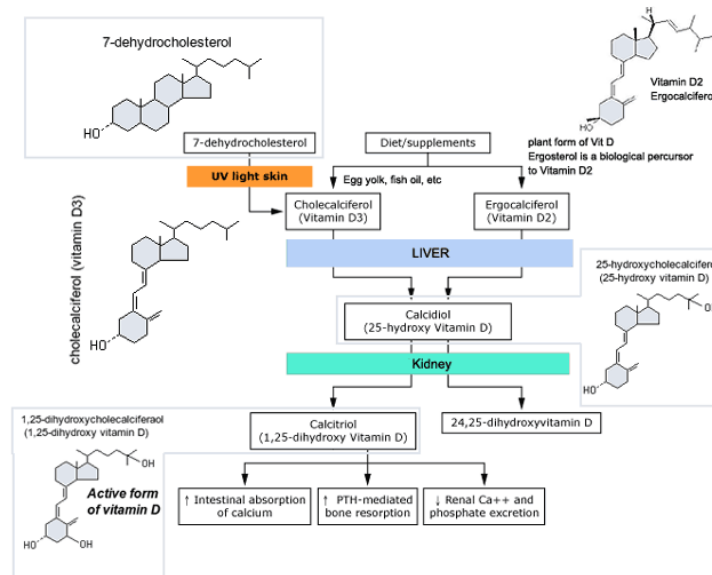


Fig. 1. Síntesis, activación y catabolismo de la Vitamina D3. La 25(OH)D3 se produce en la piel, después es transportada al hígado a través de la proteína transportadora de Vitamina D, donde es convertida a 25-hidroxivitamina D3. El paso final de activación ocurre primariamente en el riñón formando 1,25-dihidroxivitamina D3, la forma hormonal de dicha vitamina. La inactivación catabólica se lleva a cabo a partir de una 24-hidroxilasa, que cataliza a través de oxidaciones. [www.globalrph.com/vitamin\\_d.htm](http://www.globalrph.com/vitamin_d.htm)

Las concentraciones en el suero de 25(OH)D reflejan el resultado de la síntesis hepática y de la ingestión dietética, su medición es el estándar clínico con mayor sensibilidad diagnóstica. Cuando las concentraciones de 25(OH)D (calcidiol) en plasma

permanecen crónicamente por debajo de 20 nmol/ml (10ng/ml) el esqueleto es el primer órgano que muestra signos de deficiencia.

### **Vitamina D y mineralización ósea**

Como ya se mencionó, la 25(OH)D es una pro-hormona liposoluble conocida por su efecto en el hueso y por su papel determinante en la absorción y utilización de  $\text{Ca}^{++}$ .<sup>[20]</sup> Estudios iniciales reportaron que el raquitismo podía prevenirse a través de la radiación con luz UV, esta capacidad de producir suficientes cantidades de Vit D<sub>3</sub> mediante la exposición al sol indica que ésta no es una vitamina propiamente. Ahora se conoce que la Vit D es metabolizada como la hormona esteroidea: 1,25 hidroxivitamina D<sub>3</sub> 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> o calcitriol.

La importancia del 1,25(OH)<sub>2</sub>D es justamente la de mantener la mineralización del hueso transportando el  $\text{Ca}^{++}$  y fósforo del intestino a la circulación general y permitiendo así la mineralización pasiva de la matriz del hueso. Al presentarse bajas concentraciones de  $\text{Ca}^{++}$  sérico, la activación de los mecanismos celulares favorecen la salida del  $\text{Ca}^{++}$  del hueso al compartimiento extracelular de estos minerales y por consecuencia la desmineralización del hueso; de esta forma se explica de forma clara, que la deficiencia de esta vitamina contribuye a los padecimientos en las que la mineralización del hueso es deficiente como son la osteoporosis (OP), osteomalacia y raquitismo.<sup>[21]</sup>

El sistema endocrino de 25(OH)D ayuda a mantener las concentraciones de  $\text{Ca}^{++}$  extracelular a través de su acción en riñon, huesos, hormona paratiroidea e intestino. La 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> sintetizada en el riñon (túbulos proximales) induce la absorción intestinal de  $\text{Ca}^{++}$ , controla la remodelación ósea y suprime la función de la PTH, estos efectos logran mantener la homeostasis del  $\text{Ca}^{++}$ .<sup>[22]</sup>

### **Calcitriol**

La función más importante del calcitriol es la de mantener el  $\text{Ca}^{++}$  en concentraciones adecuadas para facilitar diversas funciones metabólicas, la trasducción de señales y la

actividad neuromuscular. Estas funciones las lleva a cabo interactuando con su receptor, en el intestino delgado. La 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, favorece su ingreso actuando en el canal epitelial del Ca<sup>++</sup> y otras proteínas que facilitan el movimiento del dicho nutrimento por el citoplasma y hasta la circulación general. Así mismo, ayuda a la absorción del fósforo en el intestino delgado.<sup>[20]</sup>

Cuando hay deficiencia de calcitriol únicamente se absorbe del 10 al 15% del Ca<sup>++</sup> de la dieta y en concentraciones adecuadas, hasta un 40%. En condiciones como la lactancia, el embarazo y crecimiento, se incrementan las concentraciones circulantes de 1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> favoreciendo la eficiencia de absorción del Ca<sup>++</sup> intestinal hasta el 80%. Cuando el Ca<sup>++</sup> en la dieta no es suficiente para cubrir los requerimientos diarios de este mineral, la 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> interactúa con los receptores de vitamina D de los osteoblastos induciendo la maduración de los osteoclastos para que inicien la resorción ósea y así extraer Ca<sup>++</sup> óseo y distribuirlo a través de la circulación. Adicionalmente la 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> tiene otros efectos directos sobre los osteoblastos, incrementando la expresión de la fosfatasa alcalina ósea, osteocalcina, osteonectina, osteopogreterina y una gran variedad de citocinas.<sup>[20]</sup>

### **Acciones no clásicas de 25(OH) D**

Una gran cantidad de publicaciones derivadas de estudios genéticos, nutricionales y epidemiológicos enlazan el sistema endocrino de la vitamina D con hipertensión arterial, desórdenes miopáticos, proclividad a infecciones, trastornos autoinmunes y cáncer. La proliferación clonal de células leucémicas se ve inhibida y promovida su diferenciación por la 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. En estudios epidemiológicos se ha demostrado asociación entre la deficiencia de 25(OH)D y cáncer de próstata, mama y colon. La apoptosis inducida por la 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> contribuye significativamente a la supresión de crecimiento en desórdenes hiperproliferativos. En estudios celulares se muestra que el sistema constituido por la 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> y el gen del receptor de la Vitamina D (VDR) secuestra células cancerosas a través de múltiples mecanismos, así mismo la producción de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> disminuye la progresión de células malignas en cáncer de próstata.<sup>[22]</sup>

### **Controles hormonales de metabolismo óseo**

La hormona paratiroidea (PTH) representa un potente mecanismo para el control de las concentraciones extracelulares de calcio y fosfato al regular la absorción intestinal, la excreción renal y el intercambio de estos iones entre el líquido extracelular y el hueso. El exceso de actividad de la glándula paratiroides causa liberación rápida de sales de calcio en los huesos, con la consiguiente hipercalcemia en el líquido extracelular; por el contrario su hipofunción da lugar a hipocalcemia y a menudo tetania.<sup>[20]</sup>

La PTH parece tener dos efectos sobre el hueso que provocan absorción de  $\text{Ca}^{++}$  y fosfato. Uno es una fase rápida que se inicia en minutos y aumenta progresivamente durante varias horas; esta fase es el resultado de la activación de las células óseas ya existentes (principalmente los osteocitos) para provocar la absorción de  $\text{Ca}^{++}$  y de fosfato. La segunda fase es mucho más lenta y requiere para su pleno desarrollo varios días o incluso semanas y es el resultado de la proliferación de osteoclastos seguida de un gran aumento de la reabsorción del propio hueso, no meramente de sales de fosfato cálcico del hueso.<sup>[20]</sup>

El hueso contiene tales cantidades del  $\text{Ca}^{++}$ , comparado con la cantidad total en todos los líquidos extracelulares, que incluso cuando la PTH causa una gran elevación de la concentración de  $\text{Ca}^{++}$  en los líquidos, es imposible discernir ningún efecto inmediato sobre los huesos. La secreción prolongada de PTH finalmente tiene como consecuencia una reabsorción ósea muy evidente en todos los huesos e incluso el desarrollo de grandes cavidades llenas de grandes osteoclastos multinucleados.<sup>[20]</sup>

Una mínima disminución de la concentración de  $\text{Ca}^{++}$  iónico en el líquido extracelular hace que las glándulas paratiroides aumenten en minutos su tasa de excreción; si la concentración de  $\text{Ca}^{++}$  se mantiene disminuida, las glándulas se hipertrofian hasta alcanzar en ocasiones un tamaño cinco veces mayor. Por otra parte, cualquier situación que eleve la concentración de  $\text{Ca}^{++}$  iónico disminuye la actividad y reduce el tamaño de las paratiroides. Entre estas situaciones figuran:

1. Cantidades de  $\text{Ca}^{++}$  excesivas en la dieta.
2. Aumento del contenido dietético de Vitamina D.
3. Reabsorción de hueso causado por factores ajenos a la PTH.<sup>[20]</sup>

### Calcitonina

Hormona peptídica secretada por la glándula tiroides cuyo efecto es disminuir las concentraciones plasmáticas de  $\text{Ca}^{++}$ ; en general, da lugar a efectos opuestos a la PTH. No obstante, desde el punto de vista cuantitativo, el papel que desempeña la calcitonina es mucho menor que el de la PTH en lo relativo a la regulación de la concentración del ion  $\text{Ca}^{++}$ .<sup>[20]</sup>

El principal estímulo para la secreción de calcitonina es el aumento en la concentración plasmática de  $\text{Ca}^{++}$  iónico. Es lo contrario de lo que ocurre con la secreción de PTH que aumenta al disminuir la concentración de  $\text{Ca}^{++}$ . Esta hormona tiene también efectos menos importantes sobre el  $\text{Ca}^{++}$  en los túbulos renales y en el intestino. Los efectos son opuestos a los de la PTH pero cuantitativamente parecen tener poca importancia.<sup>[20]</sup>

### Fuentes dietéticas y recomendaciones

Las fuentes principales de vitamina D en los alimentos son de origen animal como el aceite de pescado (salmón y macarela) y el aceite de hígado de pescado (bacalao). La vitamina D también puede obtenerse a través de los productos adicionados con esta vitamina (lácteos primordialmente leche y yogurt, cereales, pan y jugo de naranja).

La recomendación de consumo dietético de vitamina D en la actualidad en nuestro país está basada en las recomendaciones de la *National Academy of Science* del año 2000:

- |                                      |  |
|--------------------------------------|--|
| • Lactantes - adultos (31 a 50 años) | 5 $\mu\text{g}$ / día (200 UI).                  |
| • 51 - 70 años                       | 10 $\mu\text{g}$ / día (400 UI).                 |
| • > 70 años                          | 15 $\mu\text{g}$ / día (600 UI). <sup>[23]</sup> |

Después de que se establecieron estas recomendaciones se ha relacionado a la 25(OH)D en más funciones metabólicas tanto endocrinas como autócrinas. Se ha observado que concentraciones entre 20 y 29 nmol/L pueden prevenir raquitismo, sin embargo son necesarias concentraciones entre 70 y 80 nmol/L para otras funciones incluyendo la prevención de OP y enfermedades cardiovasculares.<sup>[24]</sup> De acuerdo con el informe de Heaney, la concentración de 25(OH)D en suero que se requiere para optimizar todas las funciones relacionadas con esta vitamina es de 32-48 ng/mL (80-120 nmol/L).<sup>[25]</sup>

### **Osteoporosis**

La OP es la enfermedad metabólica ósea más común, que afecta 200 millones de individuos a escala mundial.<sup>[26]</sup> Se define como la disminución de la DMO y la presencia de cambios degenerativos en la micro arquitectura del tejido óseo y consecuentemente un incremento en el riesgo de fracturas. Este riesgo se define parcialmente por las características del hueso, sin embargo, también es necesario considerar indicadores antropométricos y fisiológicos que también lo incrementan, así como la función cognitiva, composición corporal, talla y fuerza muscular.<sup>[27]</sup>

La fractura de cadera es la consecuencia más seria de la osteoporosis; este tipo de fractura se asocia a un 12 - 24% de mortalidad en mujeres y un 30% de mortalidad en hombres en el primer año de la fractura.<sup>[28, 29]</sup> En México, el riesgo de fractura de cadera en mayores de 50 años se estima de 8% en mujeres y 3.8% en hombres.<sup>[29, 30]</sup> Johansson et al informó que, de acuerdo con los cambios demográficos estimados para el 2050, el número de fracturas de cadera en México se incrementará de 29,732 (2005) a 155,874 en el 2050.<sup>[31]</sup> Los pacientes con fracturas osteoporóticas tienen un riesgo cuatro veces mayor de presentar una nueva fractura a comparación de los pacientes que no han tenido fracturas previas. Además, pacientes con fracturas vertebrales tienen un riesgo de 2 a 4 veces mayor de desarrollar fractura de cadera en un periodo de 4 años.<sup>[32]</sup>



Después de los 50 años de edad, existe un aumento exponencial en la aparición de fracturas del 40% en mujeres y 13% en hombres, siendo de éstas una o más fracturas osteoporóticas, con localizaciones más frecuente en la cadera, muñeca y vertebral.<sup>[28]</sup> En México una de cada doce mujeres y uno de cada 20 hombres tendrá una fractura de cadera después de los 50 años y en el caso de las fracturas vertebrales se ha reportado una prevalencia del 19.5% de las mujeres y el 9.8% de hombres.<sup>[33]</sup> El costo directo del tratamiento hospitalario de las fracturas de cadera en el 2006 en México fue mayor a 1.237 millones de pesos.<sup>[34]</sup>

La fragilidad ósea puede ser resultado de múltiples factores: 1) Falla para producir hueso de masa óptima durante el crecimiento; 2) Resorción ósea excesiva que lleva a una disminución en la masa ósea y deterioro de la microarquitectura del hueso; y 3) Respuesta de formación inadecuada al aumento en la resorción durante el remodelamiento óseo.<sup>[35]</sup>

Algunos aspectos de la OP presentan gran influencia genética. Esto se puede deducir, por ejemplo, del análisis de estudios epidemiológicos que han demostrado que en mujeres, una historia familiar materna de fractura se relaciona positivamente con riesgo recurrente de fracturas. La heredabilidad de esta enfermedad se estima alta, alcanzando un 50 - 80%.<sup>[27]</sup>

### **Factores asociados**

Las concentraciones de calcio, fósforo y vitamina D son importantes para la mineralización y formación de hueso, así como la hormona paratiroidea (PTH), la cual estimula la formación ósea. Mientras que, el estrógeno, los moduladores del receptor de estrógeno, la calcitonina y los bifosfonatos inhiben la resorción ósea. También, ciertos factores locales en hueso afectan la regulación de su formación y resorción, como las prostaglandinas, interleucinas (IL-1, IL-6 e IL-11), factor de necrosis tumoral (TNF), factores de crecimiento similares a insulina y factor de crecimiento de transformación (TGF).<sup>[26]</sup>

La heterogeneidad de la osteoporosis se debe no sólo a las diferencias en la producción de reguladores sistémicos o locales, sino también a los cambios en los receptores, en los mecanismos de transducción, los factores de transcripción nuclear y las enzimas que producen o inactivan reguladores locales. La identificación de estos mecanismos reguladores ligados a la osteoporosis ha conducido a la realización de diversos estudios genéticos.<sup>[36]</sup> Un estudio realizado en Australia incorpora en modelos pronósticos para riesgo de fractura basados en factores de riesgo clínicos el genotipo COLIA1, con lo que concluye que el desarrollo de exámenes genéticos es efectivo para identificar el riesgo absoluto individual de fractura, y con el conocimiento del mismo, conducir a un cambio en el estilo de vida del paciente o el uso de medicamentos para disminuir este riesgo.<sup>[37]</sup>

Nuestra capacidad para predecir qué pacientes son más proclives a presentar fracturas es limitada e incompleta. La evaluación de la densidad mineral ósea (DMO) y la determinación de factores de riesgo aún no es lo suficientemente precisa para identificar pacientes que eventualmente presentarán fracturas, algunos de estos factores de riesgo podrían ser genéticos.<sup>[38]</sup>

### **Aspectos genéticos**

El concepto de enfermedad “genética” ha evolucionado sustancialmente en las últimas décadas. Esto se debe no solamente a los recientes hallazgos en la naturaleza hereditaria de las enfermedades, sino también a la disponibilidad de nuevos métodos para identificar y caracterizar factores genéticos, que predisponen a la enfermedad. La importancia de conocer en dichos factores genéticos propone dos posibilidades: a) determinar un “perfil de riesgo” en etapas muy tempranas de la enfermedad, a través de técnicas genéticas moleculares, aún antes de que se presenten signos clínicos y b) diseñar estrategias de intervención terapéutica basadas en el conocimiento a escala molecular de la acción que generan las proteínas involucradas.<sup>[27]</sup>

Algunas enfermedades como la diabetes mellitus, hipertensión, asma y OP ocurren en un 5-59% de la población añosa. A diferencia de las enfermedades de componente

exclusivamente genético (padecimientos monogénicos), estas enfermedades prevalentes, tienen una naturaleza multifactorial (con interacción entre genes y ambiente), son multigénicas (varios genes involucrados) y usualmente se presentan a edades tardías con manifestaciones clínicas variables.<sup>[27]</sup>

Considerando el incremento en la expectativa de vida en hombres y mujeres en nuestra sociedad, éstas se incrementarán aún más, por lo que la búsqueda de genes responsables se ha convertido en una prioridad en la investigación clínica.<sup>[27]</sup> Los estudios realizados en gemelos y familias sugieren que la masa ósea está regulada por varios genes.<sup>[39, 40]</sup> Además, en estudios similares se ha comprobado el impacto de los efectos genéticos en otros determinantes del riesgo de fractura como la edad de la menopausia, algunas variantes geométricas en el cuello del fémur, ultrasonido cuantitativo, fuerza muscular, índice de masa corporal y marcadores de recambio óseo.<sup>[40]</sup>

Factores ambientales, tales como la dieta y el estilo de vida influyen en la densidad mineral ósea, sin embargo, se estima que el fondo genético explica del 40 a 80% de la variabilidad interindividual de la masa ósea.<sup>[39]</sup> Se han utilizado diferentes tipos de estudios para identificar los genes responsables de la variación de la DMO y del riesgo de fractura tales como estudios de ligamiento tanto en humanos como en animales, con los cuales se han identificado Loci de características cuantitativas (QTL) con lo que se vio que esta variación era dependiente del sitio y específico para sexo.<sup>[40]</sup>

Uno de los primeros descubrimientos en la genética de enfermedades complejas estuvo relacionado con la OP. Uno de los grupos involucrados concluyeron que la variación alélica del gen del receptor de Vitamina D (VDR) explicaba el 75% de la variabilidad de la DMO. Este fue un estudio relativamente pequeño (125 pares de gemelos y 311 mujeres no relacionadas) enfocado únicamente a un cambio en la región G3A (rs1544410) detectando un polimorfismo mediante la enzima de restricción BsmI en el intron 8. Este estudio fue publicado en la revista Nature en 1994. Más adelante se

encontraron errores de genotipificación en este estudio y los resultados se modificaron. Sin embargo, el gen VDR continuó figurando en los estudios de osteoporosis.<sup>[38]</sup>

En términos moleculares, la existencia de heredabilidad considerable para DMO como fenotipo significa que existen genes de “densidad ósea”, variantes que resultarán en grados de DMO diferentes entre individuos. Ya que estos genes generan variaciones cuantitativas, se refieren como loci de caracteres cuantitativos (QTLs). A partir de lo que sabemos de los cambios que pueden ocurrir en la DMO a través del tiempo, estas diferencias pueden ser aparentes en diferentes formas: masa ósea pico o diferencias en las tasas de pérdida ósea en edades avanzadas. Adicional a esto, la expresión de influencia genética en la DMO puede ser diferente en periodos de recambio óseo elevado como lo es la pubertad y menopausia.<sup>[27]</sup>

Los estimados de heredabilidad de la osteoporosis dejan lugar a la consideración de factores ambientales que puedan modificar esta predisposición genética. Algunas interacciones gen-ambiente incluyen la dieta, ejercicio y exposición a la luz solar. Los factores ambientales tienden a cambiar durante los diferentes periodos de la vida, lo cual puede resultar en diferentes “grados de expresión” de la susceptibilidad genética. Tomando todo esto en cuenta, resulta evidente que la osteoporosis está considerada como una patología de asociaciones genéticas compleja. Este carácter complejo se comparte con otras patologías asociadas con la edad como la osteoartritis, OP y raquitismo. Los factores genéticos serán transmitidos de generación en generación pero la expresión fenotípica dependerá de la interacción de variantes genéticas y factores ambientales.<sup>[27]</sup>

Otros de los métodos de estudio utilizados son los de expresión genética y de genes candidatos.<sup>[40]</sup> Se han propuesto genes candidatos relacionados con la salud ósea, sin embargo, la mayoría de los genes que contribuyen a la susceptibilidad para desarrollar osteoporosis, aún se encuentran por aclarar.<sup>[41]</sup> Los más estudiados han sido el gen receptor de la vitamina D (VDR), el gen del colágeno tipo I alfa 1 (COLIA1) y el gen receptor de estrógeno (ER), ésto basado en el conocimiento del metabolismo óseo.<sup>[40]</sup>

En población mexicana específicamente, se han estudiado las asociaciones de los polimorfismos del gen del receptor de estrógeno  $\alpha$  [42] y del gen de la Interleucina-6 [43] con la OP. En el primero, se demostró que la presencia del alelo G en el polimorfismo G2014A de este gen predispone a OP [42]. Mientras que en el segundo estudio, se asoció al alelo C del polimorfismo de un solo nucleótido C-174G y el alelo A3 del polimorfismo CA están asociados con la DMO de mexicanos. [43]

Tabla 2. Genes implicados en la presencia de osteoporosis. [44]

GEN	PRODUCTO GENICO	LOCALIZACIÓN
M-CSF	Factor de estimulación de colonias de macrófagos	1p21-P13
BGLAP	Osteocalcina	1q25
IL-1	Interleucina 1	2p13
TGF $\alpha$	Factor de Necrosis Tumoral $\alpha$	2p13
CASR	Receptor sensible a Ca $^{++}$	3q21-24
AHSG	Glicoproteína $\alpha$ 2HS	3q27
FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos	4q21
SPP1	Osteopontina	4q21
SPOCK	Osteonectina	5q31
IL-13	Interleucina 13	5q31
IL-4	Interleucina 4	5q31.1
ESR $\alpha$	Receptor de Estrógeno $\alpha$	6q25.1
IL-6	Interleucina 6	7p21
CALCAR	Receptor de Calcitonina	7q21.3
COLIA2	Colágena tipo 1 $\alpha$ 2	7q22
PDFG	Factor de crecimiento derivado de plaquetas	7q22
PTH	Hormona paratiroidea	11p15
CT(CPRG)	Calcitonina	11p15.1-2
VDR	Receptor de Vitamina D	12q13
INF $\gamma$	Interferón $\gamma$	12q14
COLIA1	Colágena tipo 1 $\alpha$ 1	17q22
ApoE	Apolipoproteína E	19q13
TGF- $\beta$ 1	Factor de crecimiento transformante $\beta$ 1	19q13
IL-11	Interleucina 11	19q13.3-q13.4

### Gen del receptor de vitamina D

Uno de los primeros genes estudiados con relación a la OP es el gen receptor de Vitamina D (*VDR*), sobre todo empleando las enzimas de restricción *BsmI*, *ApaI* y *TaqI*, en el intron8/exon9 en el extremo 3' del gen. Morrison et al, informaron que el *BsmI* en el último intron del gen *VDR* se relaciona con concentraciones de osteocalcina y subsecuentemente con DMO en un estudio de gemelos y en mujeres postmenopáusicas. En la última década se han publicado numerosos estudios evaluando el efecto del gen *VDR* en la DMO con marcadores como DXA, frecuencia de fracturas y concentraciones de Vitamina D y PTH entre otras. Así mismo se han evaluado las frecuencias alélicas de los polimorfismos de dicho gen encontrando diferencias significativas entre poblaciones. [27]

Uno de los polimorfismos descritos en este gen consiste en la transición (C→T) la cual condiciona la formación de un codón alterno para el inicio de la transcripción (ATG), esto ocurre a tres nucleótidos de distancia del codón de inicio original. Este tipo de polimorfismos puede ser identificado mediante la técnica de RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphic) usando para este fin la enzima de restricción *Fok I*. Este cambio puede identificarse también mediante PCR en tiempo real. Existen otros polimorfismos tipo Single Nucleotide Polimorfism (SNP), o de cambios en una sola base nitrogenada, que se han analizado con relación a la presencia de OP [45-50]

Dentro de los estudios reportados en la literatura científica, Kubota M, describió en el 2002 que en población japonesa, el polimorfismo M del gen *VDR* se asoció significativamente con la presencia de osteoporosis en mujeres premenopáusicas, en el 2003 se publica que dicha asociación no se encuentra en hombres por lo que se sugiere el análisis a partir de haplotipos para encontrar efectos clínicos más evidentes. Más adelante, en el 2004, se publica un metanálisis que concluye que el alelo B del gen se asocia con la DMO en columna y que al parecer el modelo responde a la modalidad recesiva. Ferrari SL en 2005 publica que el gen presenta interacciones con elementos no genéticos como el consumo de Ca<sup>++</sup> y los estrógenos lo cuales tienen efectos moduladores en la DMO, en el mismo año Bandrés E en España reporta que aquellos

pacientes con el polimorfismo FF alcanzaron los valores más altos de DMO entre mujeres postmenopáusicas. Más adelante (2006) Zajickova K y colaboradores publican que existe una asociación importante entre los valores de 25(OH)D y dicho gen en mujeres caucásicas postmenopáusicas. Finalmente en el 2008 se publica una fuerte asociación entre el alelo F del gen VDR y la presencia de raquitismo en niños del Medio Oriente así como una concentración menor de Vitamina D. (Tabla 3)

### **Polimorfismos génicos asociados a OP**

Todas las estrategias analíticas para localizar los “genes de la osteoporosis” están basadas en la observación de que la secuencia genómica del DNA entre dos individuos no es la misma y que tendrá diferencias en ciertas posiciones específicas a lo largo del genoma. Aunado a esto, la codificación y regulación de regiones en numerosos genes ha sido analizada para encontrar polimorfismos de nucleótidos. A partir de este enfoque, se ha estimado que existe en promedio una variante en cada 500pp. La clave en el análisis genético de regiones complejas es hallar aquellas que generan efectos importantes.<sup>[27]</sup>

Se conoce como polimorfismos a aquellos cambios en las pares de bases del genoma. Para que se considere polimorfismo, la frecuencia de este cambio tiene que ser mayor al 1% en la población, de lo contrario se consideraría sólo mutación. Éstos pueden ser de alta o baja penetrancia, los de baja penetrancia se presentan en la población con mayor frecuencia e influyen en el riesgo a desarrollar una enfermedad, es decir, confieren susceptibilidad genética a la enfermedad pero a menudo requieren de una exposición ambiental para que se presente.<sup>[51]</sup>

Los polimorfismos más frecuentes son los de un sólo nucleótido (SNP), otros tipos son los de repeticiones de una secuencia corta o deleciones o inserciones de secuencias cortas de nucleótidos. Las manifestaciones de estos polimorfismos dependen del locus donde ocurra, se pueden presentar en una zona codificante, en donde pueden modificar la actividad o función de la proteína, también en zonas del promotor de un gen o en un intrón y modificar su expresión o bien que estos cambios sean silentes sin

repercusiones funcionales. Los polimorfismos funcionales son los utilizados en los análisis de asociación para establecer si existe relación entre el gen candidato y la enfermedad.<sup>[51]</sup> Algunas de las variantes en las secuencias serán únicamente polimórficas, mientras otras presentarán consecuencias funcionales. Los polimorfismos funcionales son los que se consideran de interés para futuras evaluaciones en análisis de asociación, para establecer si el gen candidato está relacionado clínicamente con la presencia de osteoporosis.<sup>[27]</sup>

### **Polimorfismos del gen VDR**

Muchas variaciones alélicas o polimorfismos del gen VDR del cromosoma 12 ocurren naturalmente en la población humana, con diferencias importantes entre razas y grupos étnicos. Su expresión se asocia con disminución en la densidad mineral ósea, propensión al hiperparatiroidismo, resistencia a la terapia con Vit D y susceptibilidad a infecciones, enfermedades autoinmunes y cáncer. El polimorfismo más frecuentemente estudiado se localiza en el intron que separa el exon 8 y 9 y se identifica mediante las enzimas de restricción: *BmsI*, *Apal*, and *TaqI*. En la mayoría de los estudios epidemiológicos, se han encontrado correlaciones entre un polimorfismo específico y la variable fisiológica de interés. Estas son limitaciones importantes que dejan abierta la posibilidad de que las correlaciones observadas puedan ser debidas a otro sitio cercano o a otro gen.<sup>[22, 52]</sup>

Se han publicado diversos estudios desde 2001 determinando las diferentes frecuencias alélicas en diferentes poblaciones (Tabla 2) Hasta el momento estos polimorfismos no han sido estudiados en nuestra población y desconocemos la frecuencia de presentación de polimorfismos del gen VDR.



Tabla 3. Frecuencias alélicas del gen VDR en diversas poblaciones

POBLACIÓN	FRECUENCIAS ALÉLICAS
República Checa <sup>[53]</sup>	UU 75%, Uu 23%, uu 1.8%
España <sup>[54]</sup>	FF 46.7%, Ff 43.3%, ff 10%
Japón <sup>[55]</sup>	Bb 73.8%, Bb 24.6%, BB 1.6%, MM 15.1%, Mm 51.6%, mm 33.3%
China <sup>[56]</sup>	Han Bb 91.36%, Bb 8.64%, BB 0% Uygur bb 74%, Bb 18%, BB 74%
China <sup>[57]</sup>	Han bb 90.5%, Bb 9.5% , BB 0% Kazak 38.1%, Bb 55.56%, BB 6.35%

### Acciones del sistema 1,25(OH)D-VDR

La mayoría de las funciones del calcitriol están mediadas por el VDR, el cual se localiza en tejido implicados con la homeostasis del calcio como el intestino, células similares a osteoblasto, paratiroides y riñón. Además también se localiza en otros tejidos como la epidermis, músculo, páncreas, órganos reproductores y sistema hematopoyético.<sup>[58]</sup>

El VDR parece ser producto de un único gen localizado en cromosoma 12q13-14, el cual codifica un péptido de 427 aminoácidos y contiene 8 exones y varias regiones no codificadoras en la posición 5'.<sup>[58]</sup> Los polimorfismos que más frecuentemente se han estudiado están localizados en el intrón que separa los exones 8 y 9 y que fueron definidos por las enzimas de restricción *BmsI*, *Apal* y *TaqI*.<sup>[59]</sup> Estos polimorfismos en las regiones no codificadoras, aunque no alteran la estructura final del receptor, si pueden alterar su funcionalidad. Pertenece a la super-familia de receptores esteroideos/tiroideos y es un factor de transcripción ligando-inducido. Cuando se une con calcitriol interactúa con el DNA de los genes respondedores de 1,25(OH)D regulando su tasa de transcripción e inhibiendo simultáneamente a la del gen de la PTH.<sup>[52, 58]</sup>

Cuando existe una disminución de calcio en suero se estimulan los genes reguladores de VDR en el intestino y hueso lo que lleva a 1) Promover la absorción intestinal de calcio y fósforo y 2) liberar calcio y fósforo de la fase mineral del hueso.<sup>[60]</sup>

Tabla 4. Revisión de la asociación del gen VDR con DMO

REFERENCIA	Bsm	FokI	TaqI	Apal	RESULTADOS
<i>Ann Intern Med.</i> 2009 October 20; 151(8): 528–537.					Meta-análisis GWAS con 150 genes candidatos 19,195 sujetos. No asociación de fracturas con VDR.
<i>Ann Intern Med.</i> 2006;145:255-264.	X	X	X	X	Meta-análisis 26242 sujetos, sin asociación con fracturas vertebrales
<i>Acta Reumatol Port.</i> 2007 Jul-Sep;32(3):231-40.					Contribución del gen a la DMO < 3%
<i>J Clin Endocrinol Metab.</i> 2008 May;93(5):1743-50. Epub 2008 Feb 19.					Frecuencia alélica alelo F mayor en niños con raquitismo (p <0.05) Genotipo BB asociado con menores concentraciones de 25-OH D en raquitismo.
<i>Calcif Tissue Int.</i> 2007 Jan;80(1):15-20. Epub 2006 Dec 8.		X			Genotipo ff menor DMO lumbar por DXA y por QUS (P < 0.001). Concentraciones de osteocalcina mayores en ff y Ff. FokI contribuye en el recambio de masa ósea en pre y postmenopáusicas
<i>Osteoporos Int.</i> 2007 Feb;18(2):235-43. Epub 2006 Oct 5.					Polimorfismo de COL1A1 interacciona con VDR.
<i>Clin Chem Lab Med.</i> 2006;44(9):1066-9.					Polimorfismo VDR IVS8+443G>A asociado con coentraciones de 25OH D3 en mujeres caucásicas postmenopáusicas.
<i>Endocrine.</i> 2006 Jun;29(3):413-8.					RR para DMO fue de 3.14 para FokI y 2.44 para BsmI. Asociados con DMO de antebrazo y columna lumbar.
<i>Natl Med Assoc.</i> 2006 Jul;98(7):1102-8.					Polimorfismos de SNP asociados.
<i>J Clin Nutr.</i> 2006 Jun;83(6):1411-9.	X	X		X	La variación de la DMO en columna y antebrazo relacionado con gen VDR más que las concentraciones de 25(OH)D en individuos con hipovitaminosis.
<i>Bone Miner Res.</i> 2006 Jan;21(1):151-62. Epub 2005 Sep 12.	X	X		X	El gen VDR no demostró influencia en la DMO o recambio óseo en mujeres caucásicas con consumo adecuado de Ca <sup>++</sup> .
<i>Endokrynol Pol.</i> 2005 May-Jun;56(3):233-9.					Relación significativa entre DMO y el alelo T del TaqI del gen VDR. Los genotipos aa, bb, TT del gen VDR ocurren con mayor frecuencia en población polaca con osteoporosis.
<i>Chin Med J (Engl).</i> 2005 Aug 5;118(15):1235-44.				X	VDR-Apal, no mostró asociación con la DMO.
<i>J Endocrinol Invest.</i> 2005 Apr;28(4):312-21.					Los sujetos con FF del gen VDR presentaron los valores más altos de DMO y los ff los valores más bajos.

<p>Mol Aspects Med. 2005 Jun;26(3):145-67.</p>				<p>VDR-Bsml no se asoció con la DMO.El determinante más fuerte de DMO fue el polimorfismo FokI.</p>
<p>Rheumatol. 2005 Apr;32(4):678-83.</p>				<p>El gen VDR mostró interacción con factores no genéticos moduladores de la DMO como estrógenos o ingesta de calcio.</p>
<p>Calcif Tissue Int. 2004 Nov;75(5):373-9. Epub 2004 Jul 30. Int J Epidemiol. 2004 Oct;33(5):979-88. Epub 2004 Sep 9.</p>				<p>El alelo B del gen VDR se asoció con incremento en la severidad de osteofitosis. Interacción entre el peso al nacimiento para riesgo de osteofitosis en hombres.(p 0.04).</p>
<p>J Bone Miner Res. 2004 Mar;19(3):419-28. Epub 2003 Dec 29.</p>				<p>DMO sin asociación con VDR</p>
<p>Kidney Int Suppl. 2003 Jun;(85):S14-8.</p>				<p>No se encontró asociación entre los polimorfismos del gen VDR y DMO.</p>
<p>Hum Biol. 2003 Jun;75(3):399</p>	<p>X</p>	<p>X</p>	<p>X</p>	<p>Alelo B asociado significativamente con la DMO en columna.</p>
<p>Calcif Tissue Int. 2002 Jun;70(6):457-62. Epub 2002 May 27.</p>				<p>Ninguno de los polimorfismos del gen VDR mostró asociación con fractura.</p>
				<p>Mayor frecuencia de Bsml en mujeres con OP El genotipo FokI FF no se asoció a OP.</p>
				<p>No se encontró asociación con el gen VDR no COL1A con la incidencia de osteoporosis, concentraciones de fosfatasa alcalina y estradiol.</p>

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

A través de la revisión de la literatura médica es evidente que la deficiencia de 25(OH)D es determinante en el desarrollo de enfermedades del hueso en todas las etapas de la vida: se asocia a raquitismo en los niños, osteomalacia en los adultos y OP en los adultos mayores. El raquitismo y la osteomalacia son trastornos que específicamente cursan con un defecto en la mineralización de la matriz orgánica del esqueleto, mientras que la OP se caracteriza por la pérdida sostenida de la densidad mineral ósea con alteraciones en su micro arquitectura, cuya consecuencia son las fracturas por fragilidad que se asocian a una morbilidad, mortalidad y costos de tratamiento elevados.<sup>[61]</sup>

En la actualidad en México las fracturas por fragilidad, consecuencia más temible de la osteoporosis representan un problema de salud pública solo parcialmente reconocido. La prevalencia de fracturas de vertebra es alta (19.5% en mujeres y cerca del 10% en hombres) y la incidencia de las fracturas de cadera va en aumento de forma importante y paralela al crecimiento y envejecimiento de nuestra población. En un estudio reciente se reporta que en el periodo de 2000 a 2006 el incremento en la fractura de cadera fue del 28%, y las proyecciones de nuestro país para el año 2050 nos refieren que este tipo de fractura aumentará en más del 400% para el año 2050 (de 29,732 a 155, 874) por año<sup>[33]</sup> El costo directo del tratamiento hospitalario de este tipo de fractura, que en el año 2006 en México se estimó de 1.237 millones de pesos se incrementará para el 2025 en un 211% para una cifra estimada de 2.6 millones de pesos y se elevará a 4.5 millones de pesos para el 2050.<sup>[34]</sup>

La 25(OH)D tiene un papel predominante en la fisiopatología de la salud del hueso y se encuentra también involucrada en la regulación de expresión de genes, en el proceso de proliferación diferenciación y apoptosis de aspectos de inmunidad primaria y adquirida y procesos de inflamación crónica a nivel celular. Por lo tanto, su deficiencia repercute tanto en el hueso como en otras patologías en las que actualmente se estudia el impacto de su deficiencia como son las enfermedades crónicas como hipertensión, diabetes y algunos tipos de cáncer.

En nuestro país, se cuenta con pocos estudios que describan la prevalencia de esta deficiencia en diversos grupos de población, así como el componente genético asociado a la presencia de osteoporosis. El profundizar en el estudio de la vitamina D y conducir mas investigación en estos aspectos permitirá en un futuro tener la suficiente evidencia científica para realizar estrategias de prevención en grupos vulnerables y recomendaciones sobre la suplementación óptima de esta vitamina para nuestra población en caso necesario. Por esta razón este proyecto de investigación esta orientado a conocer las concentraciones de 25 (OH) vitamina D en una muestra amplia de mexicanos clínicamente sanos con diferentes grupos de edad, además de buscar en un subgrupo de esta muestra la exploración de alguna asociación genética a través de los polimorfismos de vitamina D.

## **METODOLOGIA**

Este proyecto aborda dos aspectos relacionados con la vitamina D en nuestra población mexicana: El primero se relaciona con el estatus de la vitamina D (los niveles de concentración de la 25(OH)D) y el objetivo es definir la prevalencia de deficiencia e insuficiencia de 25(OH)D, de acuerdo a puntos de corte internacionales y su asociación con la densidad mineral ósea (DMO), para lo cual se realizó un estudio transversal analítico en una muestra amplia de población de voluntarios clínicamente sanos. El segundo objetivo se relaciona con las frecuencias alélicas específicas del gen VDR para lo cual se eligió el diseño de casos y controles con una submuestra de pacientes con osteoporosis.

El reclutamiento de voluntarios del proyecto de 25(OH)D se realizó en el Centro de Investigaciones Médicas de la Universidad Autónoma del Estado de México (CICMED) en colaboración con la clínica Osteosol. Los casos y controles para el estudio genético se reclutaron en el Instituto Nacional de Rehabilitación en el Área de Densitometría y las muestras fueron procesadas en la Unidad de genética del instituto.

### **Reclutamiento de Participantes**

Para la determinación de 25(OH)D las muestras sanguíneas se obtuvieron en el CICMED. Se realizó una convocatoria a empleados y familiares de escuelas secundarias y preparatorias del Estado de México y centros de retiro para aquellos mayores de 60 años. La muestra de mujeres para el estudio genético, se reclutó en la Clínica de Osteoporosis del Instituto Nacional de Rehabilitación.

Previa explicación de los objetivos y la firma del consentimiento informado, se aplicaron los cuestionarios que fueron diseñados para este estudio, se realizó la densitometría ósea y posteriormente se obtuvieron las muestras sanguíneas para la determinación de los exámenes de laboratorio (Calcio, Fósforo, PTH, Fosfatasa Alcalina y 25(OH)D) para los reclutados en el CICMED y polimorfismos del gen VDR para los participantes reclutados en el INR.

El personal de ambos centros estaban capacitados para la extracción y cuidado de las muestras biológicas, la coordinadora del estudio realizó la obtención de suero, refrigerado y transporte de las muestras. La persona responsable de realizar la densitometría estaba capacitada para la utilización de este equipo el cual se calibraba diariamente y cumplió a su vez con todas las especificaciones para la realización de esta prueba.

Todos los datos fueron vaciados en una base de datos (SPSS v17) para su análisis.

### **Cuestionarios aplicables:**

Los cuestionarios que se utilizaron en este estudio fueron diseñados utilizando reactivos de cuestionarios validados en nuestra población. Este instrumento incluye variables demográficas, socioeconómicas, historia familiar de enfermedades crónico degenerativas, historia personal de enfermedades, frecuencia de alimentos, ejercicio y estilos de vida (tabaquismo, alcoholismo, uso de medicamentos, exposición al sol, color de piel y antecedentes gineco-obstétricos).

La experiencia en los años previos permite documentar que la información recolectada por medio de estos instrumentos es de buena calidad, con más del 98% de respuesta en los reactivos de distintas secciones.<sup>[62]</sup> La aplicación de este cuestionario a los sujetos del estudio fue realizada por cuatro entrevistadoras que se encontraron capacitadas para la aplicación del mismo. Una copia de este cuestionario puede verse en el anexo 1

### **Estudios clínicos y de gabinete**

La determinación de los cambios en la densidad mineral ósea y su monitoreo se realizaron con la técnica de absorciometría dual de rayos X (DXA) considerada el estándar de oro, debido a su precisión, sensibilidad y dosis bajas de radiación. Ésta se utiliza para medir la densidad mineral ósea (DMO) de la espina lumbar, cadera, cuerpo total y brazo. Su utilidad radica en que se puede conocer el contenido de  $\text{Ca}^{++}$  en el hueso formando parte de los cristales de hidroxiapatita y establecer el riesgo de fracturas y es útil para el seguimiento de los pacientes con pérdida de hueso.

Utilizando esta técnica con error de precisión menor de 2% y las facilidades logísticas para las mediciones lo convierten en un procedimiento de gran utilidad para estudios a gran escala. Los criterios que definen la osteoporosis y la masa ósea baja son los publicados por la OMS en 1994.<sup>[61, 63, 64]</sup>

Se utilizaron los valores de referencia de población hispánica ajustadas por sexo y edad. Para aquellos voluntarios menores de 50 años de edad se utilizó el puntaje Z y se definió masa ósea baja para la edad cuando presentaban valores inferiores a -2.0SD, de acuerdo a la Sociedad Internacional de Densitometría Clínica<sup>[65]</sup>. Para voluntarios mayores a 50 años se utilizó el puntaje T, definiendo osteopenia cuando el valor se encontrara entre -1 y -2.5 SD y osteoporosis cuando fuera inferior a -2.5 SD. Para fines de análisis, Masa Ósea Baja para la edad, osteopenia y osteoporosis se agregaron en una variable: Mas Ósea Baja. Los pacientes fueron clasificados como normales, cuando ninguna de las dos regiones se encontraba afectada. Cada una de las regiones fue clasificada independientemente de la otra. Las mediciones somatométricas se realizaron por personal capacitado para estos fines por medio de estadímetros convencionales y básculas previamente calibradas.

Las muestras sanguíneas congeladas se utilizaron para determinar marcadores metabólicos o factores de riesgo de interés. La determinación de Calcio, Fósforo y Fosfatasa Alcalina se llevaron a cabo en el Laboratorio Central y la PTH se determinó en el Laboratorio de Metabolismo Mineral Óseo del Hospital Infantil de México “Federico Gómez”,. La determinación de 25(OH)D se realizó en el Laboratorio de Enfermedades Óseas Metabólicas de la Universidad de TUFTS en Boston, USA a cargo de la Dra. Cheryl Garganta. Todos los resultados fueron capturados en una base de datos para ser después analizados estadísticamente.



## **ESTUDIO DE 25(OH) VITAMINA D**

### **Pregunta de Investigación**

¿Cuáles es la prevalencia de deficiencia e insuficiencia de 25(OH)D en el suero de una muestra de población mexicana sana?

### **Objetivo General**

- Determinar la prevalencia de deficiencia e insuficiencia de 25(OH)D en una muestra de población mexicana sana de 13 a 80 años.

### **Objetivos específicos**

- Correlacionar las concentraciones de vitamina D y PTH en suero con la densidad mineral ósea, calcio y fósforo de la población en estudio.

### **Criterios de inclusión**

Maestros, alumnos y trabajadores de escuelas secundaria y preparatoria así como centros de retiro del Estado de México.

- Sexo indistinto
- 13 a 80 años
- Firma de carta de consentimiento informado.
- Asentimiento informado en los individuos menores a 18 años.

### **Criterios de exclusión**

- Presencia de enfermedades genéticas que alteren el metabolismo óseo (osteogénesis imperfecta, displasia ósea).
- Retraso psicomotor
- Diagnóstico de enfermedades autoinmunes (Lupus Eritematoso, artritis reumatoide, etc.)

### **Tamaño de muestra**

Tomando de la literatura las diferentes prevalencias publicadas por grupo de edad, se realizó un cálculo de tamaño de muestra para deficiencia e insuficiencia de 25(OH)D.

Utilizando un nivel de confianza del 0.05 con la fórmula de estudios descriptivos o encuestas poblacionales, se describen a continuación <sup>[66]</sup>:

$$n = z^2_{\alpha/2}pq/FE^2$$

Grupo de edad	Estudio	Deficiencia	Prevalencia	Muestra	Insuficiencia	Prevalencia	Muestra
14 a 29	Nhanes (1-21 años)	< 15ng/mL	9%	<b>125</b>	15-29 ng/mL	61%	365
30 a 50	España (26 años)	< 20ng /mL	27.58%	<b>307</b>	20-30 ng/mL	56.03%	378
> 50 años	Argentina (71 años)	< 10ng /mL	25%	<b>115</b>			
> 50 años	USA (77 años)	< 10ng/mL	8.2%	288	< 20 ng/mL	36.7%	357

### Análisis estadístico.

1. Se realizó estadística descriptiva por sexo y estrato de edad para reportar las prevalencias de deficiencia e insuficiencia de Vitamina D.
2. Para ajustar la asociación de 25(OH)D con la DMO por diversas variables (PTH; Ca, P, etc.) se realizó una análisis de regresión logística múltiple.
3. Para todos los análisis, se consideró significativo un valor de  $p < 0.05$ .

## ASOCIACION DE POLIMORFISMOS

Para explorar los aspectos genéticos se realizó un estudio de casos y controles con la siguiente pregunta y objetivos:

### Pregunta de investigación

¿Cuáles son las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs7975232 del gen receptor de vitamina D (VDR) en un grupo de mujeres mexicanas con y sin osteoporosis?

### Objetivo general

- Determinar la frecuencia alélica y genotípica del polimorfismo del loci ya referido del gen VDR, en un grupo de mujeres con y sin osteoporosis.

### Objetivos específicos

- Identificar los genotipos más frecuentes presentes en la población de mujeres con y sin osteoporosis.
- Analizar la asociación de los genotipos obtenidos con respecto a la DMO en los dos grupos de estudio.

### Hipótesis

Las frecuencias alélicas y genotípicas para los polimorfismos de nucleótido único (SNPs) estudiados en el gen VDR serán diferentes entre mujeres con y sin osteoporosis.

### Criterios de inclusión

- Que confirmen no tener relación biológica con otras mujeres incluidas, es decir que no compartan ningún parentesco.
- Que confirmen al menos tres generaciones de residencia en la misma área geográfica.
- Firma de la carta de consentimiento informado.

### **Criterios de exclusión**

- Presencia de enfermedades óseas concomitantes que de alguna forma afecte el fenotipo óseo (displasias óseas, osteogénesis imperfecta).

### **Tamaño de muestra**

De acuerdo a los resultados de un estudio similar, realizado por la Dra. Valdés y colaboradores, se tomaron las frecuencias alélicas publicadas y se utilizaron las fórmulas correspondientes para un estudio de casos y controles.<sup>[67, 68]</sup> Utilizando la frecuencia reportada en mujeres con osteoporosis (60%) con un OR de 2.58 (IC 95% 1.62-4.12).

$$n=(Z_{\alpha} \sqrt{2pq} + Z_{\beta} \sqrt{p_1q_1 + p_0q_0})^2 / (p_1 - p_0)^2$$

Se obtuvo una muestra de 103 casos y 103 controles.

### **Análisis estadístico**

Se analizaron las frecuencias alélicas del polimorfismo tipo SNP rs 7975232 localizado en el gen VDR mediante PCR tiempo real:

Dependiendo de los alelos identificados en cada paciente y el polimorfismo analizado se asignaron los respectivos alelos y genotipos para la realización del análisis de los datos.

- Las diferencias entre la distribución de los diferentes genotipos y alelos de los diferentes loci entre los 2 grupos y el equilibrio de Hardy-Weinberg se analizaron a través de la prueba de Ji cuadrada.

### **CONSIDERACIONES ÉTICAS.**

Se considera que este estudio es de riesgo mínimo de acuerdo con el Título segundo art: 13, 14, 16, 17 parte II de la Ley General de Salud, por lo que es necesario recabar la firma del consentimiento informado a los padres o tutores y el asentimiento informado a niños de 8 a 17 años 11 meses. Cumple con las especificaciones de los artículos 14, 34-39 en referencia a los estudios realizados en investigación en menores de edad.

El protocolo fue aprobado por el comité de ética del Hospital Infantil de México "Federico Gómez" el 23 de marzo del 2010 con el número HIM/2009/048.

## RESULTADOS

En un total de, quinientos ochenta y cinco voluntarios, fue determinada la concentración de 25(OH)D. El 45.8% (n 268) fueron hombres y el resto mujeres y la distribución por edad de la muestra fue igual a la definida en el estimado de la muestra. La tabla 1 resume las características basales de la población. La media de edad ( $\pm$  DE) fue de 41.1 años ( $\pm$ 15), predominando el nivel escolar superior en ambos géneros, seguido del nivel secundaria. La mayoría de los hombres reportó realizar trabajo de oficina (27.6%) y las mujeres ser amas de casa (34.7%). El ingreso mensual medio fue más prevalente en el grupo de los hombres y el bajo en el de las mujeres.

Se observó una alta prevalencia de sobrepeso en la muestra total (41.4%), sin embargo, los hombres mostraron mayor frecuencia de sobrepeso y las mujeres de obesidad. La media de concentración de 25(OH)D fue baja en ambos sexos (23.2 y 19.3ng/mL) para hombres y mujeres respectivamente, alcanzando niveles de deficiencia en el grupo de las mujeres. Los valores de calcio, fósforo, fosfatasa alcalina y PTH se mantuvieron en rangos normales en ambos sexos.

Tabla 1. Características basales de la población de estudio

<b>VARIABLE</b>	<b>HOMBRES N 268</b>	<b>MUJERES N 317</b>	<b>TOTAL N 585</b>
<b>Edad **</b>	40.26 (15.15)	42.44 (15)	41.44 (15.09)
<b>Escolaridad n(%)</b>			
Básica	32 (11.9)	47 (14.8)	79 (13.5)
Secundaria	58 (21.6)	50 (15.8)	108 (18.5)
Preparatoria	61 (22.8)	57 (18)	118 (20.2)
Superior	117 (43.7)	163 (51.4)	280 (47.9)
<b>Ocupación n(%)</b>			
Hogar	0 (0)	110 (34.7)	110 (18.8)
Estudiante	47 (17.5)	43 (13.6)	90 (15.4)
Obrero	16 (6)	6 (1.9)	22 (3.8)
Personal de oficina	74 (27.6)	36 (11.4)	110 (18.8)
Comerciante	25 (9.3)	26 (8.2)	51 (8.7)
Profesionista	39 (14.6)	25 (7.9)	64 (10.9)

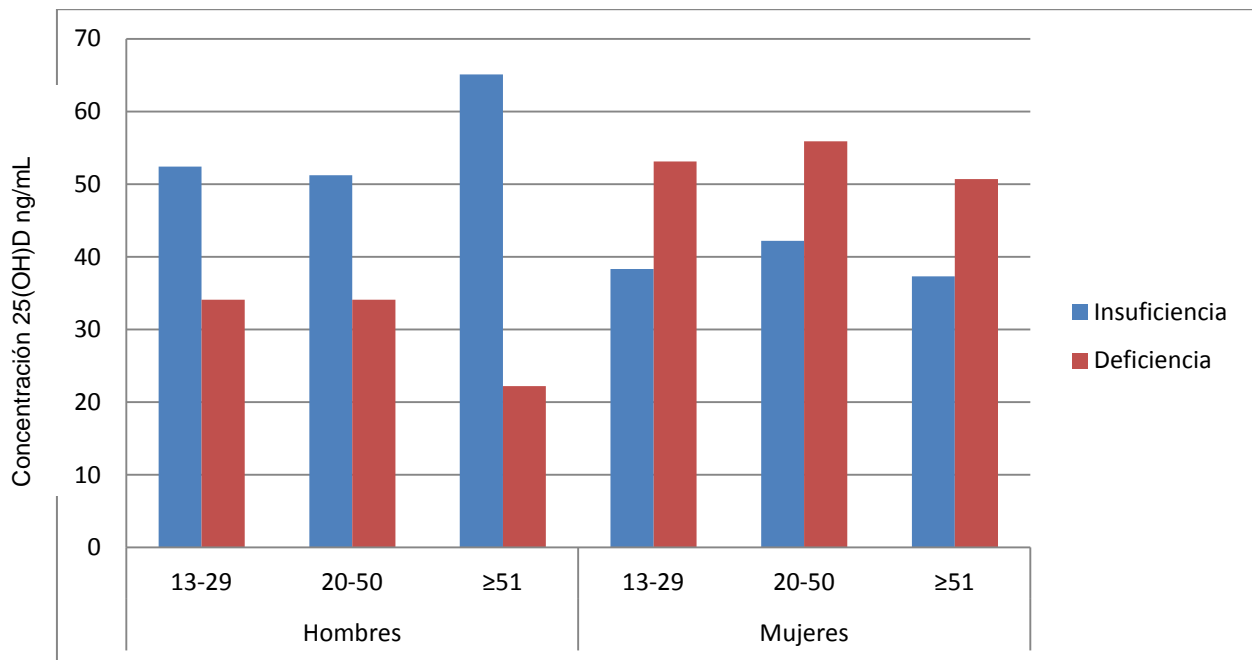
Otra	67 (25)	71 (22.4)	138 (23.6)
<b>Ingreso Mensual (\$) n(%)</b>			
Bajo (< 5999)	83 (31)	123 (38.8)	206 (35.2)
Medio (6000-11540)	94 (35.1)	114 (36)	208 (35.6)
Alto (> 11540)	91 (34)	80 (25.2)	171 (29.2)
<b>IMC n(%)</b>			
Bajo Peso	89 (33.2)	125 (39.4)	214 (36.6)
Normal	8 (3)	4 (1.3)	12 (2.1)
Sobrepeso	121 (45.1)	121 (38.2)	242 (41.4)
Obesidad	50 (18.7)	67 (21.1)	117 (20)
<b>Valores séricos</b>			
25(OH)D ng/mL*	23.2 (5.7-57.2)	19.3 (7.3-39.4)	20.9 (5.7-57.2)
25(OH)D nmol/L*	58 (14.3-142.8)	47.9 (18.3-98.3)	52.3 (14.3-142.8)
<b>NHANES</b>			
>30ng/mL	37 (13.9)	19 (6)	254 (43.5)
20-29.9 ng/mL	147 (55.1)	127 (40.1)	274 (46.9)
<20ng/mL	83 (31.1)	171 (53.9)	254 (43.5)
<b>Medicine Institute<sup>[69, 70]</sup></b>			
≥20ng/mL	184 (68.9)	146 (46.1)	330 (56.5)
<20ng/mL	83 (31.1)	171 (53.9)	254 (43.5)
Fósforo mg/dL*	3.3 (0.98-6.09)	3.44 (1.71-4.98)	3.4 (0.98-6.09)
Fosfatasa Alcalina U/L*	92 (4.47-57.2)	80 (24-236)	86 (4.47-567)
PTH pcg/mL*	25.93 (5.55-227.9)	25.05 (5.68-174.62)	25.93 (5.55-227.9)

\*Mediana (min-max), \*\* Media (±DE)

Los niveles de concentración de 25(OH)D pueden observarse en la tabla 1 y 2. Si elegimos el punto de corte sugerido por el Instituto de Medicina<sup>[69, 70]</sup> observamos una prevalencia general de deficiencia del 43.5%, siendo ésta más frecuente en mujeres que hombres (53.9 y 31.1% respectivamente. (Tabla1) Utilizando los puntos de corte del estudio NHANES 2001-2006, (<20, 21-29 y >30ng/mL) observamos una prevalencia general de insuficiencia del 45.4, 46.1 y 50% de los grupos de 14-29, 30-50 y mayores de 51 años respectivamente. El grupo de 30-50 años presentó las concentraciones más bajas de la población analizada, alcanzando una prevalencia de insuficiencia del 46.1% y de deficiencia del 46.5%. En relación a los hombres, el grupo más afectado fue el de mayores de 51 años mostrando una prevalencia de insuficiencia del 65.1% y de

deficiencia del 22.2%. El grupo de 30-50 años fue el que mostró una mayor proporción de hombres con concentraciones normales. Así mismo, en las mujeres, el grupo de edad más afectado fue el de 30-50 años, alcanzando una prevalencia de insuficiencia y deficiencia del 42.2 y 55.9% respectivamente, la prevalencia de deficiencia extrema ( $\leq 10$ ng/mL) fue de 1.5% para los hombres y de 2.5% para el grupo de las mujeres. (Figura 1 y Tabla 2).

Figura 1. Prevalencia de deficiencia e insuficiencia de 25(OH)D por grupo de edad y sexo



Puntos de corte utilizados<sup>[69]</sup>: Normal  $\geq 30$ ng/mL, insuficiencia 20-29 ng/mL y deficiencia  $< 20$  ng/mL



Tabla 2. Prevalencia de deficiencia e insuficiencia de 25(OH) en la población de estudio por sexo y edad

<b>VARIABLE</b>	<b>Normal ≥ 30 ng/mL</b>	<b>Insuficiencia 20-29 ng/mL</b>	<b>Deficiencia ≤ 20 ng/mL</b>
<b>TOTAL n(%)</b>			
14-29 años	18 (11)	74 (45.4)	71 (43.6)
30-50 años	21 (7.4)	131 (46.1)	132 (46.5)
Mayores a 51 años	17 (12.3)	69 (50)	52 (37.7)
<b>HOMBRES n(%)</b>			
14-29 años	11 (13.4)	43 (52.4)	28 (34.1)
30-50 años	18 (14.6)	63 (51.2)	42 (34.1)
Mayores a 51 años	8 (12.7)	41 (65.1)	14 (22.2)
<b>MUJERES n(%)</b>			
14-29 años	7 (8.6)	31 (38.3)	43 (53.1)
30-50 años	3 (1.9)	68 (42.2)	90 (55.9)
Mayores a 51 años	9 (12)	28 (37.3)	38 (50.7)

Criterios NHANES < 20, 20-29 y >30ng/MI

El estudio NHANES en menores de edad (<21 años) sugirió en años pasados utilizar un punto de corte que se asociara con datos de raquitismo en la población pediátrica. (<15ng/mL para insuficiencia y 15-29ng/mL para deficiencia), la Tabla 2 muestra ambas prevalencias, tomando en cuenta el criterio anterior para la población menor a 21 años. Observamos que al comparar las tablas, hay un incremento en la proporción de jóvenes con insuficiencia y disminución en aquellos con diagnóstico de deficiencia. (Tabla 3)

Tabla 3. Prevalencia de deficiencia de 25(OH)D en la población por sexo y grupo de edad (clasificada por diferentes criterios de acuerdo al grupo de edad.)

<b>VARIABLE</b>	<b>Normal ≥ 30 ng/mL</b>	<b>Insuficiencia 15 y 20-29 ng/mL</b>	<b>Deficiencia ≤ 15 y 20 ng/MI</b>
<b>TOTAL n(%)</b>			
14-29 años	18 (11)	88 (54)	57 (35)
30-50 años	21 (7.4)	131 (46.1)	132 (46.5)
Mayores a 51 años	17 (12.3)	69 (50)	52 (37.7)
<b>HOMBRES n(%)</b>			
14-29 años	11 (13.4)	49 (59.8)	22 (26.8)
30-50 años	18 (14.6)	63 (51.2)	42 (34.1)
Mayores a 51 años	8 (12.7)	41 (65.1)	14 (22.2)
<b>MUJERES n(%)</b>			
14-29 años	7 (8.6)	39 (48.1)	35 (43.2)
30-50 años	3 (1.9)	68 (42.2)	90 (55.9)
Mayores a 51 años	9 (12)	28 (37.3)	38 (50.7)

Menores de 21 años (<15, 15-29 y >30ng/mL) mayores (<20, 20-29 y > 30ng/dL)

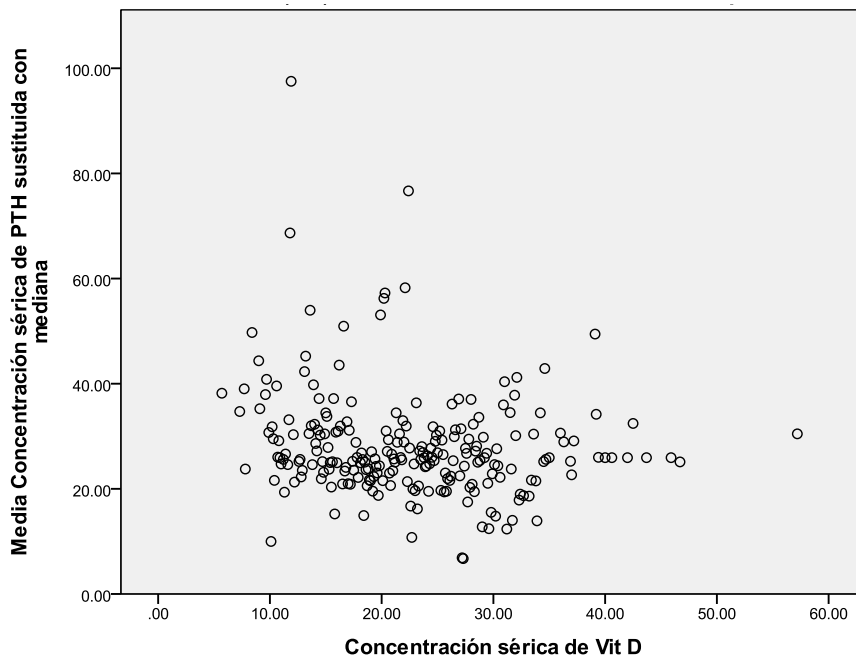
En referencia a las concentraciones de PTH (Tabla 4), la mayor parte de la población se encontró con valores normales, el grupo de menores de 29 años fue el que presentó una mayor proporción de individuos con concentraciones bajas.

Tabla 4. Concentraciones de PTH de la población de estudio

	<b>Bajo</b> <b>&lt; 11pcg/mL</b>	<b>Normal</b> <b>11-62 pcg/mL</b>	<b>Alto</b> <b>&gt; 62 pcg/mL</b>
<b>TOTAL n(%)</b>			
14-29 años	15 (9.2)	147 (90.2)	1 (0.6)
30-50 años	8 (2.8)	272 (95.8)	4 (1.4)
Mayores a 51 años	0 (0)	133 (96.4)	5 (3.6)
<b>HOMBRES n(%)</b>			
14-29 años	9 (11)	72 (87.8)	1 (1.2)
30-50 años	2 (1.6)	120 (97.6)	1 (0.8)
Mayores a 51 años	0 (0)	61 (96.8)	2 (3.2)
<b>MUJERES n(%)</b>			
14-29 años	6 (7.4)	75 (92.6)	0 (0)
30-50 años	6 (3.7)	152 (94.4)	3 (1.9)
Mayores a 51 años	0 (0)	72 (96)	3 (4)

Así mismo, si correlacionamos las concentraciones de 25(OH)D con PTH, observamos una correlación negativa, estadísticamente significativa (-0.085, p 0.039) (Figura 2).

Figura 2: Correlación de las concentraciones de 25(OH)D con PTH



Correlación Pearson -0.085, p 0.039

Para evaluar la asociación de 25(OH)D con baja masa ósea en columna y cadera total, se realizó una regresión logística (ajustada por edad, sexo, IMC, concentraciones de 25(OH)D, Fósforo, Fosfatasa Alcalina, PTH, ocupación y actividad física). Como se puede observar en las tablas, en ambas regiones la edad y actividad física resultaron estadísticamente significativas. Para la región L1-L4, la deficiencia de Vitamina D (OR 0.155, 95%IC 0.037-0.656, p 0.011) y la práctica de ejercicio a cualquier intensidad fueron factores protectores para baja masa ósea. Para la DMO en cadera, la presencia de obesidad (OR 0.114, 95%IC 0.035-0.366, p 0.000) y el ejercicio intenso (OR 0.149, 95%IC 0.038-0.59, p 0.006) se mostraron factores protectores para baja masa ósea en esta región. (Tablas 5 y 6)

Tabla 5. Asociación 25(OH)D en 2 categorías (< 30nmol/mL) con Masa Ósea Baja (L1-L4)

Variable	OR (95% IC) P
<b>Edad</b>	1.189 (1.147 - 1.232) 0.000
<b>25(OH)D ng/mL</b>	
≥30ng/mL	1
<30ng/mL	0.155 (0.037 - 0.656) 0.011
<b>PTH</b>	1.020 (1.001 - 1.040) 0.040
<b>Actividad Física</b>	
Sedentario	0.006
Leve	0.468 (0.226 - 0.967) 0.040
Moderado	0.312 (0.120 - 0.808) 0.016
Intenso	0.201 (0.077 - 0.527) 0.001

Ajustado por sexo, ocupación, IMC, concentraciones séricas de Calcio, Fósforo y Fosfatasa Alcalina.

Tabla 6. Asociación 25(OH)D en 2 categorías (&lt; 30nmol/mL) con DMO (cadera)

Variable	OR (95% IC) P
<b>Edad</b>	1.164 (1.119 - 1.211) 0.000
<b>IMC</b>	
Normal	0.002
Bajo Peso	4.754 (0.112 - 202.654) 0.416
Sobrepeso	0.569 (0.256 - 1.264) 0.166
Obesidad	0.114 (0.035 - 0.366) 0.000
<b>25(OH)D ng/mL</b>	
≥30ng/mL	1
<30ng/mL	0.487 (0.096 - 2.471) 0.385
<b>PTH</b>	
<b>Actividad Física</b>	
Sedentario	0.054
Leve	0.632 (0.265 - 1.506) 0.300
Moderado	0.536 (0.183 - 1.573) 0.256
Intenso	0.149 (0.038 - 0.580) 0.006

Ajustado por sexo, ocupación, concentraciones de Calcio, Fósforo y Fosfatasa Alcalina.

En referencia al estudio de asociación genética, se reclutaron 114 controles y 122 casos, la mediana de edad fue de 65.5 años (0-88). Desafortunadamente no se encontraban en equilibrio de Hardy Weinberg (Casos  $p$  0.8087 y controles  $p$  0.662) por lo que no se pueden realizar análisis de asociación y se descarta como un posible SNP asociado con OP en nuestra muestra. La distribución de edades y frecuencia de los diferentes alelos de SNP rs 7975232 se describe en las tablas 9 y 10.

Tabla 7. Características basales de la población de estudio

Grupo de edad	N(%)
Menores 40 años	7 (2.9)
41-50 años	22 (9.3)
51-60 años	54 (22.9)
61-70 años	76 (32.2)
71-80 años	56 (23.7)
Mayores de 80 años	21 (8.9)

Tabla 8. Frecuencias alélicas y genotípica de los polimorfismos del gen VDR en mujeres con y sin osteoporosis

Variable	Sin osteoporosis(%) XX/XY/YY	Osteoporosis (%) XX/XY/YY
rs79753232	17/46.2/36.8	26.8/38.2/35

XX/XY/YY denota los diferentes genotipos por SNP

## DISCUSIÓN

Durante varias décadas se supuso que mantener una dieta adecuada y vivir cerca del ecuador era todo lo que se requería para alcanzar suficiencia en las concentraciones en el suero de Vitamina D. Aunque se sabía que los pacientes institucionalizados estaban en alto riesgo de desarrollar deficiencia de esta vitamina, fue una sorpresa para muchos profesionales de la salud darse cuenta que prácticamente todas las personas que no reciben cantidades adecuadas de radiación solar o que ingieren intencionadamente cuando menos 1000 UI de vitamina D al día, están en riesgo de desarrollar deficiencia junto con las consecuencias esqueléticas y sistémicas que ésta conlleva. Nadie está inmune de la deficiencia de Vitamina D. <sup>[71]</sup>

El presente estudio provee información acerca de la prevalencia de deficiencia e insuficiencia de 25(OH)D en una población mexicana joven y añosa representativa de la megalópolis de la República Mexicana. Considerando que el método utilizado para la determinación de esta vitamina es el considerado el estándar de oro para estudios poblacionales, nos es posible realizar comparaciones con estudios previos en la literatura científica. De acuerdo a los puntos de corte internacionalmente utilizados, encontramos una prevalencia de deficiencia ( $\leq 20$ ng/mL) global de 25(OH)D del 43.5%. Al analizar la muestra por grupos de edad (menores de 30 años, 31-50 y mayores de 51 años) dichas prevalencias alcanzaron el 43.6, 46.5 y 37.7% respectivamente. En ambos sexos, el grupo de 30-50 años presentó la más alta frecuencia de deficiencia de esta vitamina.

Así mismo, coincidiendo con la literatura, encontramos una correlación negativa significativa estadísticamente entre la concentración de 25(OH)D con PTH, es decir, a medida que disminuye esta vitamina, la PTH incrementa su actividad para mantener el metabolismo del hueso, principalmente Calcio. Al analizar la correlación de la DMO con las concentraciones de 25(OH)D, únicamente el grupo de menores de 50 años, mostró asociación con los valores crudos de DMO en la región de cadera, corroborando lo previamente reportado en la literatura. <sup>[72, 73]</sup>

En todo el mundo se han reportado altas prevalencias de este problema, en niños y adultos, en un intervalo del 15 hasta el 80%, desde regiones como Norte América, Europa, Medio Oriente hasta India, Oceanía y Asia.<sup>[71]</sup> Generalmente, dichas frecuencias son diferentes por regiones y grupos raciales, pero también dependen de los puntos de corte utilizados para definir deficiencia e insuficiencia y los métodos de laboratorio elegidos para su determinación. Los estimados son complicados, ya que no hay un consenso que defina los valores óptimos de Vitamina D de acuerdo con las concentraciones plasmáticas de 25(OH)D. Para algunos autores, los individuos con concentraciones inferiores a los 11ng/mL se han clasificado como deficientes. Sin embargo, existe prueba de que las secuelas bioquímicas y esqueléticas de dicha deficiencia se pueden manifestar a partir de los 30-35ng/mL.<sup>[74]</sup>

Al comparar nuestros resultados con estudios poblacionales similares, encontramos que la prevalencia encontrada en nuestra población es superior a la publicada previamente en estudios realizados en USA <sup>[75]</sup>, Arabia Saudita <sup>[76]</sup>, España <sup>[77]</sup> y Tehran <sup>[78]</sup> entre otros. En países en vías de desarrollo, la prevalencia de hipovitaminosis D varía ampliamente en diversas regiones; ésta fluctúa entre 30-90%, de acuerdo con los puntos de corte utilizados para cada región independientemente de la latitud. Una alta prevalencia de este problema existe en China y Mongolia, específicamente en niños, en quienes han descrito valores inferiores a los 5ng/mL hasta en un 50%. A pesar de que la mayoría de estos países cuenta con adecuada radiación solar durante el año, casi la mitad de la población que vive en Sub Sahara, África y el Medio Oriente, presentan concentraciones de esta vitamina por debajo de las 10ng/mL, de acuerdo a estudios publicados la década pasada. Esto probablemente debido al tipo de vestimenta, la cual cubre la mayor parte del cuerpo. La deficiencia de Vitamina D es también prevalente en niños y ancianos en Latinoamérica. Los factores de riesgo para este tipo de hipovitaminosis en países en vías de desarrollo son similares a los reportados en países occidentales e incluyen edades extremas, género, invierno, piel oscura, desnutrición, falta de exposición al sol, vestimenta y obesidad.<sup>[79]</sup>



Así mismo, se ha descrito que concentraciones inferiores a los 15ng/mL de manera crónica, generan cambios óseos consistentes con raquitismo en población joven. En adultos, se ha sugerido que las concentraciones óptimas de esta vitamina deben superar los 30ng/mL, concentraciones asociadas con la supresión máxima de hormona paratiroidea (PTH) y reducción de la tasa de fracturas.<sup>[80]</sup> Es por ello que las publicaciones derivadas del estudio NHANES en Estados Unidos, en los últimos 10 años, consideran 2 puntos de corte diferentes de acuerdo a la edad de las poblaciones. En este trabajo incluimos este criterio ya que creemos puede ser de utilidad en el ambiente clínico y de prevención secundaria. Al comparar nuestros resultados con las últimas publicaciones de dicho estudio, en el grupo de menores de 21 años, se encontró una prevalencia de insuficiencia (15-29 ng/mL) y deficiencia (<15ng/mL) de 60% y 9% respectivamente, mientras que los jóvenes mexicanos de nuestro estudio, la presentaban en un 82.1 y 7.1%. En el caso de los adultos, la frecuencia de insuficiencia de Vitamina D (definida como valores inferiores a los 30ng/mL) en ambos sexos fue inferior a la nuestra. Al comparar los grupos por sexo y edad, las prevalencias de la muestra americana fueron 79% menores que la nuestra. Sin embargo, los grupos más similares fueron las mujeres mayores de 50 años y la más disímil la de hombres de la misma edad.<sup>[81]</sup>

La consecuencia que esta deficiencia puede tener aún no se conoce por completo; durante las cuatro décadas pasadas, se han incrementado los datos que relacionan la deficiencia de Vitamina D con varios padecimientos crónicos incluyendo hipertensión arterial, disfunción inmune, cáncer, diabetes y enfermedades cardiovasculares. En la población adolescente, estas asociaciones apenas comienzan a explorarse.<sup>[74]</sup> Así mismo, se ha sugerido en algunos estudios prospectivos en adultos, que las concentraciones menores a los 20ng/mL incrementan el riesgo de cáncer de colon, mamario y de próstata hasta un 50%. Se ha observado en hombres, que la ingestión diaria de 400UI de vitamina D al día reduce el riesgo de desarrollar diferentes tipos de cáncer, incluyendo el pancreático, esofágico y linfoma no Hodgking. En el grupo de mujeres postmenopáusicas, la ingestión diaria de 1100UI de Vitamina D y 1000mg de calcio por 4 años, redujo el riesgo de padecer cáncer en un 60%.<sup>[82]</sup>

Así mismo, debido a la deficiente radiación solar y la consecuente disminución en las concentraciones de 25(OH)D, vivir a altas latitudes se ha asociado con un incremento en el riesgo de DM tipo 1, esclerosis múltiple, depresión, esquizofrenia e hipertensión. Estudios desarrollados en estas regiones, mostraron que la administración de 2000UI de Vitamina D durante los primeros años de vida, resultó en una disminución en el riesgo de padecer DM del 78%, comparado con niños que no recibieron la intervención. Mujeres que recibieron más de 400UI de Vitamina D disminuyeron el riesgo de padecer esclerosis múltiple y artritis reumatoide en un 40%. Pacientes con hipertensión expuestos a camas de bronceado, incrementaron las concentraciones de dicha vitamina 180% y 3 meses después regularizaron la tensión arterial. <sup>[82]</sup>

Debido a todo lo anterior, es razonable pensar que, con todas las diferentes consecuencias potenciales que la deficiencia de esta vitamina puede generar a lo largo de la vida, y a la alta prevalencia de deficiencia a nivel mundial, la prevención debe iniciar en la infancia y en la edad adulta la suplementación es necesaria y urgente.

En referencia al efecto del IMC, nuestros resultados coinciden con extensa evidencia epidemiológica que ha mostrado que un IMC elevado se asocia con un incremento en la masa ósea y que la pérdida de peso puede generar pérdida de hueso. <sup>[83, 84]</sup> En nuestro estudio, esta asociación estuvo presente en ambas regiones (L1-L4 y cadera) con significancia estadística, sugiriendo un efecto protector; sin embargo, la obesidad por sí sola puede no ser la responsable de este efecto. Generalmente se ha aceptado que un incremento en la masa corporal genera una carga mecánica mayor y que la masa ósea se incrementa a fin de adaptarse a este estrés. <sup>[83]</sup> Sin embargo, conclusiones de varios estudios acerca de la relación entre la obesidad y la masa ósea establecen que tal vez ésta se confunde por el efecto mecánico que ejerce el peso sobre el sistema esquelético, así mismo, la obesidad ha sido asociada con niveles plasmáticos altos de insulina los cuales pueden contribuir a diversas anormalidades incluyendo sobreproducción de andrógenos y estrógenos. Dichos cambios pueden resultar en concentraciones elevadas de hormonas sexuales, las cuales incrementan la masa ósea debido a una disminución en la actividad osteoclástica y posiblemente osteoblástica. <sup>[83]</sup>

<sup>84]</sup> En un meta-análisis publicado por Hsu y colaboradores, dado un cierto peso corporal, reportó una relación negativa entre la masa grasa y la masa ósea, y el riesgo de osteopenia/OP y fracturas no espinales era significativamente más alto en sujetos con un alto porcentaje de tejido adiposo, independientemente del peso corporal.<sup>[85]</sup>

Por otro lado, es difícil evaluar el impacto de la actividad física en la masa ósea a través de los diferentes estudios publicados ya que la medición de esta variable es, en muchas ocasiones, no comparable. Los reportes incluyen una variedad de programas que a su vez utilizan diferentes tipos de ejercicio, longitud de intervenciones, tamaños de muestra pequeños y tiempo de entrenamiento lo cual puede explicar los resultados reportados por cada uno de ellos. Hasta ahora muchos han sido controversiales: Mientras algunos han demostrado un efecto positivo con asociaciones débiles,<sup>[86-92]</sup> otros reportan ausencia de asociaciones.<sup>[93]</sup> En una revisión Cochrane reciente, en la que se evaluó el uso de ejercicio para el tratamiento y prevención de la OP, el ejercicio aeróbico con carga y resistencia, incrementó significativamente la DMO en la columna.

<sup>[94]</sup> En nuestro estudio, la práctica de ejercicio intenso estuvo consistentemente asociado con una disminución del riesgo de presentar baja masa ósea en todas las regiones estudiadas.

En referencia al estudio genético, como ya se describió en la sección de resultados, a pesar de haber realizado un cálculo de tamaño de muestra y elegido una región del gen VDR cercana a las estudiadas en otras poblaciones, las frecuencias alélicas de nuestros grupos no se encontraban en Equilibrio de Hardy Weinberg. Dicho principio es un postulado que se aplica a la genética de poblaciones, que nos indica que una población, se halla en equilibrio cuando no actúan factores externos como la selección natural, migraciones y/o mutaciones. Este equilibrio se manifiesta cuando se observa que las proporciones genotípicas de una población se mantienen constantes, como consecuencia de esto se asume que la herencia mendeliana no induce cambios evolutivos por si misma. En el lenguaje de la genética de poblaciones, el principio de Hardy-Weinberg establece que, bajo ciertas condiciones, tras ciertas generaciones de

apareamientos al azar, las frecuencias de los genotipos de un locus individual se fijaran en un valor de equilibrio particular. Dicho equilibrio cumple con las siguientes premisas:

- El organismo en cuestión es diploide
- La reproducción es sexual
- Las generaciones son discretas (no hay solapamiento de generaciones)
- El apareamiento es aleatorio
- El tamaño poblacional es muy grande (infinito desde un punto de vista estadístico)
- La migración es despreciable
- La mutación puede ignorarse
- La selección natural no afecta al gen que estamos considerando.

De acuerdo a estas premisas, el marcador genético elegido rs 7975232, no puede utilizarse en esta población ya que su distribución pudo ser afectada por diversos factores como la migración que es muy común en la Ciudad de México. Es por ello que no es conveniente realizar estudios de asociación.

Así mismo, se intentó comparar los resultados de las frecuencias de los alelos encontrados en nuestra muestra pero desafortunadamente no hay estudios en la literatura científica que reporten este SNP en otras poblaciones.

Dentro de las limitaciones de ese proyecto se encuentra la representatividad de nuestros resultados, la cual se limita a la megalópolis ubicada en el centro de la República Mexicana, el uso de voluntarios para la muestra lo cual genera un sesgo, ya que se ha reportado en la literatura que estos grupos están más sensibilizados al cuidado de la salud y por lo tanto no son representativos de la totalidad de población y el diseño transversal que limita la determinación de riesgo.

Algunas de las fortalezas de este estudio fue el método utilizado para la determinación de 25(OH)D, el cálculo de tamaño de muestra por estrato de edad y prevalencia de

deficiencia de la vitamina, el método utilizado para la determinación de DMO (DXA), el tamaño de muestra y la determinación de diversos marcadores de riesgo séricos, ambientales y dietéticos de los cuales no existen publicaciones en mexicanos.

## **CONCLUSIONES**

1. Al igual que en otros países, la deficiencia de 25(OH)D es un problema importante en población mexicana a pesar de las condiciones geográficas y climatológicas favorables de nuestro país. Es necesario considerar la prevención primaria y secundaria a escala nacional debido a los diversos problemas de salud que esta deficiencia genera.
2. El SNP del gen receptor de Vitamina D, rs79753232 no se considera un buen marcador de riesgo para presentar OP en mujeres mexicanas por lo que se requieren de nuevos estudios que consideren otras regiones del DNA para evaluar dicha asociación.

# **ANEXOS**

## INDICE DE ANEXOS

Tablas de análisis adicionales	56
Operacionalización de variables	59
Cuestionario	62
Manual de operaciones	76
Densitometría ósea	74
Laboratorio	75
Resumen ejecutivo	85
Asentimiento Informado	87
Consentimiento informado	93
Glosario de terminología genética	99



## TABLAS DE ANÁLISIS ADICIONALES

Tabla1a: Prevalencia de deficiencia de 25(OH)D por sexo y grupo de edad, utilizando como punto de corte 20ng/mL

VARIABLE	Normal	Deficiencia
	≥ 20 ng/mL	≤ 20 ng/mL
<b>TOTAL</b> n(%)		
14-29 años	53 (60.9)	34 (39.1)
30-50 años	172 (53.3)	151 (46.7)
Mayores a 51 años	105 (60.3)	69 (39.7)
<b>HOMBRES</b> n(%)		
14-29 años	29 (72.5)	11 (27.5)
30-50 años	95 (65.5)	50 (34.5)
Mayores a 51 años	60 (73.2)	22 (26.8)
<b>MUJERES</b> n(%)		
14-29 años	24 (51.1)	23 (48.9)
30-50 años	77 (43.3)	101 (56.7)
Mayores a 51 años	45 (48.9)	47 (51.1)

Tabla 2a. Correlación de Pearson entre las concentraciones de 25(OH)D y la DMO cruda en diferentes regiones.

Región DXA	25(OH)D ng/mL	
	< 50 años	≥ 50 años
L1-L4	0.016, p0.759	0.071, p 0.362
Cuello	0.108, p 0.032	0.022, p 0.775
Cadera	0.038, p 0.457	0.116, p 0.131

Tabla 3a. Asociación ajustada de la concentración de 25(OH)D en 2 categorías (20nmol/mL) con Masa Ósea Baja (L1-L4)

Variable	OR (95% IC) P
<b>Edad</b>	1.177 (1.139 - 1.216) 0.000
<b>25(OH)D ng/mL</b>	
≥20ng/mL	1
<20ng/mL	0.833 (0.459 - 1.512) 0.548
<b>IMC</b>	0.091
Normal	1
Bajo peso	2.343 (0.093 - 58.982) 0.605
Sobrepeso	0.809 (0.404 - 1.620) 0.550
Obesidad	0.387 (0.172 - 0.867) 0.021
<b>Actividad Física</b>	0.013
Sedentario	1
Leve	0.5 (0.247 - 1.012) 0.054
Moderado	0.358 (0.144 - 0.888) 0.027
Intenso	0.242 (0.096 - 0.609) 0.003

Ajustado por sexo, ocupación, concentraciones de Fósforo y Fosfatasa Alcalina.

Tabla 4a. Asociación ajustada de la concentración de 25(OH)D en 2 categorías (20nmol/mL) con Masa Ósea Baja en cadera

Variable	OR (95% IC) P
<b>Edad</b>	1.153 (1.115 - 1.193) 0.000
<b>25(OH)D ng/mL</b>	
≥20ng/mL	1
<20ng/mL	1.001 (0.484 - 2.071) 0.997
<b>IMC</b>	0.002
Normal	1
Bajo peso	3.815 (0.183 - 79.403) 0.387
Sobrepeso	0.611 (0.282 - 1.322) 0.211
Obesidad	0.135 (0.046 - 0.398) 0.000
<b>Actividad Física</b>	0.058
Sedentario	1
Leve	0.675 (0.294 - 1.549) 0.353
Moderado	0.526 (0.183 - 1.507) 0.231
Intenso	0.159 (0.042 - 0.605) 0.007

Ajustado por sexo, ocupación, concentraciones de Fósforo y Fosfatasa Alcalina.

Tabla 5<sup>a</sup>. Frecuencias alélicas en la población y equilibrio de HW

<b>Alelos</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>AA</b>	77	23
<b>AC</b>	126	38
<b>CC</b>	125	38

A: 42.7%, C 57.3%. Equilibrio de HW: 0.03299

Tabla 6<sup>a</sup>. Frecuencias alélicas en los casos y equilibrio de HW

<b>Alelos</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>AA</b>	20	17.5
<b>AC</b>	54	47.4
<b>CC</b>	40	35.1

A: 41.2%, C: 58.8%. Equilibrio de HW 0.8087

## OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición
<b>Concentración de Vitamina D</b> (100µl suero)	<p><b>Definición Conceptual</b></p> <p>Concentración de [25(OH) D] 25-hidroxicolecalciferol en suero.</p> <p><b>Definición Operativa:</b></p> <p>A través de la obtención en suero se hizo un análisis por medio del método de cromatografía de dilución de isótopos–(tandem mass spectrometry (ID-LC-MS/MS) with stable-isotope–labeled internal standard (IS).<sup>[96]</sup> La cual se realizó en la universidad de TUFTS, Boston.</p> <p><b>Tipo de Variable</b> Numérica Continua</p> <p><b>Unidad de análisis:</b> ng/mL</p>
<b>Densidad Mineral Ósea</b>	<p><b>Definición Conceptual:</b></p> <p>Concentración de Ca<sup>++</sup> por cm<sup>2</sup> de superficie de la estructura ósea, medidos por densitometría ósea.</p> <p><b>Definición Operativa:</b></p> <p>DMO medida a través de un densitómetro de doble fotón (absorciometría dual de rayos X DEXA) de la región lumbar (L1-L4) y cadera, con una técnica con error de precisión menor de 2%</p> <p>Se utilizó para identificar: Masa Ósea Baja (menores de 50 años), osteopenia y osteoporosis (en mayores de 50 años)</p> <p><b>Tipo de Variable:</b> Continua</p> <p><b>Unidad de Análisis:</b> Gramos de Ca<sup>++</sup> por cm<sup>2</sup></p>
<b>PTH</b> (450 micro litros suero)	<p><b>Definición Conceptual:</b></p> <p>Hormona que estimula la liberación del Calcio óseo a la circulación, reduce la pérdida de Ca<sup>++</sup> por vía urinaria mediante la regulación de la actividad de la 25(OH) vitamina D</p> <p><b>Definición Operacional:</b> Se analizó su concentración en el suero a través de la técnica de radio inmuno luminiscencia (RIA)</p> <p><b>Tipo de Variable:</b> Numérica continua</p> <p><b>Unidades:</b> µmol/L</p>
<b>Fósforo</b> (30 µl suero)	<p><b>Definición Conceptual:</b></p> <p>Mineral indispensable que se relaciona íntimamente con el Ca<sup>++</sup> para la formación de la estructura ósea (Cristales de hidroxapatita) El fósforo coexiste en una variedad de estados oxidados que van de -3 a +5 y puede formar sustancias estables con varios elementos.</p> <p><b>Definición Operacional:</b> Se obtiene del suero y se analiza por métodos tradicionales de química sanguínea.</p> <p><b>Tipo de Variable:</b> Numérica continua</p> <p><b>Unidades:</b></p>
<b>Edad</b>	<p><b>Definición conceptual.</b> Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la fecha de la entrevista.</p>

<b>Sexo</b>	<p><b>Definición operativa.</b> Se registró la fecha de nacimiento de la paciente y de acuerdo a ello se estimó la edad.</p> <p><b>Tipo de variable.</b> Cuantitativa discreta.</p> <p><b>Unidades.</b> Años cumplidos</p> <p><b>Definición conceptual:</b> Condición orgánica que distingue al hombre de la mujer.</p> <p><b>Definición operacional:</b> Se reportó en el cuestionario.</p> <p><b>Tipo de Variable.</b> Nominal dicotómica</p> <p><b>Unidades.</b> Hombre o Mujer.</p>
<b>Peso</b>	<p><b>Definición Conceptual:</b></p> <p>Es una medida de la masa corporal total. Refleja cambios en el balance de energía y es importante para detectar crecimiento anormal, obesidad y desnutrición.</p> <p><b>Definición Operacional:</b></p> <p><u>Técnica de Medición:</u> Se utilizó una báscula, con una precisión de 0.1 kg. Una vez llevado a cero el peso a la línea de referencia, se le indicó al sujeto que se pare en el centro de la plataforma, descalzo, con la menor cantidad de ropa posible y sin que el cuerpo entre en contacto con objetos aledaños. Una vez adoptada la posición referida se reporta la lectura de la medición. El valor del peso que se registra es el de los 100 g más cercanos.</p> <p><b>Tipo de Variable:</b> Numérica continua</p> <p><b>Unidades:</b> kg</p>
<b>Talla</b>	<p><b>Definición conceptual:</b></p> <p>La estatura es la distancia máxima entre la región plantar y el vertex, en un plano sagital.</p> <p><b>Definición Operacional:</b></p> <p><u>Técnica de medición:</u> Se utilizó un estadímetro. Con el sujeto descalzo y con la menor cantidad de ropa posible, se le indicó que se colocara de pie con los talones unidos tocando la superficie vertical donde estaba colocado el estadímetro. Los bordes internos de los pies deben estar en ángulo aproximado de 60 grados. Los brazos deben de caer a los lados del cuerpo y la cabeza orientarse en el plano horizontal de Frankfort, lo cual se logra adecuadamente cuando la visión del sujeto se proyecta en el mismo plano de la línea imaginaria tragio-orbital. Se registra el valor de la medida al 0.1 cm. más cercano</p> <p><b>Tipo de Variable:</b> Numérica Continua</p> <p><b>Unidades:</b> Centímetros.</p>
<b>IMC para edad y sexo</b>	<p>* Se define talla baja en la mujer adulta a una estatura menor de 1.50 y para el hombre menor a 1.60 metros.</p> <p><b>Definición Conceptual:</b></p> <p>El índice de masa corporal es una medida segura y válida de peso relativo en niños y adultos, recomendada para el uso clínico. Se obtiene dividiendo el peso en Kg entre el cuadrado de la talla en metros.</p> <p><b>Niños y Adolescentes:</b> Diversos grupos de expertos han elegido su uso para definir el sobrepeso en niños y adolescentes, sin embargo la interpretación no es la misma</p>

	<p>que en los adultos debido al crecimiento de los niños y a los cambios en su grasa corporal.</p> <p><b>Definición Operacional/ Niños y Adolescentes:</b> Para su interpretación se emplean como referencia las tablas desarrolladas por la NCHS publicadas en Mayo del 2000. De acuerdo con los datos epidemiológicos se recomienda usar los percentiles con los siguientes puntos de corte:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Bajo peso</b> cuando el IMC se encuentra debajo del 5 percentil</li> <li>• <b>Sobrepeso</b> cuando el IMC se encuentra entre el 85 y 95 percentiles.</li> <li>• <b>Obesidad</b> cuando el IMC se encuentra por arriba o en el 95 percentil</li> </ul> <p>Para el diagnóstico de sobrepeso y obesidad, se corroboraron los valores con un artículo reciente en el que se establecen puntos de corte de IMC equivalentes al adulto para referencias internacionales.<sup>[96]</sup></p> <p><b>Definición Operacional / Adultos:</b> De acuerdo a la OMS para el manejo integral de la obesidad se recomienda usar los siguientes puntos de corte:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Normal</b>, para adultos con un IMC de 19-24.9 kg/m<sup>2</sup></li> <li>• <b>Sobrepeso</b>, para adultos con un IMC mayor de 25-29.9 kg/m<sup>2</sup></li> <li>• <b>Obesidad</b>, determinada por un IMC mayor de 30 kg/m<sup>2</sup></li> </ul> <p><b>Tipo de Variable:</b> Ordinal. <b>Unidades:</b> Kg/m<sup>2</sup>.</p> <p><b>Definición Conceptual:</b> Movimiento corporal que constituye una parte importante y variable del gasto energético. Se refiere a ejercicio</p> <p><b>Definición Operacional:</b> El nivel de actividad física se estima en minutos por semana y nivel de actividad de acuerdo a la intensidad y duración con que los participantes refirieron realizar durante una semana típica en el último año. Las actividades contempladas son: caminar, correr, andar en bicicleta, realizar ejercicios aeróbicos, bailar y nadar, entre otros. Se obtuvo el gasto energético en METs y se calculó la cantidad de calorías gastadas por semana para cada individuo de acuerdo a su peso. Se clasificó como sedentarios aquellos que reportaban &lt; 50, actividad leve 51-800, moderada 8001-1600 e intensa &gt;1601 METs por semana.</p> <p><b>Tipo de Variable:</b> Nominal <b>Unidades:</b> Politémica</p>
<b>Actividad Física</b>	<p><b>Definición Conceptual:</b> El receptor de calcitriol, también conocido como receptor de vitamina D (VDR) y como NR111 (de sus siglas en inglés "<i>nuclear receptor subfamily 1, group 1, member 1</i>"), es un miembro de la familia de receptores nucleares de los factores de transcripción.</p> <p><b>Definición Operacional:</b> Se determinará por medio de la técnica PCR tiempo real o por enzimas de restricción.</p> <p><b>Tipo de Variable:</b> Nominal <b>Unidades:</b> AA, AC, CC.</p>
<b>Polimorfismos gen VDR</b>	

Fecha \_\_\_\_\_

Folio				
Registro				
Mapeo				

**Asociación de 25(OH) Vitamina D con densidad mineral ósea y frecuencias alélicas del gen VDR en población mexicana**

**GENERALES**

1. Nombre

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Nombre

Apellido Paterno

Apellido Materno

2. Fecha de nacimiento (ddmmaa) \_\_\_\_\_

3. ¿En qué estado de la República Mexicana nació?

\_\_\_\_\_

4. ¿Cuál es su ocupación?

- |                          |             |                          |                      |
|--------------------------|-------------|--------------------------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> | Ama de casa | <input type="checkbox"/> | Personal de oficina. |
| <input type="checkbox"/> | Estudiante  | <input type="checkbox"/> | Comerciante          |
| <input type="checkbox"/> | Obrero      | <input type="checkbox"/> | Profesionista        |
| <input type="checkbox"/> | Otra _____  |                          |                      |

5. (sólo menores de 18 años) ¿De quién depende económicamente? \_\_\_\_\_

6. ¿Cuánto es el ingreso familiar mensual de su casa? \$ \_\_\_\_\_

7. Peso   Kg

8. Talla (cm)    cm

9. Cintura    cm

10. **(mayores de 50 años)** ¿Ha disminuido 3 o más cm de estatura en los últimos 10 años?

SI

NO

11. ¿Escolaridad?

Primaria

Normal o superior

Secundaria

Profesional

Preparatoria

### ANTECEDENTES PERSONALES

12. ¿Ha tenido alguna infección (respiratoria, gástrica, etc) en las últimas 2 semanas?

Si

No

13. ¿Algún médico le ha dicho que tuvo o que tiene alguna de las siguientes enfermedades?

¿Cuándo se lo mencionó por primera vez?:

Enfermedad	SI	Fecha Dx
Diabetes		
Presión Alta		
Colesterol elevado		
Triglicéridos elevados		
Úlcera (gástrica o duodenal)		
Cálculos (piedras en el riñón)		
Insuficiencia renal crónica		
Artritis reumatoide		
Artritis degenerativa (osteoartritis)		
Cáncer _____		
Quistes benignos en mama		
Otras		

\*Especificar el tipo de cáncer

14. ¿Qué medicamentos toma actualmente? (Mencione sólo los que usa regularmente, 2 ó más veces por semana) \_\_\_\_\_

15. ¿Tiene todos sus dientes?

SI

NO

16. ¿Durante los últimos dos años cuántos dientes perdió? \_\_\_\_\_

### ALTERACIONES ÓSEAS

17. Alguna vez un médico le diagnosticó osteoporosis (huesos frágiles o falta de calcio en los huesos)?

Sí

No



\*Si su respuesta fue NO pase a la pregunta 21

18. ¿A qué edad le dijeron que tenía osteoporosis?   Años

19. ¿Le realizaron algún estudio para confirmar este diagnóstico? SI NO

a. ¿Cuál? \_\_\_\_\_

20. ¿Recibió tratamiento para este problema? Si No

21. ¿Qué tipo de tratamiento recibió?

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Hormonas            | <input type="checkbox"/> Vitamina D     |
| <input type="checkbox"/> Calcio              | <input type="checkbox"/> Ac. Zoledroico |
| <input type="checkbox"/> Calcio + Vitamina D | <input type="checkbox"/> Otro _____     |

22. (Para mayores de 40 años) ¿Ha tenido fracturas después de los 40 años de edad?

Sí  No

23. Necesito que me diga a qué edad sucedió, por qué y qué hueso se fracturó:

1. sin golpe o caída
2. caída a nivel del piso
3. accidente de tráfico o caída severa

Edad a la fractura	Hueso con Fractura	Forma de lesión
	Vértebra	
	Cadera (fémur)	
	Antebrazo (muñeca)	
	Costilla	
	Otra _____	

24. ¿Alguna vez ha estado en cama por un período mayor de 2 meses?

Sí  No

25. Si su contestación fue afirmativa, ¿fue en éste último año?

Sí  No

**ANTECEDENTES FAMILIARES**

26. Esta sección pretende verificar si sus padres o hermanos han padecido las enfermedades que le voy a mencionar:

Enfermedad	Madre	Padre	Hermanos
Diabetes			
Presión Alta			
Colesterol elevado			
Triglicéridos elevados			
Úlcera (gástrica o duodenal)			
Cálculos (piedras en el riñón)			
Insuficiencia renal crónica			
Artritis reumatoide			
Artritis degenerativa (osteoartritis)			
Cáncer _____			
Quistes benignos en mama			
Otras			

**ALTERACIONES ÓSEAS**

27. ¿A alguno de sus padres o hermanos le diagnosticaron alguna vez osteoporosis?

Sí       No

28. En caso afirmativo ¿A quién? \_\_\_\_\_

29. ¿Alguno de sus padres o hermanos (hermano o hermana) han sufrido alguna de las siguientes fracturas después de los 50 años?:

	Vértebra	Cadera	Muñeca	Otra
<b>Madre</b>				
<b>Padre</b>				
<b>Hermano</b>				
<b>Hermana</b>				

**ACTIVIDAD FÍSICA**

30. ¿Cuánto tiempo dedicó en el último año a cada una de estas actividades **fuera de su casa**? (Ponga el número que corresponda en el cuadro).

Ligera: como la actividad que se asemeja a caminar en forma tranquila.

Moderada: actividad que realiza con esfuerzo, provocando sudoración.

Intensa: actividad que realiza una persona que entrena o se prepara para una competencia deportiva.

Actividad	Tiempo de actividad minutos	Cada actividad la realiza en forma		
		ligera	moderada	intensa
Caminar				
Correr				
Andar en bicicleta				
Aeróbics				
Bailar				
Nadar				
Otro _____				

\*Calcular tiempo acumulado **por semana** (minutos)

**TABAQUISMO**

31. ¿Fuma cigarros u otro tipo de tabaco?

Sí

Ahora no, pero en el pasado si

Nunca

32. ¿Que edad tenía cuando comenzó a fumar?   años

33. ¿Cuántos cigarros en promedio fuma / fumaba al día   cigarrillos

34. Sí ya no fuma, ¿qué edad tenía cuando dejó de fumar?   años

**ALIMENTACIÓN**

35. Le voy a mencionar algunos alimentos y necesito que me indique la frecuencia (diaria, semanal o mensual) con que comió cada uno durante los últimos **12 meses**:

Productos Lácteos	Promedio consumido durante los últimos 12 meses									
	Nunca	< 1 vez X mes	1-3 x mes	1 x sem	2-4 x sem	5-6 x sem	1 x día	2-3 x día	4-5 x día	6 o más x día
Un vaso de leche entera										
Un vaso de leche descremada o Light										
Una cucharada de queso crema										
Una rebanada de queso Oaxaca										
Una rebanada de queso fresco										
Un helado de leche con barquillo										
Una taza de yogurt										
Productos lácteos fermentados (yakult, soful)										
Margarina que agregue al pan (una untada)										
Mantequilla que agregue al pan (una untada)										

Huevo, Carnes y Embutidos	Promedio consumido durante los últimos 12 meses									
	Nunca	< 1 vez X mes	1-3 x mes	1 x sem	2-4 x sem	5-6 x sem	1 x día	2-3 x día	4-5 x día	6 o más x día
Un huevo										
Una pieza de pollo										
Una rebanada de tocino										
Una rebanada de jamón de cerdo										
Una rebanada de jamón de pavo										
Un bistec de hígado o hígado de pollo										
Una porción de chorizo o longaniza										
Un platillo con carne de puerco										
Un platillo de cecina de res o de puerco										
Un platillo con atún (en lata)										
Un platillo con sardina (en lata)										
Una porción de pescado fresco										
Una porción de pulpos/calamar /camarón										
Un pedazo de chicharrón										
Un plato de barbacoa										
Una porción de pescado seco (bacalao, charales)										

Bebidas	Promedio consumido durante los últimos 12 meses									
	Nunca	< 1 vez X mes	1-3 x mes	1 x sem	2-4 x sem	5-6 x sem	1 x día	2-3 x día	4-5 x día	6 o más x día
Un refresco embotellado de cola										
Un refresco embotellado de sabor										
Un refresco embotellado dietético										
Un vaso de agua de sabor (fruta natural)										
Un vaso de agua de sabor ( polvo preparado)										
Un vaso de agua de sabor (dietético)										
Un vaso de jugo industrializado										
Una taza o botella de té										
Una taza de café con leche										
Una taza de café sin leche										
Una taza de atole con leche										
Una taza de atole sin leche										
Una taza de chocolate con leche										
Una taza de chocolate sin leche										
Una copa de vino										
Una cerveza										
Una copa de brandy										
Una copa de whisky										
Una copa de tequila										
Una copa de ron										
Una copa de aguardiente										
Un vaso de pulque										

36. ¿Actualmente utiliza suplementos de fibra en su dieta (metamucil, lactulax, ciruelax)

SI                      NO

37. ¿Durante los últimos 4 años has tomado multivitaminas?                      SI                      NO

a. ¿Qué marca? \_\_\_\_\_

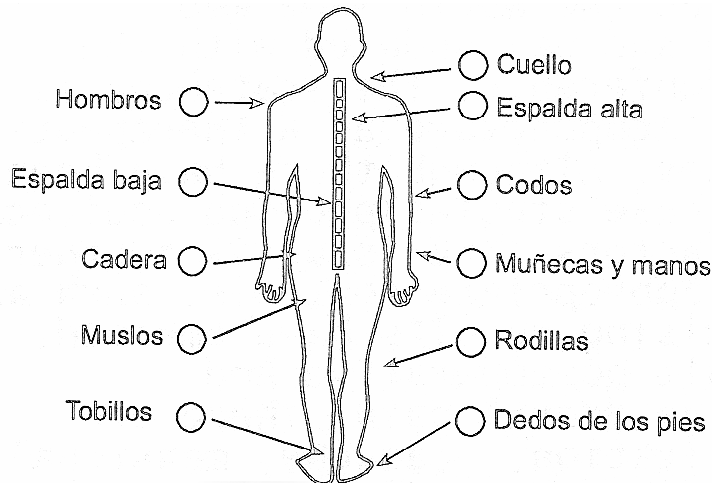
**ALTERACIONES MÚSCULO ESQUELÉTICAS**

38. ¿Ha tenido en los últimos **7 días** algún problema como dolor a la presión, inflamación o rigidez en sus articulaciones (coyunturas) o sus músculos? SI NO

\*Si la respuesta es NO pasar a la pregunta 43

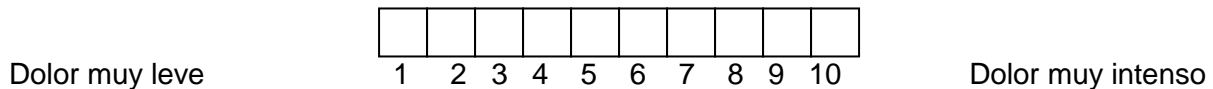
a. Desde cuándo tiene ese problema? \_\_\_\_\_ (mmaa)

39. Rellene el círculo que señale el sitio donde tuvo esta molestia o dolor:



40. ¿Cómo describiría la intensidad de su dolor en los últimos **7 días**?

Seleccione el círculo que mejor describa la intensidad del dolor



41. ¿Qué fue lo que le produjo el problema?

Una fractura (ruptura de un hueso)  Otro

(especifique) \_\_\_\_\_

Un golpe o accidente automovilístico No sabe

Una torcedura

42. ¿Está recibiendo tratamiento para el dolor, la inflamación o la rigidez en sus huesos, articulaciones o músculos? SI NO

43. ¿Quién le mandó el tratamiento? Puede llenar más de un opción.

- Médico General
- Farmacéutico
- Especialista (Reumatólogo, traumatólogo, ortopedista)
- Fisioterapeuta
- Quiropráctico
- Acupunturista
- Curandero
- Usted mismo se recomendó remedios caseros
- Otros (especifique) \_\_\_\_\_

Alteraciones musculo-esqueléticas **pasadas**

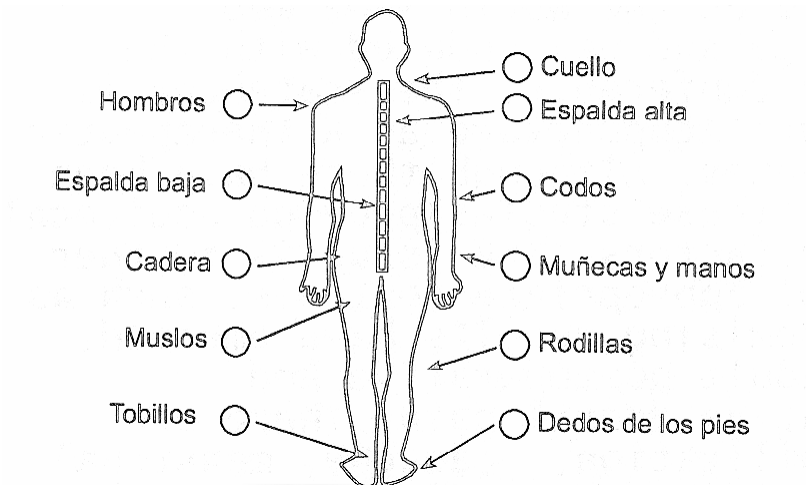
44. ¿En **algún momento en la vida** ha tenido algún problema como dolor, inflamación o rigidez en sus huesos por más de 2 semanas seguidas, pero **actualmente ya no la tiene**? SI NO

\*Si la respuesta fue NO pasar a la pregunta 52

45. ¿Cuánto duró ese problema?   Meses

46. ¿Cuándo fue ésto? \_\_\_\_\_ (mmaa)

47. Rellene el círculo que señale el sitio donde tuvo esta molestia o dolor:



48. ¿Cómo describiría la intensidad de su dolor?

Seleccione el círculo que mejor describa la intensidad del dolor

Dolor muy leve             Dolor muy intenso

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

49. ¿Qué fue lo que le produjo el problema?

- Una fractura (ruptura de un hueso)
- Otro (especifique) \_\_\_\_\_
- Un golpe o accidente automovilístico  No sabe
- Una torcedura

50. ¿Conoce el nombre de la enfermedad o el diagnóstico de su problema? Si NO

51. ¿Cuál es? \_\_\_\_\_

52. ¿Cuáles de los siguientes tratamientos usó para el dolor, inflamación o rigidez?

- Automedicación
- Medicamentos ordenados por un médico
- Inyecciones



- Fisioterapia
- Cirugía
- Dieta
- Otros (especifique) \_\_\_\_\_

\*Si respondió NO a alteraciones musculares (hace 7 días y pasadas) pasar a pregunta 53

### ACTIVIDADES DE LA VIDA DIARIA

53. Queremos conocer más sobre la forma como están o estuvieron limitadas sus actividades por su problema, es decir por el dolor, la inflamación y rigidez en sus huesos, articulaciones o músculos. Estamos especialmente interesados en conocer si tiene dificultad para realizar actividades específicas durante el **último año**. Le voy a mencionar algunas actividades y necesito que me diga si tiene o tuvo limitaciones para realizarlas y si llegó a necesitar ayuda para lograrlo.

\*Coloque en el espacio correspondiente la **letra A (actualmente)** o **P (en el último año)**:

ACTIVIDAD	S/dificultad	C/cierta dificultad pero lo logro	Sólo lo logro c/ayuda	Aún c/ayuda no puedo	No puedo x causas ajenas a mi
Caminar en terrenos planos					
Levantarme de una silla s/apoyarse c/las manos					
Sentarse y levantarse de la taza del sanitario					
Vestirse solo(a)(abotonarse, cerrar el cierre)					
Lavarse el cabello					
Lavarse y secarse el cuerpo					
Peinarse					
Comer por sí mismo					
Llevarse a la boca un vaso con líquido					
Abrir y cerrar las llaves del agua					
Alcanzar y bajar una bolsa de 2Kg que esté por arriba de su cabeza					
Abrir las puertas de un coche					
Abrir un tapón de rosca no muy apretado					
Escribir un recado					
Conducir un coche o coser a máquina (no eléctrica)					
Salir de compras					
Acuclillarse					
Arrodillarse					

**PERCEPCIÓN DEL ESTADO GENERAL**

54. En general diría que su salud es:

- |                                    |                                  |                                  |
|------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Excelente | <input type="checkbox"/> Buena   | <input type="checkbox"/> Mala    |
| <input type="checkbox"/> Muy buena | <input type="checkbox"/> Regular | <input type="checkbox"/> No sabe |

**EXPOSICIÓN AL SOL**

55. ¿Usted usa bloqueador solar? SI NO

- Diario
- 1 por semana
- Sólo cuando voy a la playa
- Otros \_\_\_\_\_

56. ¿Qué factor de protección utiliza?: FPS \_\_\_\_\_

57. En el verano en promedio, ¿Cuántas horas **por día** pasa en el sol, entre las 10 am y las 4 pm de lunes a viernes y en fines de semana?

Tiempo de exposición	Entre semana	Fines de semana
30 minutos o menos		
31 minutos a 1 hora		
2 horas		
3 horas		
4 horas		
5 horas		
6 horas		

58. ¿Con qué frecuencia...?

Actividad	nunca	rara vez	a veces	con frecuencia	siempre
Usa camisa con mangas que cubren sus hombros					
Usa sombrero o gorra					
Se queda en la sombra o usa paraguas					
Usa lentes de sol					
Pasa tiempo en el sol para conseguir un bronceado					

59. En los últimos 12 meses ¿Cuántas veces ha tenido una quemadura de sol que durara un día o más? \_\_\_\_\_

60. ¿Cuál es el color de su piel sin broncear? \*Utilizar la escala de color

- Muy clara
- Media
- Clara
- Oscura

**MUJERES**

61. ¿A qué edad empezó a reglar (menstruar)?  años
62. ¿En alguna ocasión ha estado sin reglar por más de dos meses, sin estar embarazada ni tomando anticonceptivos? SI  NO  NO SABE
63. ¿Alguna vez ha tomado pastillas anticonceptivas por más de 3 meses?  
 SI  NO  NO SABE
64. ¿Aún sigue reglando (menstruando)? SI  NO  NO SABE
65. Si su contestación fue NO ¿a qué edad tuvo su última regla o menstruación? \_\_\_\_\_ años
66. ¿Cuál fue el motivo?  Natural  Quirúrgica
67. ¿Le quitaron los ovarios?  SI  NO  NO SABE
- \*Si no dejó de menstruar pasar a la pregunta 70
68. ¿Tomó hormonas durante o después de la menopausia? (estrógenos, estrógenos más progesterona como Premarin)  SI  NO  NO SABE
69. ¿Las toma actualmente? SI  NO
70. ¿Cuándo comenzó a tomarlas? \_\_\_\_\_ (mmaa)
71. ¿Cuándo dejó de tomarlas? \_\_\_\_\_ (mmaa)
72. ¿Alguna vez ha estado embarazada? (niños nacidos muertos y abortos) SI  NO
- Sí su contestación fue afirmativa:
- |   |          |   |         |
|---|----------|---|---------|
| <input type="text"/> <input type="text"/> | Gesta    | <input type="text"/> <input type="text"/> | Partos  |
| <input type="text"/> <input type="text"/> | Cesáreas | <input type="text"/> <input type="text"/> | Abortos |
73. ¿Usted amamantó a sus hijos? SI  NO
74. ¿Cuántos meses aproximadamente amamantó a cada niño?
- |    |   |       |    |   |       |
|----|---|-------|----|---|-------|
| 1. | <input type="text"/> <input type="text"/> | meses | 2. | <input type="text"/> <input type="text"/> | meses |
| 3. | <input type="text"/> <input type="text"/> | meses | 4. | <input type="text"/> <input type="text"/> | meses |
| 5. | <input type="text"/> <input type="text"/> | meses | 6. | <input type="text"/> <input type="text"/> | meses |

## MANUAL DE OPERACIONES

### Estudio 25(OH) vitamina D

El procedimiento de selección de los participantes se realizó mediante la invitación a alumnos, empleados y familiares que asistían a escuelas secundaria y preparatoria, así como casas de retiro del Estado de México. Los interesados se inscribieron en una lista con las que se les asignó una cita para acudir al Centro de Investigación en Ciencias Médicas.

El día asignado para la valoración, los individuos se presentaron de 7:00 a 7:40 am con ropa cómoda sin elementos metálicos y en ayuno de 12 horas.

La secuencia de determinaciones fue la siguiente:

1. Explicación del protocolo
  - Firma de consentimiento/asentimiento informado
2. Aplicación de cuestionarios por 2 enfermeras y 2 nutriólogas.
3. Toma de muestras sanguíneas

Vitamina D	Calcio
Albúmina	Fósforo
PTH	
4. Antropometría
  - Peso
  - Talla
5. Densitometría ósea

### Estudio genético

Los casos se obtuvieron de las mujeres que asistían a consulta en el Instituto Nacional de Rehabilitación y que cuentan con diagnóstico de osteoporosis por DXA. El procedimiento es el siguiente.

1. Explicación del protocolo
  - a. Firma de consentimiento informado
2. Aplicación del cuestionario
3. Toma de muestra para DNA

Los controles serán tomados de la base poblacional de DNA con que cuenta la unidad de Genética del Instituto Nacional de Rehabilitación.

## DENSITOMETRÍA OSEA

El paciente ingresará a la unidad de densitometría y se le solicitará dejar toda la ropa a excepción de la ropa interior. De acuerdo con los datos de edad, peso y condiciones del paciente reportados de la medición antropométrica se ingresarán dichos datos en el software correspondiente.

Se le pedirá al paciente se coloque de forma horizontal y relajada en la mesa de análisis del DXA.

La primera valoración será la de cuerpo total que dura aproximadamente 15 a 20 minutos. Posteriormente se colocará un cojín en el área de las rodillas para proceder a la medición de columna y cadera (15-20 minutos).

Las indicaciones al paciente para realizar la densitometría son las siguientes:

Ropa:

- pantalón deportivo (pants) playera ó blusa, sin cierres, sin broches ni botones de metal ó plásticos.
- con calcetas ó calcetines
- mujeres: sin brasiere
- No traer alhajas como: pulseras, anillos, collares, reloj, aretes etc.

## **LABORATORIO**

### **Metabolismo óseo**

Para el muestreo de esta sección del protocolo se procederá de la siguiente manera:

- Obtener muestra para 3 tubos (Vacutainer amarillo).
- Los tubos se colocarán en el contenedor de poliuretano para evitar la exposición al sol.
- Posteriormente, se guardarán en el refrigerador y se deberá esperar a la formación de coágulo (15-30 minutos).
- Se colocarán en la centrífuga fría a 3000 RPM por 15 minutos a 20-25°C.
- Una vez centrifugado se distribuirá el suero en 3 alícuotas (vitamina D, PTH, Alb+Ca+P) de 1.5mL que se colocarán en micro tubos envueltos en papel aluminio y etiquetados con el registro del paciente, los cuales se guardarán en las cajas para muestras y en el cajón del REVCO a -70°C.
- Las muestras serán transportadas, en contenedores de poliuretano con hielo seco, al Laboratorio de Metabolismo Óseo del Hospital Infantil de México “Federico Gómez” para su procesamiento y almacenaje.

### **Genética**

El muestreo se realizará en la Unidad de Genética del INR

- Se tomarán 5ml de sangre en un tubo Vacutainer de vidrio de 5mL (K3 EDTA 9mg)
- Una vez obtenida la muestra se refrigerará a -20°C.
- La muestra será transportada al Instituto Nacional de Rehabilitación para su procesamiento y almacenaje.

## Análisis de muestras

- Determinación 25(OH)D<sup>3</sup>

Las muestras fueron enviadas a la Universidad de TUFs en Boston y se analizaron por el método isotopo-dilution liquid chromatography–tandem mass spectrometry (ID-LC-MS/MS)

- Fósforo

Determinación cuantitativa de fósforo. (IVD) Fosfomolibdato (SPINREACT)

Conservar a 2-8°C

Principio del método

Método directo para la determinación de fósforo inorgánico. El fósforo inorgánico reacciona en medio ácido con molibdato amónico formando un complejo fosfomolibdico de color amarillo. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de fósforo inorgánico presente en la muestra ensayada.

Reactivos

	Molibdato amónico	0.40 mM
R	Ácido Sulfúrico (SO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> )	210 mM
Molibdico	Detergente	
Phosphorus cal	Patrón primario acuoso de Fósforo	5mg/dL

Precauciones

Corrosivo (C) R35: provoca quemaduras graves.

S24, evite el contacto con la piel, S26 en caso de contacto con los ojos, lávese inmediata y abundantemente con agua y acudir a un médico. S30 No echar jamás agua a este producto. S 45 en caso de accidente o malestar, acuda al médico.

Preparación

Reactivo y patrón listos para su uso.



### Conservación y estabilidad

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, cuando se ,mantienen los frascos bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita la contaminación durante su uso. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

### Phosporus Cal

Una vez abierto, es estable 1 mes si se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación.

### Indicadores de deterioro de los reactivos

- Presencia de partículas y turbidez
- Absorbancia (A) del blanco a 340nm  $\geq 0.54$ .

### Material Adicional

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 340nm.
- Cubetas de 1cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

### Muestras

- Suero

Libre de hemólisis. El suero debe separarse lo antes posible de los eritrocitos con el fin de evitar la liberación de fósforo de los hematíes. Estabilidad: 7 días a 2-8°C.

### Procedimiento

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda	340nm
Cubeta	1 cm paso de luz
Temperatura	37/30/25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. Pipetear en una cubeta

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1.0	1.0	1.0
Patrón (µL)	---	1.0	---
Muestra (µL)	---	---	1.0

4. Mezclar e incubar 5 minutos.
5. Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al blanco de reactivo.

#### Cálculo

Suero:  $(A) \text{ Muestra} \times 5 (\text{conc. Patrón}) = \text{mg/dL de fósforo en la muestra}$

$(A) \text{ Patrón}$

#### Control de calidad

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados. SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y el calibrador. Cada laboratorio debe disponer su propio control de calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

#### Valores de referencia

##### Suero

Niños            4.0 – 7.0 mg/dL = 1.29 – 2.26 mmol/l

Adultos        2.5 – 5 mg/dL = 0.80 – 1.61 mmol/L

#### Características del Método

Rango de medida: Desde el límite de detección de 0.07mg/dL hasta el límite de linealidad de 15mg/dL.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir ½ con CINA 9g/L y multiplicar el resultado final por 2.

#### Precisión:

	Intraserie (n=20)	
Media (mg/dL)	3.44	5.84
SD	0.02	0.04
CV (%)	0.64	0.64

Sensibilidad analítica: 1mg/dL = 0.053 A.

Exactitud: Los reactivos SPINREACT (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

### Interferencias

No realizar la prueba con muestras hemolizadas ya que los hematíes contienen una alta concentración de esteres de fósforo orgánico, que es hidrolizado a fósforo inorgánico durante su conservación, el incremento es de 4-5 mg/dL por día. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación del fósforo.

- Calcio

Método: Espectrofotometría de absorción atómica por FLAMA

Este método describe la determinación de Calcio en suero. Las muestras se diluyen con lantano (y cloro). La presencia del lantano controla las interferencias químicas (interferencia de fosfatos) cuando se determina el calcio.

### Niveles séricos normales

Mg %	mEq/L	mg/L	
Calcio	9-11	4.5-5.5	90-110

### Procedimiento analítico

#### Preparación de la muestra

Para la determinación de Calcio diluya el suero 1:50 con lantano al 0.1% (o cloro) como diluyente. El radio de dilución puede ser ajustado para asegurarse que las concentraciones caigan dentro de un rango aceptable de absorbancia.

## Análisis

Determinar la concentración de calcio utilizando las condiciones enlistadas en la sección de “Condiciones estándar”. Los estándar se preparan diluyendo el stock de soluciones estándar, con 0.1% de lantano y cloro. La solución de 0.1% de lantano y cloro se utilizará como blanco.

- Polimorfismos gen VDR

Se tomarán 5ml de sangre en un tubo Vacutainer de vidrio de 5mL (K3 EDTA 9mg)

Una vez obtenida la muestra se refrigerará a -20°C.

La muestra será transportada los lunes de cada semana al departamento de Genética del Instituto Nacional de Rehabilitación para su procesamiento y almacenaje.

## Extracción del DNA

La extracción del DNA, se realizará a partir de 5mL de sangre venosa, de cada una de las mujeres de cada población. Se empleará la técnica de Fenol/Proteinasa K, descrita por Sambrook con algunas modificaciones.

Extracción de 5mL de sangre por medio de jeringa con aguja calibre 20 o 22, o bien por sistema Vacutainer, empleando EDTA como anticoagulante.

Las muestras se centrifugarán a 2500rpm por 15 minutos.

Una vez centrifugadas se mantendrán refrigeradas (10-12°C) y serán transportadas en contenedores con hielo al Laboratorio de Genética del Instituto Nacional de Rehabilitación.

Las muestras se mantendrán en refrigeración hasta su procesamiento.

## Obtención del DNA:

Se tomará la fase que se encuentra entre los eritrocitos y el plasma (leucocitos) por medio de una pipeta Pasteur y se colocará en un tubo de 1.5mL.

Se eliminarán los glóbulos rojos a través de 500µL de Buffer de lisis de células (CLB; Tris HCL 10mM, sacarosa 0.32M, MgCl<sub>2</sub> 5mM, Tritón x 100 1%) en frío y se homogenizará empleando un vortex y centrifugando a 6000 rpm por 5 minutos.

Se decantará y adicionarán 500µL de Buffer de extracción (Tris HCL 10mM, EDTA 0.1M 0.5%SDS, 20µg/mL RNAsa pancreática) y nuevamente se homogeneizará.

Se agregarán 5µL de Proteinasa K (50µg/mL)

Se incubará a 55°C por una hora.

Se adicionarán 500µL de una solución de fenol saturado.

Se resuspenderá y se centrifugará a 6000rpm por 5 minutos.

Se tomará la fase acuosa y se colocará en un tubo 1.5mL.

Se adicionarán 500µL de una solución, con una concentración 25:24:1 de fenol, cloroformo y alcohol isoamílico.

Se resuspenderá y centrifugará a 6000rpm por 5 minutos.

Se tomará la fase acuosa y se colocará en un tubo de 1.5mL.

Se agregará una solución con una concentración 24:1 de Cloroformo:alcohol isoamílico.

Se resuspenderá y centrifugará a 6000rpm por 5 minutos.

Se tomará la fase acuosa, la cual se colocará en un tubo de 1.5mL y se agregará NaCl para obtener una concentración de 0.2M.

Se agregaron 500µL de isopropanol frío.

Se agitará el tubo con movimientos suaves de 180° hasta observar la formación del precipitado de DNA.

A través de una punta de una micropipeta se tomará el paquete y se colocará en un tubo de 1.5mL de etanol al 70%.

Se centrifugará a 14000 rpm por 10 min a 4°C.

Se decantará y el precipitado se lavará con 1mL de etanol al 70%.

Se centrifugará a 1400rpm por 10 minutos a 4°C.

Se decantará y se extraerá el precipitado (DNA) a temperatura ambiente.

## RESUMEN EJECUTIVO

Elemento	Asociación de 25(OH) Vitamina D con densidad mineral ósea y frecuencias alélicas del gen VDR en población mexicana
Pregunta de investigación	¿Cuáles son los niveles de concentración de 25(OH) vitamina D en suero de una muestra de población mexicana? ¿Cuál es la correlación de las concentraciones de 25(OH)D con la densidad mineral ósea, concentraciones de PTH y calcio sérico? ¿Cuáles son las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos del gen VDR en un grupo de mujeres mexicanas con y sin osteoporosis?
Relevancia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La deficiencia de vitamina D es determinante en el desarrollo de patología del hueso.</li> <li>• Se asocia a raquitismo en los niños, osteomalacia en los adultos y osteoporosis en los adultos mayores.</li> <li>• La osteoporosis es la enfermedad más frecuente del hueso cuya consecuencia son las fracturas por fragilidad que son asociadas a una alta morbilidad, mortalidad y costos de tratamiento elevados.</li> <li>• En México, 1 de cada 12 mujeres y 1 de cada 20 hombres tendrá una fractura de cadera después de los 50 años.</li> <li>• El costo directo del tratamiento hospitalario, de las fracturas de cadera en el 2006 en México ascendió a los 1.237.623.000 pesos.</li> <li>• Se han identificado diversos genes asociados a la presencia de alteraciones óseas.</li> <li>• El gen VDR ha demostrado asociación con osteoporosis en mujeres pre y postmenopáusicas.</li> <li>• En nuestro país se desconoce la prevalencia de deficiencia o insuficiencia de vitamina D y la frecuencia de polimorfismos asociados al receptor de esta vitamina en la población mexicana.</li> </ul>
Objetivo	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Determinar las concentraciones de vitamina D y su asociación con la densidad mineral ósea (DMO), PTH y calcio en una muestra de población sana de ambos sexos mayores de 14 años que reside en el Estado de México.</li> <li>• Correlacionar las concentraciones de vitamina D y PTH en suero con la densidad mineral ósea y calcio de la población en estudio.</li> <li>• Investigar la frecuencia alélicas y genotípica de los polimorfismos de los loci ya referidos del gen VDR, en un grupo de mujeres pre y postmenopáusicas.</li> <li>• Identificar los genotipos más frecuentes presentes en la población de mujeres con pre y postmenopausia.</li> </ul>
Diseño y lugar	Estudio transversal comparativo El estudio transversal de metabolismo óseo y vitamina D se llevará a cabo en el Estado de México (CICMED).
Duración	24 meses
Sujetos	Se incluirán 63 individuos de 12-18 años de edad, 63 de 19-29 años, 154 de 30 a 40 años, 154 de 41-50 años y 115 de 50-70. Participarán alumnos, maestros y padres de familia de escuelas del Estado de México.
Instrumentos de Medición	Se aplicarán en todos los casos, cuestionarios ya validados en población mexicana, Estos cuestionarios contienen preguntas divididas en: a) Información sobre características demográficas y sociales b) Historia familiar de antecedentes de enfermedades crónicas y antecedentes de padecimientos óseos c) El nivel de actividad física d) Información sobre patrones de dieta por medio de un cuestionario semi-cuantitativo de frecuencia de consumo de alimentos previamente validado en población mexicana. e) Se realizarán mediciones clínicas y antropométricas, así como la obtención de muestras biológicas para la determinación de vitamina D, Calcio, Fósforo, Albúmina y PTH. f) Se realizará un estudio de densidad mineral ósea, mediante densitometría ósea (DXA) en cadera y región lumbar.

Procedimientos	<p>1.- Se hará la invitación a los sujetos elegibles de escuelas del Estado de México.  2.- Los participantes se citarán en el Centro de Investigación Médica de la UAEMex (CICMED)  3. Se aplicarán los cuestionarios.  4. Se obtendrán las muestras biológicas (11mL) para determinar concentraciones de (25OH) vitamina D, Calcio, Fósforo, Albúmina y PTH en suero.  5.- Se realizará densitometría ósea de dos regiones.</p> <p>Para la obtención de la muestra del gen VDR se invitarán a las mujeres que asisten a consulta del INR, se les tomará la muestra para determinación genética y se aplicarán los cuestionarios.</p>
Análisis de datos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La estadística descriptiva la realizaremos utilizando promedios y desviaciones estándar (<math>X \pm DS</math>) para las variables continuas y proporciones con sus intervalos de confianza para las categóricas (IC 95%). El análisis estadístico se llevará a cabo con el programa SPSS versión 15.0</li> <li>• El análisis de nutrimentos en la dieta de los individuos, se realizará con los valores nutrimentales del programa SNUT, desarrollado por el Instituto Nacional de Salud Pública y se cuantificarán por medio del programa SPSS 17.0</li> <li>• La comparación para determinar las concentraciones de Vitamina D en nuestra población se hará con base en su concentración <math>\pm 2</math> D.E., estas concentraciones deben corresponder con concentraciones que no se acompañen de datos de DMO que indiquen osteopenia, ni osteoporosis, así como niveles normales de concentración de PTH.</li> </ul>
Resultados	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se espera que las concentraciones de vitamina D en la población disminuyan, conforme aumenta la edad del individuo. Contrario a esto se espera que las concentraciones de PTH aumenten en sujetos mayores de 50 años. Además de que exista una disminución gradual de DMO a medida que se incremente la edad.</li> <li>• Se espera una correlación entre la concentración de vitamina D, densidad mineral ósea.</li> <li>• Esperamos que a medida que aumenta la concentración de Vitamina D, disminuya la PTH y aumente la DMO.</li> <li>• Se obtendrá la frecuencia de polimorfismos del gen VDR en mujeres con y sin osteoporosis.</li> </ul>
Productos a entregar	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Publicación internacional en revista con arbitraje médico de alto impacto</li> <li>• Publicación nacional de los datos en revista nacional de amplia difusión en la comunidad medica</li> <li>• Presentación de resultados en un Congreso internacional y uno nacional relacionados con el metabolismo óseo. (American Society of Bone and Mineral Research ASBMR y Congreso Nacional de Metabolismo Mineral o de Medicina Interna o de Reumatología)</li> </ul>
Beneficios de la propuesta	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>De la generación de nuevos conocimientos:</i> De este estudio se desprenderá información original con la que no cuenta el país con relación a los niveles de concentración de 2D en mexicanos, la prevalencia de la insuficiencia y su relación con PTH y con el contenido mineral óseo que será de utilidad a los tomadores de decisiones para implementar programas a nivel de salud pública para beneficiar a la población insuficiente de vitamina D</li> <li>• <i>Colaboración inter-institucional y fortalecimiento del personal de investigación:</i> Este estudio involucra a investigadores del Instituto Mexicano del Seguro Social, la Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Nacional de Rehabilitación y la Universidad Nacional Autónoma de México permitiendo el desarrollo y crecimiento de estos grupos a través del trabajo de colaboración en diferentes áreas de experiencia y conocimiento, además ayudar en la formación de nuevos y jóvenes investigadores y será el trabajo de obtención del grado de doctorado alumnas del programa de ciencias de la salud y participarán estudiantes en servicio social.</li> </ul>



## **ASENTIMIENTO INFORMADO**

### **PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA**

#### **Asociación de 25(OH) Vitamina D con densidad mineral ósea y frecuencias alélicas del gen VDR en población mexicana**

Investigador principal: Patricia Clark

Sede donde se realizará el estudio: Centro de Investigación Clínica de la Universidad Autónoma del Estado de México, Hospital Infantil de México "Federico Gómez"

Nombre del paciente:

---

Mi nombre es Nalleli Vivanco y mi trabajo consiste en investigar si las concentraciones de Vitamina D de adolescentes y adultos mexicanos son las adecuadas, si tu hueso está sano y algunos aspectos genéticos relacionados con la Vitamina D.

Te voy a dar información e invitarte a tomar parte de este estudio de investigación. Puedes elegir si participar o no. Hemos discutido esta investigación con tus padres/tutores y ellos saben que te estamos preguntando a ti también para tu aceptación. Si vas a participar en la investigación, tus padres/tutores también tienen



que aceptarlo. Pero si no deseas tomar parte en la investigación no tienes porqué hacerlo, aún cuando tus padres lo hayan aceptado.

Puedes discutir cualquier aspecto de este documento con tus padres o amigos o cualquier otro con el que te sientas cómodo. Puedes decidir participar o no después de haberlo discutido. No tienes que decidirlo inmediatamente.

Puede que haya algunas palabras que no entiendas o cosas que quieras que te las explique mejor porque estás interesado o preocupado por ellas. Por favor, puedes pedirme que pare en cualquier momento y me tomaré tiempo para explicártelo.

**Objetivo: ¿Por qué están haciendo esta investigación?**

Queremos saber si la Vitamina D y la calidad del hueso en adolescentes mexicanos son adecuadas, así mismo nos interesa saber algunas cosas acerca de los genes responsables de la absorción de esta vitamina. Si lo logramos, podemos hacer nuevos tratamientos para que a los adolescentes que tengan deficiencia de vitamina D o una calidad de hueso anormal, se les de un tratamiento para mejorar su salud.

**Elección de participantes: ¿Por qué me pide participar?**

Estamos haciendo este proyecto en adolescentes de tu edad desde 14 años que son sanos y que sus padres trabajan en la UAEMEX.

**La participación es voluntaria: ¿Tengo que hacer esto?**

No tienes porqué participar en esta investigación si no lo deseas. Es tu decisión si decides participar o no en la investigación, está bien y no cambiará nada. Si decides no participar, todo seguirá igual que antes. Incluso si dices que “sí” ahora, puedes cambiar de idea más tarde y estará bien todavía.

**He preguntado al niño/a y entiende que su participación es voluntaria \_\_\_\_\_  
(inicial)**

**Procedimientos ¿Qué me va a suceder?**

El estudio consiste en medir tu peso, estatura con una báscula y un estadímetro, también determinaremos tu cintura y cadera con una cinta métrica. Tomaremos una muestra de sangre y analizaremos la calidad de tus huesos en un aparato llamado DXA que es una cámara colocada encima de una cama, donde te vamos a acostar durante 15 minutos.

**He preguntado a los niños y entienden los procedimientos \_\_\_\_\_ (inicial)**

**Riesgos: ¿Es esto malo o peligroso para mí?**

No existe ningún riesgo en todo lo que vamos a hacer y no es doloroso.

**He preguntado al niño/a y entiende los riesgos y molestias \_\_\_\_\_ (inicial)**

**Beneficios: ¿Hay algo bueno que vaya a ocurrirme?**

Si logramos detectar cuántos adolescentes tienen bajas concentraciones de Vitamina D y su hueso no tiene la calidad adecuada, se podrán desarrollar programas para dar esta vitamina a todos los adolescentes y así mejorar su concentración y la salud de sus huesos.

**He preguntado al niño/a y entiende los beneficios \_\_\_\_\_ (inicial)**

**Confidencialidad: ¿Van a saber todos acerca de esto?**

No diremos a otras personas que estas en ésta investigación y no compartiremos información sobre ti a nadie que no trabaje en el estudio de investigación. La información recogida por la investigación será retirada y nadie sino los investigadores podrán verla. Cualquier información tuya tendrá un número en vez de tu nombre. Solo los investigadores sabrán cual es tu número y se guardarán la información con llave. No será compartida ni dada a nadie excepto a la Dra. Patricia Clark y a la M en C. Nalleli Vivanco.

**Derecho a Negarse o a Retirarse de la investigación. ¿Puedo elegir no participar en la investigación? ¿Puedo cambiar de idea?**

No es obligatorio que participes en esta investigación. Nadie se enojará o molestará contigo si decides que no quieres participar. Eres libre de tomar la decisión. Puedes pensar en ello y responder más tarde si quieres. Puedes decir “sí” ahora y cambiar de idea más tarde y también estará bien.

**A Quien Contactar: ¿Con quién puedo hablar para hacer preguntas?**

Puedes hacerme preguntas ahora o más tarde. Tengo un número y dirección donde puedes localizarme o, si estás cerca, puedes venir y vernos. Si quieres hablar con alguien más que conoces como tu profesor o médico o un familiar, puedes hacerlo también.

**Si elegiste ser parte de esta investigación, también te daré una copia de esta información para ti. Puedes pedir a tus padres que lo examinen si quieres.**

**PARTE 2: Formulario de Asentimiento**

*Entiendo que la investigación consiste en evaluar la vitamina D y la calidad de mis huesos..*

**“Sé que puedo elegir participar en la investigación o no hacerlo. Sé que puedo retirarme cuando quiera. He leído esta información (o se me ha leído la información) y la entiendo. Me han respondido las preguntas y sé que puedo hacer preguntas más tarde si las tengo. Entiendo que cualquier cambio se discutirá conmigo.**

**“Yo no deseo participar en la investigación” \_\_\_\_\_(iniciales del niño/menor)**

**“Acepto participar en esta investigación”**

**Nombre del niño/a**

\_\_\_\_\_

**Firma del niño/a:**\_\_\_\_\_

**Fecha: México D.F. a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_\_**

***Si no sabe leer:***

**“He sido testigo de la lectura exacta del documento de asentimiento al participante potencial y el individuo ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmando de que ha dado su asentimiento libremente”.**

**Nombre del testigo (diferente de los padres)**\_\_\_\_\_

**Firma del testigo** \_\_\_\_\_

**Parentesco** \_\_\_\_\_

**Fecha México D.F. a** \_\_\_\_ **de** \_\_\_\_\_ **de 20** \_\_\_\_

**Copia dada al participante** \_\_\_\_\_ **(iniciales del investigador/asistente)**

**El Padre/madre/apoderado ha firmado un consentimiento informado** \_\_\_**Si** \_\_\_**No**  
**(iniciales del investigador/asistente)** \_\_\_\_\_



**CONSENTIMIENTO INFORMADO  
PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA**

**Asociación de 25(OH) Vitamina D con densidad mineral ósea y frecuencias  
alélicas del gen VDR en población mexicana**

Investigador principal: Patricia Clark

Sede donde se realizará el estudio: Centro de Investigación Clínica de la Universidad Autónoma del Estado de México, Hospital Infantil de México “Federico Gómez

Nombre del paciente:

---

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como **consentimiento informado**. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

**I. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.** Este estudio permitirá determinar las concentraciones de Vitamina D, densidad mineral ósea y aspectos genéticos relacionados con la misma, en hombres y mujeres mayores de 14 años.

Otro beneficio adicional de este estudio en materia de nutrición será el desarrollo local de patrones de referencia para evaluar a la población y poder dar pautas de orientación alimentaria y/o políticas de alimentación.

## **II. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO**

- Se le harán unas preguntas por medio de un cuestionario.
- Se determinará su peso y estatura por medio de una báscula y un estadímetro.
- Se le realizará una toma de muestras sanguínea de 7 ml por una sola ocasión.
- Se determinará la densidad mineral ósea por medio de un densitómetro el cual es una especie de cámara colocada encima de una cama en la que se recostará.

Los datos obtenidos tanto en la entrevista como de los diferentes estudios que se le practicarán, serán utilizados con fines de investigación únicamente

## **III. RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO**

Los estudios que se le practicarán no representan ningún riesgo para su salud, los procedimientos no son dolorosos.

## **IV. BENEFICIOS DEL ESTUDIO**

Si usted participa se le realizarán los estudios con los cuales conocerá si su niveles de Vitamina D son los correctos para un adecuado desarrollo de sus huesos, si su densidad mineral ósea es la adecuada.

## **V. GARANTÍA DE INFORMACIÓN**

En caso de requerir respuesta a alguna pregunta, aclaración o cualquier duda acerca de los procedimientos, riesgos y beneficios u otros asuntos relacionados con este proyecto se podrá comunicar a los teléfonos:

Dra. Patricia Clark

Unidad de Epidemiología (Hospital Infantil de México “Federico Gómez”)

Teléfono: 1998-1094

M en C Nalleli Vivanco Muñoz

Teléfono: 04455 4142 0150 (24 horas)

- En caso de que usted desarrolle algún efecto adverso secundario no previsto, tiene derecho a una indemnización, siempre que estos efectos sean consecuencia de su participación en el estudio.
- Si existieran gastos adicionales, éstos serán absorbidos por el presupuesto de la investigación.
- Usted también tiene acceso a las Comisiones de Investigación y Ética de la Facultad de Medicina de la UNAM en caso de que tenga dudas sobre sus derechos como participante del estudio a través de:

Dr. Guillermo Robles Díaz,

Secretario Técnico de las Comisiones de Investigación  
y Ética de la Facultad de Medicina.

Teléfono: 5623 2298.

Y en el Comité de Ética del Hospital Infantil de México “Federico Gómez” con:

Dr. Samuel Flores Huerta

Teléfono. 5228.9917 ext. 1192.

- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.
- Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, aun cuando el investigador responsable no se lo solicite, informando las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.
- El registro de resultados de cada individuo será codificado numéricamente de tal manera que únicamente los investigadores tendrán acceso a la



identificación de sujetos, de esta manera se conservará la confidencialidad de la información relacionada a su privacidad.

- Si durante el desarrollo del estudio, surge nueva información relevante a su diagnóstico, se le dará a conocer.

## **ACLARACIONES**

- No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.
- No recibirá pago por su participación.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado anexa a este documento.

## CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación.

Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

---

**Firma del participante o del padre o tutor**

**Fecha**

---

**Testigo**

**Parentesco**

---

**Fecha**

---

**Testigo**

**Parentesco**

---

**Fecha**

**Esta parte debe ser completada por el responsable de realizar el consentimiento:**

He explicado al Sr(a). \_\_\_\_\_ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente, para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella. Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

---

**Nombre/ Firma**

**Fecha**

## GLOSARIO DE TERMINOLOGÍA GENÉTICA

**Alelos:** Formas alternativas del mismo gen. Si las secuencias de ADN en un locus dado (a menudo un gen o un marcador) varía entre diferentes cromosomas en la población, cada diferente versión es un alelo. Si hay dos alelos en un locus dado, el alelo que es menos común en la población es el alelo menor.

**Exón:** Segmento de un gen representado en el producto del DNA maduro. Los exones individuales pueden contener DNA de codificación, DNA no codificante (secuencias no traducidas), o ambos.

**Fenotipo:** Características observables en una célula o un organismo, incluyendo el resultado de cualquier estudio que no sea una prueba directa del genotipo.

**Gen candidato:** En clonación posicional, un gen de localización cromosómica apropiada que se sospecha contribuye al desarrollo de una enfermedad. La sospecha se estudia buscando mutaciones en pacientes.

**Genoma:** Grupo total de diferentes moléculas de DNA de un organelo, una célula o un organismo. El genoma humano consiste de 25 moléculas de DNA distintas, la molécula de DNA mitocondrial, aunada a 24 diferentes moléculas cromosómicas de DNA.

**Genotipo:** Constitución genética de un individuo, sea en su totalidad o en un locus específico.

**Haploide:** los gametos (el esperma y los óvulos) son haploides. Contienen solamente un miembro de cada par de cromosomas homólogos. Todos los óvulos tienen 23,X cromosomas complementarios y el esperma, 23,Y. cuando el esperma y el óvulo se fusionan para formar un cigoto se restauran los cromosomas complementarios diploides.

**Heterocigoto:** Individuo que tiene dos alelos diferentes en un locus particular.

**Homocigoto:** Individuo que tiene dos alelos idénticos en un locus particular. Con propósitos clínicos, una persona suele describirse como homocigoto AA si tiene dos alelos que funcionan normalmente, u homocigoto aa cuando presenta dos alelos patogénicos en un locus, prescindiendo de que los alelos sean de hecho completamente idénticos a nivel de la secuencia de DNA. La homocigosidad para alelos idénticos por descendencia se denomina autocigosidad.

**Locus:** un locus es una localización cromosómica única que define la posición de un gen individual o una secuencia de ADN. En estudios de ligamiento genético, el término también puede referirse a la región que implica uno o más genes.

**Marcador genético:** un marcador genético es una variable de la secuencia de ADN que tiene un componente no variable que es suficientemente específico para localizarlo en un locus genómico único y un componente variable que es suficientemente heterogéneo para identificar diferencias entre individuos y entre cromosomas homólogos en un individuo. Los marcadores genéticos tienen un papel fundamental en el mapeo genético.

**Poligénico:** Carácter determinado por la acción combinada de varios locus genéticos. La teoría poligénica matemática asume que hay demasiados locus, cada uno con un efecto pequeño.

**Polimorfismo:** Implica que existen dos o más variantes genéticas en un locus designado. Un locus que es polimórfico tiene al menos dos alelos alternativos. Estrictamente, existencia de dos o más variantes (alelos, fenotipos, variantes de secuencia, variantes de estructura cromosómica) a frecuencias importantes en la población. Los usos más laxos entre genetistas moleculares incluyen 1) cualquier variante de secuencia que se encuentra en una frecuencia mayor a 1% en una

población, 2) cualquier variante de secuencia no patogénica, prescindiendo de la frecuencia.

**Polimorfismo de nucleótido único (SNP):** es una variante del ADN que representa una variación en una única base. Un SNP común puede definirse como un locus en el cual dos alelos de SNP están presentes, ambos con una frecuencia de 1%. El genoma humano podría albergar más de 10 millones de SNPs.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Briceida López por su apoyo en el análisis de muestras. (Laboratorio Central Hospital Infantil de México “Federico Gómez”)

Al Dr. Francisco Velázquez Forero por su apoyo en el análisis de PTH (Laboratorio de Metabolismo Óseo Hospital Infantil de México “Federico Gómez”)

Al Dr. Daniel Osvaldo Castelán Martínez por su ayuda en el análisis de los casos y controles genéticos.

Al Dr. Juan Tamayo por el aporte de las densitometrías y reclutamiento de varones (Clínica Osteosol).

## REFERENCIAS

1. K., R., *Vitamin D, cod liver oil, sunlight and rickets: a historical perspective.* . Pediatrics, 2003. **112**: p. 132-135.
2. Holick, M.F., *Vitamin D*. 3a. edición ed. Modern Nutrition in Health and Disease, ed. L.a. Febiger. Vol. 1. 1994: Shills M, Olson J and Shike M.
3. Holick, M.F., *High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health.* Mayo Clin Proc, 2006. **81**(3): p. 353-73.
4. Reggy, P.v.d.W., R.H.L. Michiel, and v.d.B.e.a. Henk, *Serum vitamin D concentrations among elderly people in Europe.* Lancet, 1995. **346**: p. 207-210.
5. Meddeb, N., et al., *Vitamin D deficiency in Tunisia.* Osteopors Int 2005. **16**: p. 180-183.
6. Dambacher M a, S.E., *Osteoporosis y los metabolitos activos de la vitamina D.* primera edición ed, ed. Eular. Vol. 1. 1997, Suiza. 107.
7. Rucker D, A.A.J., Fick Gordon H, Hanley D.A, *Vitamin D insufficiency in a population of healthy western Canadians.* CMAJ, 2002. **12**: p. 166.
8. Grant WB, S.R.a.G.C., *Sunshine is good medicine.The health benefits of ultraviolet B induced vitamin D production.* Journal of Cosmetic Dermatology, 2004. **2**: p. 86-98.
9. Olivieri, A., *High prevalence of vitamin D insufficiency in healthy elderly people living at home in Argentina.* Eu J of Clin Nutr, 2004. **58** p. 337-342.
10. Rucker D, A.A., Fick Gordon H, Hanley D., *Vitamin D insufficiency in a population of healthy western Canadians.* CMAJ, 2002. **12**: p. 166.
11. Vaquero Pilar, S.M.F., Carbajal angeles, García Linares Carmen, Fernández García Camino, García Arias Trinidad., *Mineral and Vitamin Status in Elderly Persons from Northwest Spain consuming an Atlantic Variant of the Mediterranean Diet.* Annals of Nutrition and Metabolism, 2004. **48**: p. 125-133.
12. Moussaui, M., *Prevalence of vitamin D deficiency in Isfahani high school students* Human Res, 2005. **64**: p. 144-148.
13. Holvick, K., *Prevalence and predictorsof vitaminb D deficiency in five immigrant groups living in oslo, norway: the oslo Immigrant health study.* Eu J of Clin Nutr, 2005. **59**: p. 57-63.
14. G.L., R., *Pathogenesis of osteoporosis:concepts, conflicts and prospects.* The journal of clinical investigation, 2005. **115**: p. 3318-3325.
15. Larracilla, A., *Determinaci'on de niveles s'ericos de 25-hidroxicolecaciferol en recién nacidos con y sin hipocalcemia:informe preliminar.* Bol med. Hosp Infant Mex, 1988. **45(4)**: p. 226-33.
16. Elizondo-Montemayor L, U.-C.P., Serrano-González M, Cuello-García CA, Borbolla-Escoboza JR., *Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentration, Life Factors and Obesity in Mexican Children..* Obesity (Silver Spring).. [Epub ahead of print] 2010.
17. MC Chapuy, P.P., M Maamer, *Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population.* Osteoporos Int., 1997. **7**: p. 439-43.
18. Mansbach JM, G.A., Camargo CA Jr., *Serum 25-hydroxyvitamin D levels among US children aged 1 to 11 years: do children need more vitamin D?.* Pediatrics, 2009. **124**(5): p. 7.
19. Calatayud M, J.E., Sánchez R, Guadalix S, Hawkins F., *Prevalence of deficient and insufficient vitamin D levels in a young healthy population.* Endocrinol Nutr., 2009. **56**(4): p. 6.
20. Hall, J., *Endocrinology and reproduction,* in *Guyton & Hall, Physiology Review,* J.E. Hall, Editor. 2006 Sanders Elsevier: Philadelphia. p. 219-246.
21. Nicoletti, D., et al., *Synthesis and GABA(A) receptor activity of 6-oxa-analogs of neurosteroids.* Steroids, 2000. **65**(6): p. 349-56.
22. Kochupillai, N., *The physiology of vitamin D : Current concepts.* Indian J Med Res, 2008. **127**: p. 7.
23. M Munoz de Chavez, J.L.S., *Valor Nutritivo de los alimentos,* ed. M.G. Hill. Vol. 1. 2002, Mexico D.F.: INNSZ.
24. Susan Whiting, M.C., *Dietary recommendations to meet both endocrine and autocrine needs of vitamin D.* Journal of steroid biochemistry and molecular biology, 2005: p. 7-12.
25. Heaney, R., *Functional indices of vitamin D status and ramificationc of vitamin D deficiency.* . American Journal Clin Nutr, 2006. **80**: p. 1706-1709.
26. Ruddy S, H.E., Sledge C, Sergent J, Budd R. , , in *Kelly´s Textbook of Rheumatology,* S. Company., Editor. 2001. p. 1612-1621, 1635-1645.
27. Marcus R, F.D., Kelsey J, *Osteoporosis,* ed. Elsevier. Vol. 1. 2001, USA: Academic Press. 25.
28. Ruddy S, H.E., Sledge C, Sergent J, Budd R, *Kelly´s Textbook of Rheumatology,* S. Company, Editor. 2001. p. 1612-1621, 1635-1645.



29. Clark, P., et al., *Incidence rates and life-time risk of hip fractures in Mexicans over 50 years of age: a population-based study*. Osteoporos Int, 2005. **16**(12): p. 2025-30.
30. Morales-Torres, J., et al., *Fracture risk assessment in Latin America: is Frax an adaptable instrument for the region?* Clin Rheumatol, 2010. **29**(10): p. 1085-91.
31. Johansson, H., et al., *Increasing age- and sex-specific rates of hip fracture in Mexico: a survey of the Mexican institute of social security*. Osteoporos Int, 2011. **22**(8): p. 2359-64.
32. Moedano, D.E., et al., *Osteoporosis, the risk of vertebral fracture, and periodontal disease in an elderly group in Mexico City*. Gerodontology, 2011. **28**(1): p. 19-27.
33. Clark, P., et al., *Prevalence of vertebral fractures in Brazil, Puerto Rico and Mexico. Preliminary report of the Latin American Vertebral Osteoporosis Study LAVOS*. J Bone Miner Res, 2004. **19**(Suppl 1): p. S87.
34. Clark, P., et al., *Direct costs of osteoporosis and hip fracture: an analysis for the Mexican healthcare system*. Osteoporos Int, 2008. **19**(3): p. 269-76.
35. Raisz, L.G., *Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects*. J Clin Invest, 2005. **115**(12): p. 3318-25.
36. Raisz, L.G., *Clinical practice. Screening for osteoporosis*. N Engl J Med, 2005. **353**(2): p. 164-71.
37. Tran, B.N., et al., *Enhancement of absolute fracture risk prognosis with genetic marker: the collagen I alpha 1 gene*. Calcif Tissue Int, 2009. **85**(5): p. 379-88.
38. Andre G. Uitterlinden, S.H.R., Maria Luisa Brandi, Alisoun H. CArey, Daniel Grinberg, Bente L. Langdahl et al., *The association between common Vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: A participant-level Meta-Analysis*. Annals of Internal Medicine, 2006. **145**: p. 10.
39. Magana, J.J., et al., *Association of the CT gene (CA) polymorphism with BMD in osteoporotic Mexican women*. Clin Genet, 2006. **70**(5): p. 402-8.
40. Williams, F.M. and T.D. Spector, *The genetics of osteoporosis*. Acta Reumatol Port, 2007. **32**(3): p. 231-40.
41. Hsu, Y.H., et al., *An integration of genome-wide association study and gene expression profiling to prioritize the discovery of novel susceptibility Loci for osteoporosis-related traits*. PLoS Genet, 2010. **6**(6): p. e1000977.
42. Gomez, R., et al., *Association of the estrogen receptor alpha gene polymorphisms with osteoporosis in the Mexican population*. Clin Genet, 2007. **72**(6): p. 574-81.
43. Magana, J.J., et al., *Association of interleukin-6 gene polymorphisms with bone mineral density in Mexican women*. Arch Med Res, 2008. **39**(6): p. 618-24.
44. Devoto M, S.K., Caminis J, Ott J, Tenenhouse A, Whyte MP, Sereda L, May S, *First-stage autosomal genome screen in extended pedigrees suggest genes predisposing to low bone mineral density on chromosomes 1p, 2p and 4q*. Eur J Hum Gen, 1998. **6**: p. 7.
45. Zmuda JM, Cauley JA, and F. RE., *Molecular epidemiology of vitamin D receptor gene variants*. Epidemiology Rev 2000. **22**(2): p. 203-217.
46. Tao C, et al., *Vitamin D receptor alleles predict growth and bone density in girls*. Arch Dis Child, 1998. **79**: p. 448-494.
47. Langdahl BL, et al., *Polymorphism in the vitamin D receptor gene and bone mass, bone turnover and osteoporotic fractures*. Eur J Clin Invest 2000. **30**(7): p. 608-17.
48. Spector TD, et al., *Influence of vitamin D receptor genotype on bone mineral density in postmenopausal women: a twin study in Britain*. BMJ, 1995. **310**: p. 1357-1360.
49. Jorgensen HL, et al., *Relation of common allelic variation at vitamin D receptor locus to bone mineral density and postmenopausal bone loss: Cross sectional and longitudinal population study*. BMJ, 1996. **313**: p. 586-590.
50. Morrison NA, et al., *Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles*. Nature, 2001. **367**: p. 284-287.
51. Iniesta, R., E. Guino, and V. Moreno, *[Statistical analysis of genetic polymorphisms in epidemiological studies]*. Gac Sanit, 2005. **19**(4): p. 333-41.
52. Adriana S. Dusso, A.J.B., and Eduardo Slatopolsky, *Vitamin D*. Am J Physiol Renal Physiol, 2005. **289**: p. 21.
53. Zajickova K, H.M., Vankova M, Zofkova I, *Low-density lipoprotein receptor-related protein 5 and vitamin D receptor gene polymorphisms in relation to vitamin D levels in menopause*. Clin Chem Lab Med., 2006. **44**(9): p. 4.
54. Bandrés E, P.I., González-Huarriz M, Rebollo A, López G, García-Foncillas J, *Association between bone mineral density and polymorphisms of the VDR, ERalpha, COL1A1 and CTR genes in Spanish postmenopausal women*. J Endocrinol Invest, 2005. **28**(4): p. 9.
55. Kubota M, Y.S., Ikeda M, Okada Y, Arai H, Miyamoto K, Takeda E, *Association between two types of vitamin d receptor gene polymorphism and bone status in premenopausal Japanese women*. Calcif Tissue Int., 2001. **68**(1): p. 6.
56. Zhang H, T.G., Wu Q, Liu J, Gao Y, Chen R, Leng X., *Vitamin D receptor gene polymorphism in postmenopausal women of the Han and Uygur nationalities in China*. hin Med J (Engl). , 2000. **113**(9): p. 2.

57. Zhang H, T.G., Wu Q, Liu J, Gao Y, Chen R, Leng X., *Studies on the frequencies of vitamin D receptor gene polymorphism in postmenopausal women of Han and Kazak nationality in China*. J Bone Miner Metab., 2001. **19**(5): p. 3.
58. Jofre, R., *[Polymorphisms of the vitamin D receptor (VDR) gene and parathyroid function]*. Nefrologia, 2001. **21 Suppl 1**: p. 51-5.
59. Dusso, A.S., R. Thadhani, and E. Slatopolsky, *Vitamin D receptor and analogs*. Semin Nephrol, 2004. **24**(1): p. 10-6.
60. Adams, J.S. and M. Hewison, *Update in vitamin D*. J Clin Endocrinol Metab, 2010. **95**(2): p. 471-8.
61. Kanis, J.A., *Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: synopsis of a WHO report. WHO Study Group*. Osteoporos Int, 1994. **4**(6): p. 368-81.
62. Hernandez-Avila, M., et al., *Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire to assess dietary intake of women living in Mexico City*. Salud Publica Mex, 1998. **40**(2): p. 133-40.
63. Genant, H.K., *Current state of bone densitometry for osteoporosis*. Radiographics, 1998. **18**(4): p. 913-8.
64. Steven R. Cummings, D.B., Dennis M Black, *Clinical Use of bone densitometry*. JAMA, 2002. **288**: p. 1889-1895.
65. *Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy*. NIH Consensus Statement, 2000. **17**(1): p. 1-45.
66. Calasanz M, d.I.J., Faulin F, López I, Martínez M, Ruiz-Canela M, Sánchez A, *Estimación del tamaño muestral, in Bioestadística Amigable*, M.A.M. González, Editor. 2001, Diaz de Santos: Madrid. p. 259-279.
67. Schlesselman, J.J., *Sample size, in Case-Control studies, design conduct, analysis*. 1982, Oxford University Press: New York. p. 144-169.
68. Magaña JJ, G.m.R., Cisneros B, Casas L, Castorena F, Miranda A, Diez P, Castro C, Rubio J, Valdés M., *Association of the CT gene (CA) polymorphism with BMD in osteoporotic mexican women*. Clin Genet, 2006. **70**: p. 8.
69. Holick, M.F., et al., *Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline*. J Clin Endocrinol Metab, 2011. **96**(7): p. 1911-30.
70. Ross, A.C., et al., *The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know*. J Clin Endocrinol Metab, 2011. **96**(1): p. 53-8.
71. Holick, M.F., *The vitamin D deficiency pandemic and consequences for nonskeletal health: mechanisms of action*. Mol Aspects Med, 2008. **29**(6): p. 361-8.
72. Laird, E., et al., *Vitamin D and bone health: potential mechanisms*. Nutrients, 2010. **2**(7): p. 693-724.
73. Araujo, A.B., et al., *Serum 25-hydroxyvitamin D and bone mineral density among Hispanic men*. Osteoporos Int, 2009. **20**(2): p. 245-55.
74. Saintonge, S., H. Bang, and L.M. Gerber, *Implications of a new definition of vitamin D deficiency in a multiracial us adolescent population: the National Health and Nutrition Examination Survey III*. Pediatrics, 2009. **123**(3): p. 797-803.
75. Braddy, K.K., et al., *Vitamin d deficiency/insufficiency practice patterns in a veterans health administration long-term care population: a retrospective analysis*. J Am Med Dir Assoc, 2009. **10**(9): p. 653-7.
76. Sadat-Ali, M., et al., *Vitamin D levels in healthy men in eastern Saudi Arabia*. Ann Saudi Med, 2009. **29**(5): p. 378-82.
77. Calatayud, M., et al., *[Prevalence of deficient and insufficient vitamin D levels in a young healthy population]*. Endocrinol Nutr, 2009. **56**(4): p. 164-9.
78. Rabbani, A., et al., *Vitamin D insufficiency among children and adolescents living in Tehran, Iran*. J Trop Pediatr, 2009. **55**(3): p. 189-91.
79. Arabi, A., R. El Rassi, and G. El-Hajj Fuleihan, *Hypovitaminosis D in developing countries-prevalence, risk factors and outcomes*. Nat Rev Endocrinol, 2010. **6**(10): p. 550-61.
80. Kumar, J., et al., *Prevalence and associations of 25-hydroxyvitamin D deficiency in US children: NHANES 2001-2004*. Pediatrics, 2009. **124**(3): p. e362-70.
81. Looker, A.C., et al., *Vitamin D status: United States, 2001-2006*. NCHS Data Brief, 2011(59): p. 1-8.
82. Hannan, M.T., et al., *Serum 25-hydroxyvitamin D and bone mineral density in a racially and ethnically diverse group of men*. J Clin Endocrinol Metab, 2008. **93**(1): p. 40-6.
83. Zhao, L.J., et al., *Relationship of obesity with osteoporosis*. J Clin Endocrinol Metab, 2007. **92**(5): p. 1640-6.
84. Zillikens, M.C., et al., *The role of body mass index, insulin, and adiponectin in the relation between fat distribution and bone mineral density*. Calcif Tissue Int, 2010. **86**(2): p. 116-25.
85. De Laet, C., et al., *Body mass index as a predictor of fracture risk: a meta-analysis*. Osteoporos Int, 2005. **16**(11): p. 1330-8.
86. Papaioannou, A., et al., *Risk factors for low BMD in healthy men age 50 years or older: a systematic review*. Osteoporos Int, 2009. **20**(4): p. 507-18.
87. Cauley, J.A., et al., *Factors associated with the lumbar spine and proximal femur bone mineral density in older men*. Osteoporos Int, 2005. **16**(12): p. 1525-37.

88. Lau, E.M., et al., *The determinants of bone mineral density in Chinese men--results from Mr. Os (Hong Kong), the first cohort study on osteoporosis in Asian men.* Osteoporos Int, 2006. **17**(2): p. 297-303.
89. Cheung, E.Y., et al., *Determinants of bone mineral density in Chinese men.* Osteoporos Int, 2005. **16**(12): p. 1481-6.
90. Bendavid, E.J., J. Shan, and E. Barrett-Connor, *Factors associated with bone mineral density in middle-aged men.* J Bone Miner Res, 1996. **11**(8): p. 1185-90.
91. Lunt, M., et al., *The effects of lifestyle, dietary dairy intake and diabetes on bone density and vertebral deformity prevalence: the EVOS study.* Osteoporos Int, 2001. **12**(8): p. 688-98.
92. Nguyen, T.V., J.R. Center, and J.A. Eisman, *Osteoporosis in elderly men and women: effects of dietary calcium, physical activity, and body mass index.* J Bone Miner Res, 2000. **15**(2): p. 322-31.
93. Hannan, M.T., et al., *Risk factors for longitudinal bone loss in elderly men and women: the Framingham Osteoporosis Study.* J Bone Miner Res, 2000. **15**(4): p. 710-20.
94. Howe, T.E., et al., *Exercise for preventing and treating osteoporosis in postmenopausal women.* Cochrane Database Syst Rev, 2011(7): p. CD000333.
95. Maunsell, Z., D.J. Wright, and S.J. Rainbow, *Routine isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for simultaneous measurement of the 25-hydroxy metabolites of vitamins D2 and D3.* Clin Chem, 2005. **51**(9): p. 1683-90.
96. Cole, T.J., et al., *Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey.* BMJ, 2000. **320**(7244): p. 1240-3.