



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO  
EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
FACULTAD DE MEDICINA**

**INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN LUIS GUILLERMO IBARRA IBARRA  
SERVICIOS DE GENÉTICA Y  
DE CIRUGÍA DE LA MANO Y MICROCIROLOGÍA**

**ANÁLISIS DE VARIACIONES GENÉTICAS EN UN GRUPO DE MUJERES  
MEXICANAS CON FRACTURA DE RADIO DISTAL**

**T E S I S**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
DOCTOR EN CIENCIAS MÉDICAS.**

**PRESENTA:**

**DR. EFRAÍN FARÍAS CISNEROS, MAESTRO EN CIENCIAS.**

**DIRECTORA DE TESIS:**

**DRA. MARGARITA VALDÉS FLORES, DOCTORA EN CIENCIAS.  
INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN LUIS GUILLERMO IBARRA IBARRA.**

**Ciudad Universitaria, Ciudad De México, noviembre de 2019.**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

---

# Índice General

---

<b>Resumen.....</b>	<b>vi</b>
<b>Agradecimientos.....</b>	<b>viii</b>
<b>Lista de Figuras.....</b>	<b>x</b>
<b>Lista de Tablas.....</b>	<b>xi</b>
<b>Lista de Abreviaturas.....</b>	<b>xii</b>
<b>Glosario.....</b>	<b>xiv</b>

## **CAPITULO 1 – INTRODUCCION**

### **1.0 El hueso sano**

1.1 Funciones y remodelación en el hueso sano.....	1
1.2 Componentes estructurales del hueso.....	1
1.3 La osteogénesis y sus componentes.....	2
1.4 Factores biológicos involucrados en la formación normal del hueso, su regulación y modelación.....	5
1.5 Determinantes de la fuerza ósea.....	6
1.6 Densidad mineral ósea.....	7
1.7 Pico de masa ósea .....	8

### **2.0 El hueso osteoporótico**

2.1 Definición de osteoporosis.....	9
-------------------------------------	---

2.2 Tipos de osteoporosis.....	10
2.3 Diagnóstico de la osteoporosis.....	11
2.3.1 Densitometría ósea.....	14
2.3.2 Cuestionario FRAX.....	15
2.3.3 Escala de hueso trabecular (TBS).....	16
2.3.4 Marcadores séricos.....	17
2.4 La osteoporosis en México.....	18
2.5 Diferencias poblacionales.....	20
<b>3.0 El radio distal fracturado</b>	
3.1 Definición de fractura.....	21
3.2 Definición de fractura por fragilidad.....	21
3.3 Definición anatómica del radio y cúbito distales.....	22
3.4 La encrucijada en las fracturas de radio distal de baja energía .....	23
3.4.1 Fractura de radio distal.....	23
3.4.2 Epidemiología.....	25
3.4.3 Clasificaciones.....	26
3.4.4 Tratamiento.....	27
3.4.5 Rehabilitación.....	32
3.4.6 Resultados funcionales.....	34
<b>4.0 Aspectos genéticos de la osteoporosis</b>	
4.1 Factores genéticos de la enfermedad.....	35
4.2 Enfermedad monogénica vs poligénica.....	35
4.3 Heredabilidad.....	36

4.4 Genes implicados.....	37
4.5 Polimorfismos.....	41
4.6 Estudios de asociación genética.....	43
4.6.1 Entrecruzamiento o recombinación.....	44
4.6.2 Análisis de ligamiento genético.....	45
4.6.3 LOD Score.....	46
4.6.4 Fracción de recombinación.....	46
4.7 Equilibrio de Hardy-Weinberg.....	47
4.8 Haplotipos.....	50
4.9 Genómica quirúrgica y ortogenómica.....	50

## **CAPITULO 2 – MARCO TEORICO**

Justificación.....	53
Planteamiento del problema.....	53
Pregunta de investigación.....	54
Hipótesis de trabajo.....	54
Objetivos.....	54

## **CAPITULO 3 – MATERIAL Y METODOS**

Diseño del estudio y consideraciones éticas.....	56
Universo de trabajo.....	56
Muestreo y tamaño de la muestra.....	56
Grupos de estudio.....	57

Evaluación de fracturas y densidad mineral ósea.....	59
Identificación de factores de riesgo.....	59
Definición operacional de las variables.....	60
Genes candidatos y selección de SNPs.....	61
Genotipificación.....	65
Control de calidad.....	65
Análisis estadístico.....	66
<b>CAPITULO 4 – RESULTADOS.....</b>	<b>68</b>
<b>CAPITULO 5 – DISCUSIÓN.....</b>	<b>78</b>
<b>CAPITULO 6 – CONCLUSION.....</b>	<b>85</b>
<b>ANEXOS</b>	
<b>Anexo 1.</b> Formato del cuestionario utilizado.....	86
<b>Anexo 2.</b> Carta de Dictamen de Candidatura.....	91
<b>Anexo 3.</b> Artículo original publicado.....	92
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>101</b>

---

## Resumen

---

**E**l pico de incidencia de las fracturas de radio distal (FRD) en mujeres está relacionada con baja densidad mineral ósea (DMO) y fragilidad esquelética. Existen varios factores genéticos y ambientales involucrados, entre los cuales, múltiples variantes genéticas se han relacionado con el fenotipo óseo. El principal objetivo del presente trabajo fue analizar la asociación de cinco polimorfismos de un solo nucleótido (conocidos por sus siglas en inglés SNPs, de *single nucleotide polymorphisms*) del gen *ESR1* (rs3020331, rs851982, rs1999805, rs2234693, rs3020404), cuatro del gen *COL1A1* (rs1800012, rs2075555, rs2412298, rs1107946) y dos más del gen *CCDC170* (rs9479055, rs4870044) con FRD de baja energía en un grupo de mujeres mexicanas postmenopáusicas.

### Métodos

Se realizó un estudio de casos y controles. Los casos (n: 182), fueron mujeres a partir de 38 años de edad o mayores con FRD de baja energía, mientras que los controles (n: 201), fueron mujeres con DMO normal. El análisis se realizó con Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (conocido por sus siglas en inglés Real-Time PCR, de *Real-Time Polymerase Chain Reaction*). Se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas, así como el equilibrio de Hardy Weinberg (HWE). Se llevó a cabo un análisis multivariado, incluyendo índice de masa corporal (IMC), edad, edad a la menarca y años transcurridos desde la aparición de la menopausia como covariables. Finalmente, se realizaron análisis de haplotipos y desequilibrio de ligamento (conocido por sus siglas en inglés LD, de *linkage disequilibrium*).

## Resultados

El SNP rs1107946 del gen *COL1A1* se asoció fuertemente con FRD [Alelo A: OR 2.9 (I.C. 2.1-4.0,  $p < 0.0001$ )]. Ambos SNPs del gen *CCDC170* mostraron fuerte asociación con FRD [rs9479055, alelo A: OR 1.4 (I.C. 1.1-2.0,  $p 0.008$ ), rs4870044, alelo T: OR 1.6 (I.C. 1.2-2.1,  $p 0.001$ ). En cuanto al gen *ESRI*, tres SNPs [rs3020404, alelo C: OR 1.5 (I.C. 1.1-2.0,  $p 0.012$ ), rs3020331, heterocigoto CT, modelo codominante: OR 1.6 (I.C. 1.1-2.4,  $p 0.018$ ) y rs851982, alelo C: OR 2.0 (I.C. 1.5-2.7,  $p < 0.0001$ )] mostraron una muy fuerte asociación de riesgo para FRD. Además, la región entre los últimos dos mostró un importante LD [escala LOD: 53.44,  $D'$ : 0.905, frecuencia de haplotipo CC 13%].

## Conclusiones

Este estudio reveló una importante asociación de las FRD con variantes en los genes *ESRI*, *CCDC170* y *COL1A1*, incluyendo haplotipos y una región con fuerte LD en el gen *ESRI*. Estos resultados sugieren que estos SNPs podrían ser útiles para detectar población en riesgo de presentar FRD dentro del grupo de mujeres mexicanas postmenopáusicas.

---

## Agradecimientos

---

**E**l autor de este trabajo contó con una beca del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT) número 269915.

Así mismo, este trabajo fue posible gracias al apoyo económico del Instituto Nacional de Rehabilitación “Dr. Luis Guillermo Ibarra Ibarra.”

También fue posible gracias al apoyo del personal del Laboratorio de Genética del Instituto Nacional de Rehabilitación, especialmente QFB. Blanca Alicia Barredo Prieto, Dra. en Ciencias Edith Falcón Ramírez, y Dra. en Ciencias Valeria Ponce de León Suárez.

De la misma manera, no se hubiera podido llevar a cabo sin el apoyo del personal de la División de Cirugía de la Mano y Microcirugía, especialmente, a mi maestro, el jefe de división Dr. Alejandro Espinosa Gutiérrez; así como también a la jefa de enfermería Sandra Ramírez Velázquez.

A mi tutora principal, la Dra. Margarita Valdés Flores, a quien le debo mi transitar por los estudios de posgrado. Creyó en mí y en mi trabajo, apoyándome en todo momento, además de realizar con excelencia su papel de guía durante todo el proceso de investigación.

A mis tutores y maestros, Dr. Alberto Hidalgo Bravo y Dr. Antonio Miranda Duarte, quienes me obsequiaron tiempo, conocimientos, herramientas, consejo, apoyo y, sobre todo, amistad durante la realización de este trabajo.

A mis sinodales, quienes se tomaron el tiempo para revisar este trabajo y enriquecerlo con sus atinadas revisiones y comentarios.

A los doctores Luis Guillermo Ibarra Ibarra y Juan Antonio Madinaveitia Villanueva, quienes creyeron en mí y me dieron mi primer trabajo en el Instituto Nacional de Rehabilitación, como médico adscrito a la División de Cirugía de la Mano y Microcirugía.

Al personal del Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud de la Universidad Nacional Autónoma de México. Especialmente a las licenciadas Aleithia Manzanares Villegas, Magnolia Silva Méndez, y María de los Ángeles Torres, por su invaluable ayuda durante todos estos años.

A las mujeres que accedieron a formar parte de este estudio, que su consentimiento ayude a mejorar nuestros conocimientos y nuestras intervenciones en las futuras generaciones de pacientes con fracturas por fragilidad y/u osteoporosis.

A Lupita Fernández Ruiz y Horacio A. Arellano por adoptarme y apoyarme todo el tiempo.

A mis padres, Rosa María y Efraín, por haberme mostrado el camino para llegar hasta aquí, siempre permaneciendo a mi lado como una guía, incluso en los momentos más difíciles.

Final y especialmente, a María por su amor y comprensión, por su apoyo incondicional, y por regalarme horas de convivencia familiar y descanso para poder culminar este trabajo.

*nanos gigantum humeris insidentes*

---

## Lista de Figuras

---

Figura 1 Activación de la Vía Wnt/ $\beta$ -catenina. ....	3
Figura 2. Osteogénesis y sus Componentes.....	4
Figura 3. La Densidad Mineral Ósea. ....	7
Figura 4. Efectos de la Deficiencia Estrogénica Sobre la Pérdida Ósea.....	12
Figura 5. Tomografía Computada Cuantitativa de Alta Resolución Periférica. ....	15
Figura 6. Fracture Risk Assessment Tool (FRAX).....	16
Figura 7. Población Total y Población por Edad y Sexo. México, 2015.....	19
Figura 8. Cuadrado de Urs Heim Definiendo los Segmentos Distales del Radio y Cúbito.....	23
Figura 9. Fracturas por insuficiencia en México, reportadas por el IMSS en 2005. ....	26
Figura 10. Clasificación de Fernández para Fracturas del Radio Distal en Adultos. ....	27
Figura 11. Enfermedad Monogénica vs Poligénica. ....	36
Figura 12. Estructura de la Colágena.....	40
Figura 13. Polimorfismo de un Sólo Nucleótido (SNP). ....	41
Figura 14. Tipos de SNPs .....	42
Figura 15. Recombinación Cromosómica Durante la Meiosis. ....	45
Figura 16. Análisis de Ligamiento Genético. ....	47
Figura 17. Líneas Principales de la Investigación Genómica Médica. ....	52
Figura 18. Mapa del Cromosoma Humano 6 Mostrando los Genes Sinténicos ESR1 y CCDC170.....	76
Figura 19. Mapa del Cromosoma Humano 17 Mostrando la Localización del Gen COL1A1 en el Locus 17q21.33 y los 4 SNPs Estudiados.....	77

---

## Lista de Tablas

---

Tabla 1. Criterios Diagnósticos de la OMS para Osteoporosis .....	9
Tabla 2. Causas de Osteoporosis Secundaria.....	10
Tabla 3. Sitios de Fracturas Osteoporóticas.....	13
Tabla 4. Prevalencia Comparativa de Alteraciones de la Densidad Mineral Ósea.....	18
Tabla 5. Heredabilidad ( $h^2$ ) de los Fenotipos Relacionados con Osteoporosis .....	37
Tabla 6. Genes Relacionados con el Fenotipo Óseo, su Localización Cromosómica y sus Productos.....	38
Tabla 7. Definición Operacional de las Variables .....	60
Tabla 8. Resumen de reportes previos de la asociación de los SNPs estudiados con fractura, DMO y/o OP. ....	61
Tabla 9. Resumen de los Reportes de los SNPs de Referencia para el Presente Estudio. (Datos de dbSNP*).....	64
Tabla 10. Características Demográficas de los Sujetos de Estudio. ....	68
Tabla 11. Frecuencias Alélicas y Equilibrio de Hardy-Weinberg en el Estudio. ....	69
Tabla 12. Frecuencias Genotípicas y Modelos de Heredabilidad Asociados con FRD.....	70
Tabla 13. Análisis de Haplotipos de los SNPs Estudiados. ....	75

---

## Lista de Abreviaturas

---

CCDC170 – *Coiled coil domain 170*, dominio de superenrollamiento conteniendo el gen 170

COL1A1 – *Collagen 1 type A1*, colágeno 1 tipo A1.

DMO – Densidad mineral ósea.

DEXA – *Dual energy X-ray absorptiometry*, radioabsorciometría de doble energía.

DNA – *Desoxyribonucleic acid*, ácido desoxirribonucleico.

ESR1 – *Estrogen receptor type 1*, receptor de estrógenos tipo 1.

FRAX – *Fracture Risk Assessment Tool*, herramienta de evaluación del riesgo de fractura.

FRD – Fractura(s) de radio distal.

GWAS – *Genome-wide association study*, estudio de asociación genómica.

HWE – *Hardy-Weinberg equilibrium*, equilibrio de Hardy-Weinberg.

IMC – Índice de masa corporal.

LD – *Linkage disequilibrium*, desequilibrio de ligamiento.

LOD – *Logarithm of the odds*, logaritmo de las probabilidades.

OP – Osteoporosis.

OR – *Odds ratio*, razón de momios.

PCR – *Polymerase Chain Reaction*, reacción en cadena de la polimerasa.

PMO – Pico de masa ósea.

PvuII – Enzima de restricción aislada en *Proteus vulgaris* cuya función es dividir las cadenas de DNA en la secuencia CAGCTG.

QTC – *Quantitative computed tomography*, tomografía computada cuantitativa.

QTL – *Quantitative trait loci*, loci de rasgos cualitativos

RR – *Relative risk*, riesgo relativo.

SNP(s) – *Single nucleotide polymorphism*, polimorfismo de un solo nucleótido.

Wnt – *Wingless/Integrated signal transduction pathways*, vías de transducción de señal sin alas/integradas.

XbaI – Enzima de restricción aislada en *Xanthomonas badrii*, ésta divide las cadenas de DNA en la secuencia TCTAGA.

---

## Glosario

---

**Alelo:** formas alternativas de una secuencia de DNA. En el caso de los SNP se le llama alelo a cada una de dos bases en un locus específico; si es la misma, homocigoto. Si es diferente, heterocigoto. Los humanos comparten entre ellos un 99.9% de similitud en sus 3mil millones de pares de bases.

**Análisis funcional:** determinación del mecanismo por el cuál cambios en la secuencia o estructura del ADN afectan un rasgo complejo, como una enfermedad. Los resultados pueden mostrar que un gen modificado altera la estructura o función de su proteína codificada.

**$\beta$ -catenina:** proteína con función de estabilizar la adhesión celular; también funciona como un activador transcripcional de vías de proliferación celular.

**Epigenética:** cambios en la expresión génica controlados por factores que no alteran la secuencia del DNA; estos cambios tienen consecuencias funcionales. (p. ej. silenciamiento génico o transmisión modificada a través de la metilación del DNA o acetilación de histonas).

**Estudios de asociación genómica (GWAS):** estudios que comparan miles de SNPs marcadores entre individuos sanos y con enfermedad. Su objetivo es identificar variables en el ADN asociadas a una condición determinada. Los SNPs asociados con la enfermedad pueden tener funciones desconocidas o sólo con efectos limitados.

**Genética:** rama de la biología que estudia la heredabilidad, describe los genes y la manera en que varían a lo largo de generaciones.

Genómica: se refiere al estudio de los genes, sus funciones e interacciones, así como las técnicas relacionadas empleadas para dicho propósito.

Haplotipo: grupo de SNPs heredados de forma conjunta. Pueden tener mayor valor predictivo y ser más relevantes clínicamente que el análisis aislado de un solo SNP.

Heredabilidad: proporción de un fenotipo atribuible a factores genéticos. P. ej. la densidad mineral ósea de un individuo que no se explica por aspectos ambientales.

Locus (plural, *loci*): la localización específica de un alelo, gen, etc., que ayuda a determinar su mecanismo de acción. P. ej. SNPs en regiones promotoras pueden alterar la tasa de transcripción mientras que los SNPs en exones pueden modificar la secuencia de aminoácidos.

Locus de rasgos cuantitativos: detecta secuencias de DNA asociadas a un rasgo específico, las secuencias de DNA pueden ser mejor estudiadas al identificar genes relacionados a un rasgo.

Polimorfismo de un solo nucleótido: cambio de una sola base (p. ej. A  $\rightarrow$  T) que pueden influenciar la acción de un gen. Su participación para proporcionar cierto grado de variación en enfermedades complejas está demostrada.

Secuenciación de genoma completo o de exoma: determina cada nucleótido en un genoma o exoma (región codificadora de proteínas) individual. Puede comparar sanos vs enfermos para identificar mutaciones genéticas y mecanismos potenciales.

Sinténicos: dos o más genes que están localizados en el mismo cromosoma, tanto si están en ligamiento como si no.

---

## Capítulo 1 – Introducción

---

### 1.0 El hueso sano

#### 1.1 Funciones y remodelación en el hueso sano.

**E**l hueso es un andamio que da soporte y forma al cuerpo, se caracteriza por su rigidez, dureza y poder de regeneración y reparación. El esqueleto además protege los órganos vitales, provee el ambiente necesario en la médula para formación sanguínea y almacenamiento de tejido adiposo, actúa también como reservorio mineral para la homeostasis del calcio y de factores de crecimiento y citocinas; por último, asimismo toma parte en el balance ácido base.(Taichman 2005) El hueso está sometido durante toda la vida a una constante remodelación, la cual le ayuda a adaptarse a las fuerzas biomecánicas cambiantes, la remodelación de igual modo ayuda a remover hueso viejo con daño microscópico y a reemplazarlo con hueso nuevo, mecánicamente más fuerte para preservar su fortaleza.

#### 1.2 Componentes estructurales del hueso.

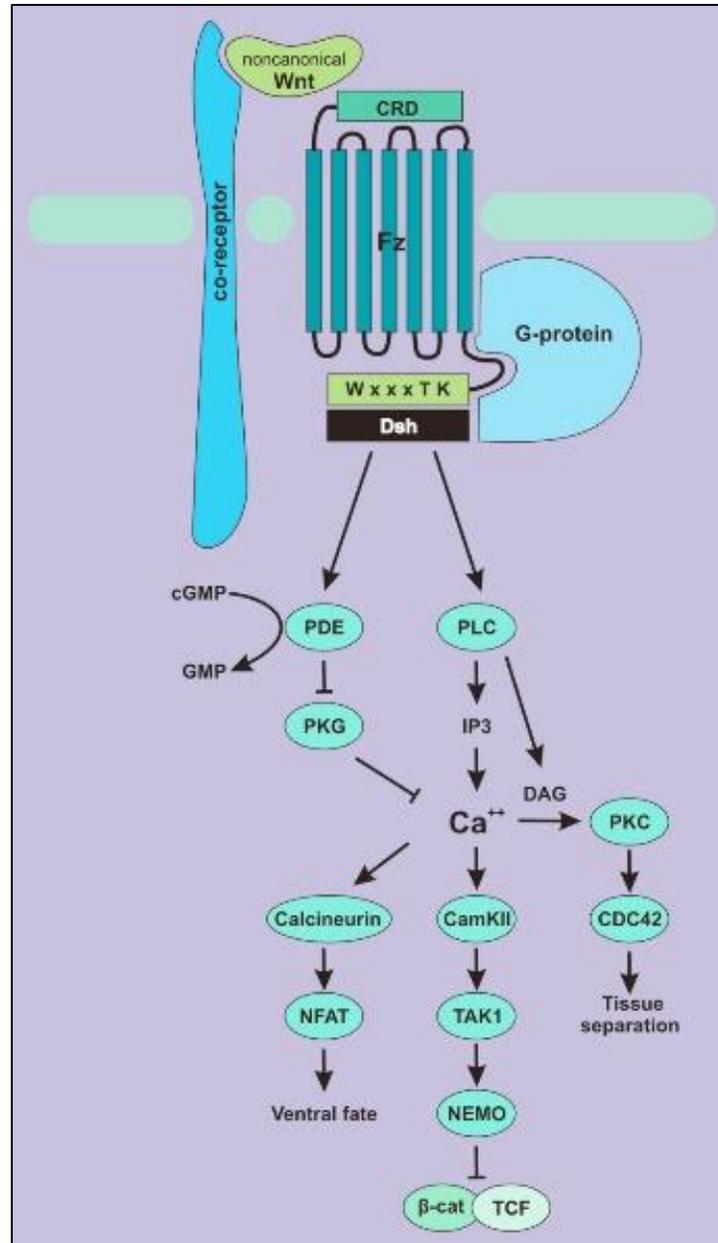
El tejido óseo tiene dos componentes: el hueso cortical que es denso, sólido y rodea el espacio medular, y el hueso trabecular que está compuesto de una red similar a un panal de abeja consistente en placas y bastones trabeculares esparcidos en el compartimento medular óseo. El hueso cortical tiene una superficie perióstica externa y una superficie endóstica interna. El periostio es una vaina de tejido conectivo fibroso que rodea la superficie cortical externa del hueso, excepto en las articulaciones donde el hueso está cubierto por cartílago articular. Contiene vasos sanguíneos, osteoblastos, osteocitos, osteoclastos y fibras nerviosas.(Kini and Nandeesh 2012) A partir de esta rica inervación perióstica se origina y transmite el dolor secundario a una

fractura.(Nencini and Ivanusic 2016; Mach et al. 2002) El periostio protege, nutre y ayuda en la formación ósea, así como también juega un papel importante en el crecimiento por aposición y la reparación de las fracturas.

### 1.3 La osteogénesis y sus componentes.

La osteogénesis, también conocida como osificación, es el proceso de formación de hueso nuevo a partir de los osteoblastos. Estas células, junto con la matriz ósea, son los dos elementos más cruciales involucrados en la formación de hueso. Los tres pasos básicos de la osteogénesis son: a) la síntesis de la matriz orgánica extracelular, también conocida como osteoide; b) la mineralización de la matriz que lleva a la formación de hueso, y c) la remodelación del hueso por los procesos de resorción y reformación.

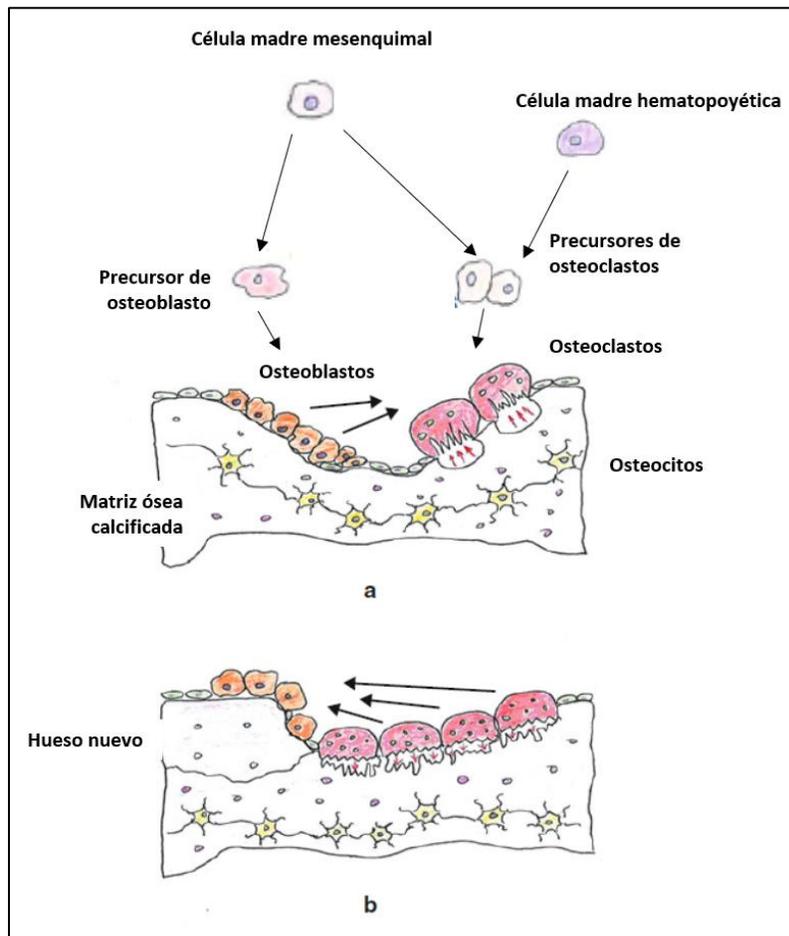
Los osteoblastos se originan de células troncales mesenquimales presentes en el estroma de la médula ósea y son los responsables de la síntesis de matriz ósea y su subsiguiente mineralización. Este cambio celular requiere la vía canónica Wnt/ $\beta$ -catenina y proteínas asociadas.(Logan and Nusse 2004) (Ver Figura 1). Los osteoblastos son responsables de la regulación de los osteoclastos y de la deposición de la matriz ósea, que al ser atrapados en su propia matriz ósea se convierten en osteocitos y detienen la secreción de osteoide.(Mackie 2003) Los osteocitos son las células óseas más abundantes, se comunican entre ellos a través de extensiones de la membrana plasmática, actuando como mecano-sensores que envían mensajes de ejecución a osteoblastos y osteoclastos.(Manolagas 2000; Boulpaep and Boron 2005). (Ver Figura 2).



**Figura 1 Activación de la Vía Wnt/ $\beta$ -catenina.**

Esta vía forma parte de la vía Wnt/ $\text{Ca}^{2+}$ , mediada por proteínas-G. La proteína *despeinada* (DSH, *disheveled protein*) activada tras la internalización de la proteína G se une a la fosfodiesterasa (FDE), lo cual inhibe a la proteína-quinasa G (PCG) y causa un aumento en el calcio intracelular y en la enzima fosfolipasa C (FLC). La FLC activada produce inositol trifosfato (IP3) y 1,2-diacilglicerol (DAG) del fosfolípido unido a membrana fosfatidil inositol 4,5-bifosfato. El IP3 desencadena la liberación intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  de las reservas en el retículo endoplásmico (RE), lo cual activa un número de blancos río abajo, incluyendo CamKII, calcineurina y proteína-quinasa C (PCC). Finalmente, la activación de CamKII tiene un efecto río abajo que incluye el papel antagónico contra la transcripción regulada de  $\beta$ -catenina/TCF. (Mohammed et al. 2016)

La estructura del hueso está constituida por componentes inorgánicos (69%), predominantemente hidroxapatita (99%); y por componentes orgánicos (22%), constituidos por proteínas estructurales de colágeno (90%) y no-colágeno que incluyen proteoglicanos, sialoproteínas, proteínas-gla y glicoproteínas-2HS. Los osteoblastos sintetizan y depositan los precursores del colágeno tipo 1, en capas concéntricas o paralelas para producir hueso maduro.(Brodsky and Persikov 2005)



**Figura 2. Osteogénesis y sus Componentes.**

Las células del hueso difieren en su origen, los osteoblastos y su versión madura, los osteocitos, provienen de células troncales mesenquimales, mientras que los osteoclastos proceden de células troncales hematopoyéticas. Esta figura muestra la remodelación ósea normal (a) vs. remodelación defectuosa en donde hay un aumento en la actividad osteoclástica y disminución de la actividad osteoblástica (b) presente durante enfermedades óseas. (Modificado de Kini and Nandeesh 2012).

#### 1.4 Factores biológicos involucrados en la formación normal de hueso, su regulación y modelación.

Existe una rápida formación de masa ósea en el feto e infante. Esto disminuye un poco durante la niñez hasta los once años en mujeres y aproximadamente un año después en hombres. Durante el brote de crecimiento que acompaña la adolescencia, ocurre una acelerada formación de hueso. La vasta mayoría de los niveles de masa ósea en el adulto se consiguen para la edad de 18 años, con sólo una pequeña cantidad adicionada hasta alrededor de los 28 años de edad.(Kini and Nandeesh 2012)

Los factores ambientales más importantes en influenciar la formación normal de hueso son la actividad física y la buena nutrición. Las personas afectadas en cualquiera de estos factores probablemente tendrán una densidad mineral ósea (DMO) menor que la de sus iguales sanos. Las personas con pobres niveles de actividad, junto con una nutrición deficiente durante los años de formación ósea carecerán de un crecimiento normal de los huesos, además presentarán una menor densidad ósea durante el resto de sus vidas. El consumo de tabaco durante ese periodo también disminuirá la cantidad de hueso formado. Del mismo modo, una enfermedad importante durante la adolescencia que cause reposo prolongado en cama y falta de ejercicio prevendrá la adquisición completa de densidad ósea.(Kini and Nandeesh 2012)

Dentro de los genes involucrados en el genotipo óseo, existen varias hormonas que son importantes en esta formación rápida de hueso durante las primeras dos décadas de la vida. Estas hormonas incluyen los estrógenos en mujeres, testosterona en hombres, entre otras. De igual manera existen proteínas estructurales, citocinas, receptores y mediadores en vías de señalización que intervienen en el genotipo óseo. (Ver 4.4 Genes implicados).

Por su parte, la modelación ósea es el proceso por el cual los huesos cambian su forma en respuesta a las influencias fisiológicas o fuerzas mecánicas, llevando a un ajuste gradual del esqueleto a las fuerzas que este encuentra. Los huesos pueden ensancharse o cambiar su eje al remover o añadir hueso en las superficies apropiadas por la acción independiente de los osteoblastos y osteoclastos en respuestas a las fuerzas biomecánicas. Los huesos se ensanchan normalmente con la edad, en respuesta a la aposición perióstica de hueso nuevo y la resorción endóstica de hueso viejo. La ley de Wolff establece que los huesos largos cambian de forma para acomodarse a las fuerzas a las que son sometidos. La modelación ósea es menos frecuente que la remodelación en adultos.(Kobayashi, Takahashi, and Ito 2003) La modelación puede estar aumentada en hiperparatiroidismo, osteodistrofia renal o tratamientos con agentes anabólicos.

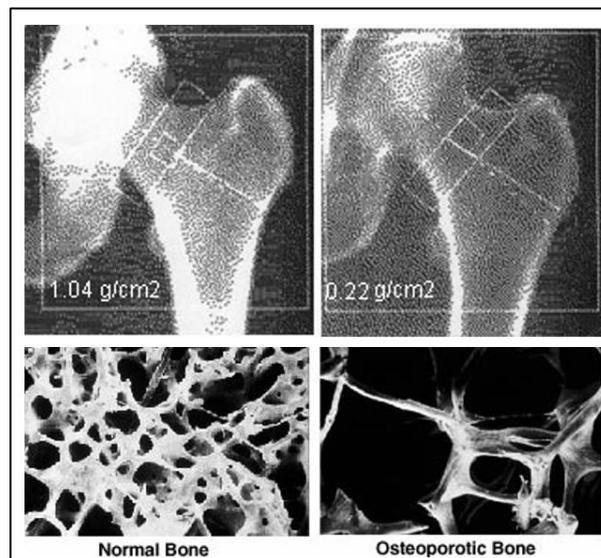
#### 1.5 Determinantes de la fuerza ósea.

La fuerza ósea depende de la masa ósea, geometría y composición, propiedades materiales y microestructura. Se estima que la masa ósea proporciona el 50 a 70% de la fuerza ósea.(Pocock, Eisman, and Hopper 1987) La geometría y composición son importantes, sin embargo, debido a que los huesos más largos son más fuertes que los huesos más pequeños, aún con densidades minerales óseas equivalentes, conforme el diámetro óseo se expande radialmente, la fuerza del hueso aumenta por el radio del hueso involucrado elevado a la cuarta potencia. La cantidad y proporción de hueso cortical y trabecular en un sitio esquelético dado afecta la fuerza del hueso de forma independiente, como en el caso del radio distal, del húmero distal y las demás regiones metafisarias de los huesos largos. Las propiedades del material óseo son importantes para la fuerza del hueso. Sin embargo, algunos pacientes con osteoporosis (OP) pueden tener una matriz ósea anormal. Por otro lado, las mutaciones en ciertas proteínas pueden cambiar el fenotipo óseo. La fuerza del hueso también puede afectarse por osteomalacia, terapia con fluoruro y estados de

hipermineralización. De igual manera, la microestructura ósea también afecta la fuerza del hueso. Por último, en algunas condiciones patológicas, el grosor y la extensión de la capa de osteoide pueden estar aumentados o disminuidos.

### 1.6 Densidad Mineral Ósea

La densidad mineral ósea se define como la cantidad de mineral óseo presente en el hueso. El concepto es masa de mineral por volumen del hueso, en relación con la densidad en términos de la física. Clínicamente se mide al calcular la densidad óptica por centímetro cuadrado de la superficie ósea en estudios de imagen. (Ver Figura 3). La medición de la densidad mineral ósea se usa como un indicador indirecto de OP y riesgo de fractura. Existe una asociación estadística inversamente proporcional entre una densidad ósea baja y una mayor probabilidad de fractura, por lo que se ha usado como el estándar de oro para detección de OP.(NIH 2018)



#### **Figura 3. La Densidad Mineral Ósea.**

Arriba: densitometrías óseas, normal (derecha) y con osteoporosis (izquierda) reportando la densidad óptica del hueso en g/cm<sup>2</sup>. Abajo: preparaciones anatómicas comparando hueso sano (derecha) con hueso osteoporótico (izquierdo) en donde se aprecia aumento del espacio entre las trabéculas óseas. (Imagen creada a partir de <https://courses.washington.edu/bonephys/opbmd.html> y <https://www.parathyroid.com/osteoporosis.htm>)

## 1.7 Pico de Masa Ósea

La cantidad y calidad de masa ósea que presenta un individuo depende de varios factores, uno de ellos es el pico de masa ósea (PMO) término que se refiere al máximo de masa ósea que alcanza un sujeto, ocurre entre los 20 y 30 años y puede variar dependiendo la interacción de factores genéticos y ambientales, como desnutrición o enfermedades graves durante la infancia que afectarán la densidad mineral ósea del adulto.(Mundy 1999) Después de alcanzar el PMO, de manera natural ocurre una pérdida progresiva de la masa ósea, esta reducción depende de la magnitud y velocidad de pérdida ósea subsecuente.(Suva et al. 2005)

## 2.0 El hueso osteoporótico

### 2.1 Definición de osteoporosis

La OP es una enfermedad sistémica con altas morbilidad y mortalidad caracterizada por deterioro de la microarquitectura ósea, densidad mineral ósea (DMO) baja y un aumento en la incidencia de fracturas de baja energía. (Osterhoff et al. 2016; NIH 2001)

En la génesis de las fracturas, es importante la densidad mineral ósea (DMO); cuando es baja y se asocia al deterioro en la microarquitectura ósea, aumenta el riesgo de que el hueso pierda su continuidad estructural con menor cantidad de energía. (Nevitt 2001; NIH 2001; Osterhoff et al. 2016) En 1994, la Organización Mundial de la Salud (OMS) proporcionó los criterios para establecer la DMO normal, baja u osteopenia y OP, cuyos puntos de corte se presentan en la Tabla 1. (“Assessment of Fracture Risk and Its Application to Screening for Postmenopausal Osteoporosis. Report of a WHO Study Group” 1994) El método más común para diagnosticar la OP es la densitometría ósea radiológica de doble energía, este representa en la actualidad el método más conveniente para determinar la DMO. (“World Health Organization. Assessment of Fracture Risk and Its Application to Screening for Postmenopausal Osteoporosis. Technical Report Series 843” 1994; Link 2016)

Normal	DMO no mayor a una desviación estándar por debajo del PMO	(T score $\geq 1$ ) *
Osteopenia	DMO que se encuentra entre 1 y 2.5 desviaciones estándar por debajo del PMO	(T score de -1 a -2.5)
Osteoporosis	DMO mayor a 2.5 desviaciones estándar por debajo del PMO	(T score $\leq -2.5$ )
Osteoporosis grave	DMO mayor a 2.5 desviaciones estándar por debajo del PMO y la presencia de una o más fracturas por fragilidad	(T score $\leq -2.5$ + una o más fracturas por fragilidad)

\* El T-score es una comparación de la DMO del paciente con la media del PMO de un grupo de personas sanas de 30 años del mismo sexo y etnia, y representa las desviaciones estándar con respecto a la media.  
\*\* El Z-score es el número de desviaciones estándar de un paciente con DMO diferente del promedio de DMO para su edad, sexo, etnia. Se utiliza en mujeres premenopáusicas, hombres debajo de los 50 años, y en niños. También sirve para establecer si el paciente tiene una DMO tan baja con respecto a su grupo etario que haga presumir alguna causa secundaria.  
DMO = Densidad mineral ósea. PMO = Pico de masa ósea.

Se estima que el promedio anual de pérdida del PMO en las mujeres posmenopáusicas es de 1-2% y de 0.2-0.5 en los varones.(Delezé De Lona, Aguirre, and Calva 1998) Se considera que cerca del 30% de las mujeres en esta etapa de la vida presentan una fase rápida de pérdida ósea (5% al año aproximadamente) durante los primeros 5 años después de la menopausia, lo cual por supuesto implica mayor riesgo de presentar fracturas osteoporóticas durante ese momento.(Matkovic, Jelic, and Wardlaw 1994; Karasik and Ferrari 2008)

## 2.2 Tipos de Osteoporosis

Existen en general dos tipos de OP, la OP primaria (también llamada posmenopáusica, idiopática o senil),(Rubin et al. 2004) sobre la que hemos estado disertando; y la OP secundaria (asociada a enfermedades endócrinas, reumáticas, medicamentos, etc).(Templeton 2005) (Ver Tabla 2).

<b>Tabla 2. Causas de Osteoporosis Secundaria</b>	
<b>Enfermedades endocrinológicas</b> A. Estados hipo gonadales Insensibilidad a los andrógenos Trastornos de la conducta alimentaria Amenorrea de las atletas Hiperprolactinemia Pan hipopituitarismo Menopausia precoz Síndromes de Turner o Klinefelter	<b>Trastornos genéticos</b> Hemocromatosis Hipofosfatasa Osteogénesis imperfecta Síndrome de Ehlers-Danlos Síndrome de Marfán Síndrome de Meakes Síndrome de Riley-Day Porfirias Enfermedades de depósito
B. Patologías endócrinas Acromegalia Insuficiencia suprarrenal Enfermedad de Cushing Diabetes mellitus tipo I Hiperparatiroidismo primario y secundario(Poole and Reeve 2005) Secreción tumoral de PTHrp Hipertiroidismo Déficits nutricionales (Calcio, vitamina D, Magnesio, etc.)	<b>Trastornos hematológicos</b> Mieloma múltiple Leucemias y linfomas Mastocitosis sistémica Anemia Perniciosa <b>Enfermedades reumáticas</b> Artritis Reumatoide Espondilitis anquilosante <b>Trasplante de órganos</b> Trasplante de médula Trasplante de riñón, hígado, corazón o pulmón

**Tabla 2. Causas de Osteoporosis Secundaria**

<b>Enfermedades gastrointestinales</b>	<b>Fármacos</b>
Enfermedad celiaca	Anticoagulantes: heparina y cumarínicos
Gastrectomía	Anticomieles
Malabsorción	Ciclosporina y Tacrolimus
Enfermedad inflamatoria intestinal	Drogas citotóxicas
Cirrosis Biliar primaria	Glucocorticoides y ACTH
Enfermedad hepática grave	Agonistas de la GnRH
Insuficiencia pancreática exocrina	Metotrexato

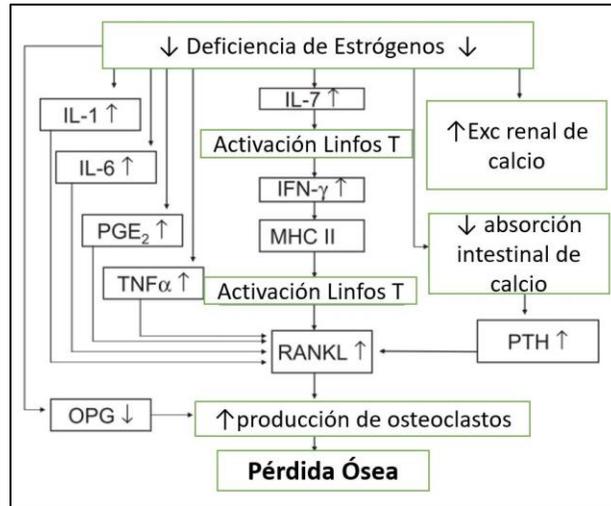
Se han identificado además, otros factores de riesgo con relación a OP entre los que se encuentran factores nutricionales(Rizzoli 2008, 2014) y pobre actividad física.(Karasik and Ferrari 2008)

Se sabe que los estrógenos pueden aumentar los niveles de osteoprotegerina, una proteína producida por los osteoblastos que inhibe la resorción, por lo que pueden jugar un papel importante en la osteoclastogénesis.(Hofbauer, Khosla, and Dunstan 1999) Alternativamente, los estrógenos pueden inhibir factores locales que alteran la formación ósea o promover factores locales que estimulan la formación ósea. Por esta razón, la deficiencia de estrógenos durante la menopausia constituye el factor patogénico más importante en la pérdida ósea asociada con la osteoporosis. La pérdida de estrógenos o andrógenos aumenta la tasa de remodelación ósea al perderse sus efectos restrictivos sobre la osteoblastogénesis y osteoclastogénesis y también causa un desbalance focal entre la resorción y formación al prolongar la vida útil de los osteoclastos y acortar la de los osteoblastos (ver Figura 4).

### 2.3 Diagnóstico de osteoporosis.

La OP puede permanecer latente e incluso agravarse durante muchos años sin producir sintomatología significativa. Una de las manifestaciones más frecuentes es el dolor óseo crónico y la pérdida de talla, datos clínicos que pueden ser atribuidos a la presencia de micro fracturas,(Lane, Rusell, and Khan 2000) que pueden producir mala alineación de la columna vertebral secundaria a la inestabilidad residual. Sin embargo, la complicación más frecuente y

peligrosa de la OP es la fractura. Una fractura por OP puede ocurrir ante traumatismos muy leves e incluso de manera espontánea (a lo que se le denomina fractura por insuficiencia). (Melton et al. 1997)



**Figura 4. Efectos de la Deficiencia Estrogénica Sobre la Pérdida Ósea.**

Tras el déficit de esta hormona se activan varios mecanismos, entre ellos la disminución de la osteoprotegerina, que tienen como último efecto el aumento de la actividad osteoclástica y, por ende, la pérdida de tejido óseo. (Modificada de: Sipos et al. 2009)

Cualquier hueso está expuesto a fracturas, sin embargo, los cuatro sitios principales de fracturas por OP son columna vertebral, cadera, radio distal y húmero proximal, produciendo importante limitación funcional. (Ver Tabla 3). (Yoo et al. 2015) Los estimados de riesgo atribuible son mayores que los sugeridos por la relación entre la DMO y el riesgo de fractura, por lo que algún componente de fragilidad ósea que conduce a fracturas es independiente a la masa ósea. (Nevitt 2001) Se ha considerado que el 25% de los afectados por fracturas de cadera mueren a consecuencia de las complicaciones y otro 25% (incluso tratados quirúrgicamente de forma temprana), no recuperan su calidad de vida. De forma similar, se ha visto una reducción en la

sobrevida de pacientes tras presentar una fractura de radio distal, así como un riesgo incrementado en presentar fracturas de cadera y columna vertebral.(Rozenal et al. 2002)

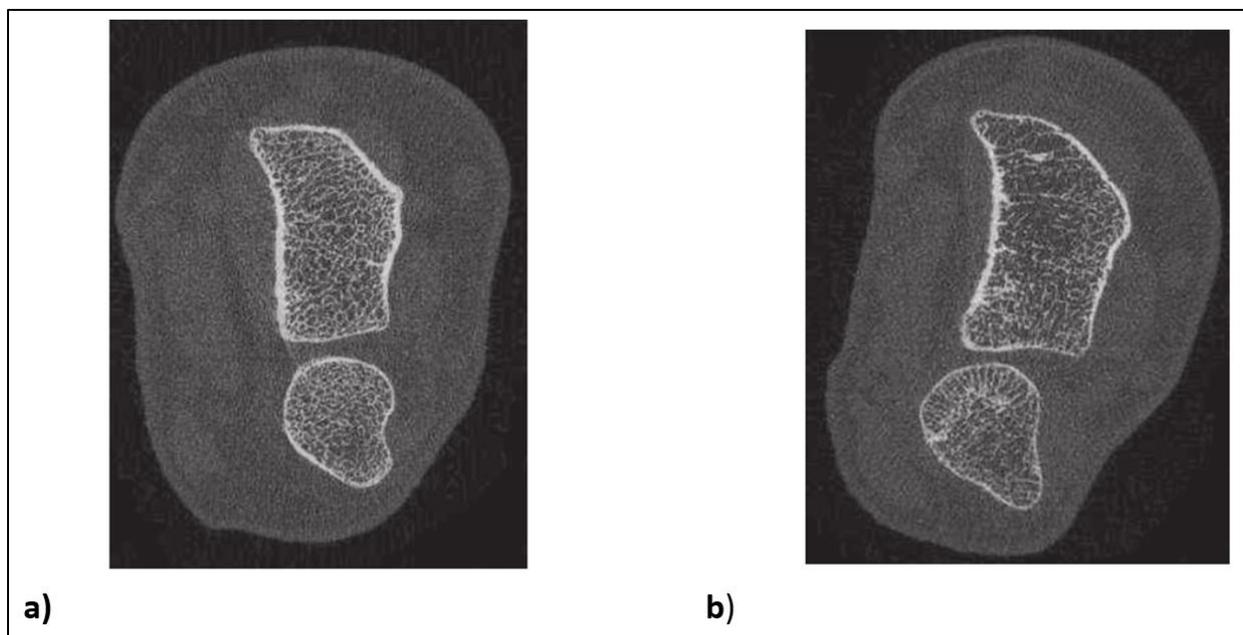
Por otra parte, los pacientes que han sufrido una o más fracturas por fragilidad sin importar el hueso afectado, muestran mayor predisposición a presentar nuevas fracturas, independientemente del valor de su densidad mineral ósea (DMO).(Lindsay and Meunier 1998; Klotzbuecher et al. 2000) Cuanto más temprana la edad a la que se produjo la primera fractura y cuanto mayor el número de fracturas previas, mayor será el riesgo de nuevas fracturas.(Elliot et al. 2004) Finalmente, Tulipán et al.(Tulipan, Jones, and Ilyas 2016) mencionan la existencia de déficits en las propiedades mecánicas durante la fase aguda de curación de una fractura. El callo formado por hueso osteoporótico tiene menos rigidez y está menos mineralizado que el formado por hueso sano.(Cheung et al. 2016)

Tabla 3. Sitios de Fracturas Osteoporóticas		
<b>Sitios principales</b>	<b>Sitios menores</b>	
– Cadera	– Pelvis	- Húmero distal
– Columna	– Sacro	- Tobillo
– <b>Radio distal</b>	– Costillas	
– Húmero proximal	– Fémur distal	

La OP se ha definido clínicamente con la medición de la DMO, un indicador ampliamente utilizado para el diagnóstico de OP y la estimación del riesgo de fractura. (Ver Tabla 1). (Duncan and Brown 2010) Sin embargo, en años recientes, se han propuesto métodos adicionales y complementarios, incluyendo la herramienta FRAX (siglas en inglés que significan *Fracture Risk Assessment Tool*, herramienta de evaluación del riesgo de fractura) (Kanis et al. 2010) y la escala de hueso trabecular (conocido por sus siglas en inglés TBS, de *Trabecular Bone Score*),(Harvey et al. 2015) ambos métodos estiman el riesgo de fractura independientemente del uso único de la DMO.

### 2.3.1 Densitometría ósea.

Existen varias técnicas disponibles para medir la densitometría ósea, sin embargo, la técnica más usada actualmente es la radioabsorciometría de doble energía (por sus siglas en inglés DEXA, de *Dual Energy Xray Absorptiometry*), siendo este el método usado con mayor frecuencia. Las mediciones por ultrasonido generalmente se realizan en el calcáneo, además con esta técnica no es posible medir sitios de fracturas osteoporóticas como cadera o columna. El ultrasonido del talón puede predecir fracturas de cadera casi tan bien como la DEXA, pero agregar una medición de ultrasonido a una DEXA existente no mejora el valor predictivo de una fractura. El ultrasonido mide la masa ósea, más no la calidad ósea. Esta técnica no se usa tan a menudo como la DEXA, sin embargo, se ha agregado a la herramienta FRAX, por lo que puede usarse para predecir el riesgo de fracturas osteoporóticas. Otra forma de medir la densidad ósea es la tomografía computada cuantitativa (por sus siglas en inglés QCT, de *Quantitative computed tomography*), aunque es raramente utilizada. La exposición a radiación es mayor que en otras técnicas, las mediciones de la QCT disminuyen más rápidamente con la edad, por lo que los valores del T score pueden estar dos unidades por debajo de las mediciones de una DEXA. Las mediciones QCT también están agregadas al FRAX y se pueden usar para estimar el riesgo de fractura. Se puede usar QCT de alta resolución periférica (HR-pQCT o *High-resolution peripheral Quantitative Computed Tomography*) en radio o tibia para estudiar en detalle los cambios en hueso cortical vs trabecular. (Sipos et al. 2009) (Ver Figura 5).



**Figura 5. Tomografía Computada Cuantitativa de Alta Resolución Periférica.**

- a) Microarquitectura ósea normal demostrada por QCT periférica de alta resolución. b) Microarquitectura ósea alterada en un paciente con osteoporosis (QCT periférica de alta resolución). (Modificada de Sipos et al. 2009).

### 2.3.2 Cuestionario FRAX.

Debido a la complejidad de la enfermedad, y a que el diagnóstico de OP puede presentarse incluso con una DMO en rangos normales, de unos años a la fecha se ha utilizado la herramienta FRAX, la cual toma en cuenta además de la disminución en la DMO, múltiples factores de riesgo como lo son la edad avanzada, el sexo femenino, peso corporal, talla, grupo étnico, historia familiar y/o personal de fracturas previas espontáneas o de baja energía, tabaquismo, uso de glucocorticoides, artritis reumatoide, OP secundaria, consumo de alcohol y menopausia precoz, en el caso de las mujeres. Con dicha herramienta se puede lograr una sensibilidad y especificidad mayor para detectar pacientes en riesgo de presentar fracturas secundarias a OP.(Kanis et al. 2010) (ver Figura 6).

### 2.3.3 Escala de Hueso Trabecular

Otro método recientemente propuesto es la escala de hueso trabecular o TBS, que se calcula en una densitometría convencional pero que informa sobre la microarquitectura trabecular. Una TBS baja se asocia consistentemente con un aumento tanto en la incidencia como en la prevalencia de fracturas, de forma parcialmente independiente tanto de los factores de riesgo clínicos como de la DMO de área en la comuna lumbar y el fémur proximal. Más recientemente la TBS ha mostrado tener un valor predictivo para fractura independiente de la probabilidad de fractura que arroja el uso del FRAX®.(Harvey et al. 2015)

The screenshot shows the FRAX Fracture Risk Assessment Tool web interface. The page is titled "FRAX® Fracture Risk Assessment Tool" and is set to "English". The main section is "Calculation Tool" with a sub-header "Please answer the questions below to calculate the ten year probability of fracture with BMD." The form includes fields for Country (Mexico), Name/ID, and a "Questionnaire" with 12 items: 1. Age (between 40 and 90 years) or Date of Birth; 2. Sex (Male/Female); 3. Weight (kg); 4. Height (cm); 5. Previous Fracture; 6. Parent Fractured Hip; 7. Current Smoking; 8. Glucocorticoids; 9. Rheumatoid arthritis; 10. Secondary osteoporosis; 11. Alcohol 3 or more units/day; 12. Femoral neck BMD (g/cm²). There are "Clear" and "Calculate" buttons. On the right, there are "Weight Conversion" (Pounds to kg) and "Height Conversion" (Inches to cm) sections, each with a "Convert" button. At the bottom right, a box shows "00274875" and "Individuals with fracture risk assessed since 1st June 2011". A "Print tool and information" button is at the bottom center.

**Figura 6. Fracture Risk Assessment Tool (FRAX).**

Presentación inicial de la página de internet de la herramienta FRAX para calcular la probabilidad de una fractura a partir de la DMO y factores de riesgo para osteoporosis. El cálculo puede individualizarse con el nombre o un identificador, además puede imprimirse para agregarse al expediente médico del paciente. (Captura de pantalla de la página web: <https://www.sheffield.ac.uk/FRAX/tool.aspx?country=24>. Tomada el 10 de marzo de 2019).

#### 2.3.4 Marcadores séricos de recambio óseo.

Los marcadores séricos de recambio óseo también han sido propuestos como predictores de FRD. En un estudio reciente (Ting et al. 2017), se compararon mujeres con y sin FRD para determinar si la deficiencia de vitamina D se asocia con la fractura, para lo que se analizaron niveles de 25(OH)D, ya que están considerados como la medición más certera para el estatus de la vitamina D. Así mismo, se recolectó hormona paratiroidea sérica (por sus siglas en inglés PTH, de *parathyroid hormone*) para identificar hiperparatiroidismo secundario asociado con deficiencia de Vitamina D. También se analizaron marcadores de formación ósea incluyendo el propéptido de colágena tipo I con extensión N-terminal (por sus siglas en inglés P1NP, de *Procollagen type I N-terminal propeptide*), fosfatasa alcalina específica para hueso (por sus siglas en inglés BSAP, de *bone-specific alkaline phosphatase*) y osteocalcina (OC). El propéptido de colágena tipo I con extensión N-terminal es cortado del polipéptido de colágena recién formado en la fase colagenosa temprana de formación ósea. La BSAP es una enzima asociada a la membrana celular presente en preosteoblastos y osteoblastos, y la OC es formada por osteoblastos maduros. De la misma manera, para evaluar la resorción ósea, se midió el telopéptido C-terminal del colágeno tipo I (por sus siglas en inglés CTX, de *serum C-polipeptide*), el cual se origina de la región no-helicoidea de la molécula del colágeno.

Los resultados mostraron que las mujeres premenopáusicas con FRD tuvieron niveles similares de 25(OH)D pero niveles aumentados de marcadores séricos de recambio óseo tanto en formación como en resorción al ser comparadas con mujeres sin fractura. Según los autores, estos marcadores séricos podrían proporcionar una útil medición clínica para riesgo futuro de fracturas por fragilidad, aún en pacientes jóvenes. Para concluir, es posible que los marcadores de recambio

óseo, particularmente OC y CTX, sean marcadores útiles de fragilidad esquelética en mujeres premenopáusicas con FRD.(Ting et al. 2017)

## 2.4 La osteoporosis en México.

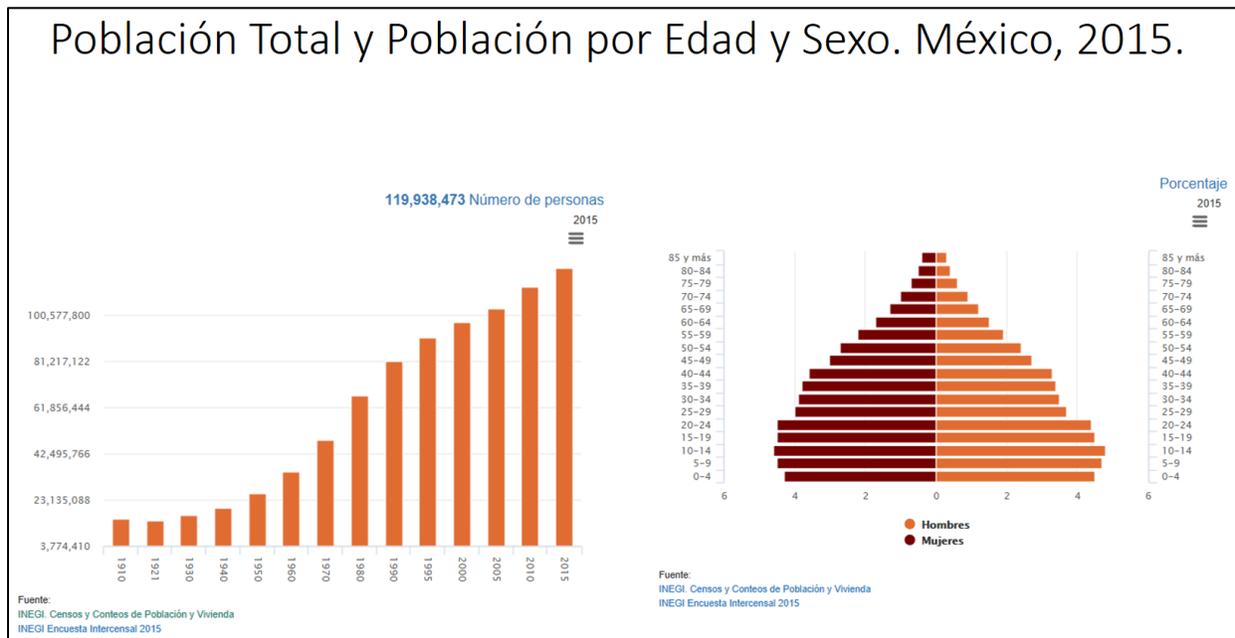
Todo lo anterior es de gran relevancia clínica ya que la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera a la OP el quinto problema de salud pública a nivel mundial, en México se estima que 3.5 millones de personas mayores de 60 años tienen OP, con una prevalencia del 18%, mientras que la prevalencia de osteopenia se calcula del 47% en mayores de 30 años. (Ver Tabla 4). (de Lago Acosta, Parada Tapia, and Somera Iturbide 2008)

Tabla 4. Prevalencia Comparativa de Alteraciones de la Densidad Mineral Ósea				
Año	Autor	Prevalencia %	Sexo	Edad
1999	Murillo Uribe	Osteopenia 57 Osteoporosis 16	Femenino	Mayores de 50 años
2001	Mendoza Romero	Osteopenia 41 Osteoporosis 16	Femenino	Mayores de 40 años
2007	De Lago Acosta	Osteopenia 47 Osteoporosis 18	Ambos sexos	Mayores de 30 años

de Lago-Acosta A, Parada-Tapia MG, Somera-Iturbide J. Ginecol Obstet Mex 2008;76(5):261-6

Es importante considerar que como consecuencia del incremento en la esperanza de vida de nuestra población y el aumento de condiciones ambientales que predisponen a este desorden es de esperarse un incremento importante de las cifras ya referidas.(“Asociación Mexicana de Metabolismo Óseo y Mineral. Consenso Mexicano de Osteoporosis” 2001) Información del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) estima una reducción de nacimientos, ensanchamiento de la gráfica en personas de edad productiva y un aumento importante en habitantes mayores de 65 años, (Figura 7) en 2015 correspondiente al 7.3% de la población (8,755,508 habitantes mayores de 65 años) y se espera que el número de mexicanos mayores de esta edad aumente a 15 millones para el año 2030 y a 28 millones para el año 2050. La esperanza

de vida para 2016 se estimó en 75.2 años, 77.8 para las mujeres y 72.6 para los hombres.(INEGI 2017a) Esta dinámica poblacional se traduce en un aumento considerable en el número de individuos afectados por enfermedades crónico degenerativas como la OP.(Delezé De Lona 1998; INEGI 2017b)



**Figura 7. Población Total y Población por Edad y Sexo. México, 2015.**

Izquierda: Gráfica que muestra la población total en los Estados Unidos Mexicanos, según los resultados arrojados en la Encuesta Nacional INEGI 2015. Derecha: Pirámide de población que muestra la distribución etaria de la población mexicana por edad y sexo en 2015. (Modificada de <https://www.inegi.org.mx>)

Varios estudios epidemiológicos han tratado de estimar prevalencia de la enfermedad y proporcionar proyecciones a corto plazo. Se estima que para el año 2050, el 37% (55 millones) de la población superará los 50 años de edad, de los que 27 millones tendrán osteopenia y 10 millones tendrán OP, más aún, el 14% de los mexicanos (20 millones) tendrá 70 años o más, en una población total de 148 millones de habitantes.

## 2.6 Diferencias poblacionales.

Sin duda, existen diferencias étnicas, de género, incluso familiares con relación a la densidad mineral ósea (DMO) e incidencia de fracturas osteoporóticas que se consideran en el FRAX. Generalmente, las mujeres muestran una DMO menor que los varones del mismo grupo étnico o racial. Las mujeres de raza blanca caucásica muestran mayor incidencia de fracturas que las mujeres hispánicas o de raza negra, en las mujeres asiáticas se han informado valores de DMO intermedios con respecto a los grupos ya señalados. Investigaciones nacionales han reportado diferencias en la DMO de las mujeres del norte, centro y sur de nuestro país. Se ha reconocido una mayor DMO en las mujeres del norte, baja DMO en mujeres del sur e intermedia en las mujeres del centro del país. Estas diferencias pueden estar dadas por condiciones ambientales y de estilo de vida y posiblemente por diferencias en la estructura genética de las poblaciones.(Suva et al. 2005; Delezé De Lona, Cons-Molina, and Villa 2000; Arzac and Tamayo 1996)

### 3.0 El radio distal fracturado

#### 3.1 Definición de fractura.

Una fractura se define como la pérdida de continuidad de tejido óseo provocada por una sobrecarga única o múltiple que vence la arquitectura ósea. Se producen además considerables lesiones de los tejidos blandos debido a la rotura ósea y a un efecto de implosión. La falta de continuidad del tejido esquelético provoca una movilidad patológica y la pérdida de la función de soporte del hueso, que producen finalmente dolor. (Keita and Perren 2007)

#### 3.2 Definición de fractura por fragilidad.

Según su mecanismo de lesión, pueden clasificarse como fracturas de baja energía, típicas en pacientes con OP, que requieren que el hueso se encuentre insuficiente o frágil y no pueda llevar adecuadamente su función fisiológica de sostén; y de alta energía, típica de pacientes jóvenes, en las que el hueso se encuentra fisiológicamente sano, y que al producirse es más frecuente que se acompañen de otras lesiones (Yoo et al. 2015) y el daño a los tejidos blandos sea más extenso.

Las fracturas por fragilidad que resultan de eventos traumáticos de baja energía tales como caídas de la propia altura o contusiones menores, están asociadas con OP y son muy comunes en pacientes adultos mayores, especialmente mujeres. (Patel and Rozental 2014; Johnell and Kannis 2005) El riesgo de presentarse una fractura en pacientes ancianos se debe a la disminución de la DMO, fragilidad esquelética y la propensión a caídas. Los huesos ancianos son más débiles, ya que independientemente de la disminución de su masa ósea, hay pérdida de hueso esponjoso, con adelgazamiento, reducción en el número y conectividad de placas trabeculares que comprometen radio distal, cadera y vértebras principalmente. (Nevitt 2001) Como se explicará a detalle en el

capítulo 4, existen pruebas contundentes de herencia familiar de fragilidad ósea, con la subsecuente susceptibilidad a fracturas sin que se presenten alteraciones de la DMO.(Ferrari 2008)

Por último, se han encontrado defectos en las propiedades mecánicas del hueso durante la fase aguda de consolidación de una fractura.(Tulipan, Jones, and Ilyas 2015) El callo óseo formado por hueso osteoporótico tiene menor rigidez y está menos mineralizado que el formado por hueso normal.(Cheung et al. 2016) Esta puede ser una de las razones para la inestabilidad tras una fractura de radio distal, más aún cuando la edad es el principal factor pronóstico de inestabilidad.(Lafontaine, Hardy, and Delince 1989; Nesbitt, Failla, and Les 2004) A mayor edad disminuye la calidad ósea, se invierte la relación hueso cortical-hueso esponjoso en la región metafisaria y la velocidad de las vías moleculares regulatorias disminuye.(MacKenney, McQueen, and R 2006),(Ralston and Crombrughe 2006)

### 3.3 Definición anatómica del radio y cúbito distales.

Para clasificar, describir y tratar adecuadamente las fracturas, la Fundación AO (*Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen*, del alemán para Asociación para el Estudio de la Fijación Interna) divide los huesos largos en dos regiones articulares que comprenden la metáfisis y la epífisis, y están definidas por el cuadrado de *Urs Heim*; y en una región diafisaria. (Kreder et al. 1996) La región correspondiente al radio distal, o muñeca, se codifica como 23, el número 2 por ser antebrazo, el 3 por ser la región metafisoepifisaria distal de radio y cúbito, y finalmente una r o u dependiendo del hueso afectado (ver Figura 8). Es por esto por lo que a las fracturas de esta zona también a menudo se les conoce como fracturas de antebrazo distal en los estudios genéticos. Para fines de esta tesis las fracturas del extremo distal del antebrazo, incluyendo las asociadas a fracturas del cúbito las seguiremos denominando fracturas de radio distal (FRD). (Kellam et al. 2018)



**Figura 8. Cuadrado de Urs Heim Definiendo los Segmentos Distales del Radio y Cúbito.**

(Kellam JF, Meinberg E, Agel J, et al. Fracture and Dislocation Classification Compendium—2018, Journal of Orthopaedic Trauma. Volume 32: Number 1; Supplement, January 2018.)

### 3.4 La encrucijada en las fracturas de radio distal de baja energía.

Como se puede apreciar hasta el momento e iremos ahondando en lo siguiente, las FDR son de suma importancia para la salud pública por sus implicaciones directas e indirectas en enfermedades metabólicas, endócrinas y óseas. Por los costos de diagnóstico y tratamiento médico y quirúrgico, así como por la discapacidad que puede resultar tras una lesión de esta región del cuerpo humano. Por último, su presentación puede alertar la presencia de osteoporosis, además del riesgo de fracturas más graves.

#### 3.4.1 Fractura de radio distal.

En una de las primeras publicaciones sobre esta condición, el cirujano escocés A. Colles describe que el 90% de las fracturas de radio distal generaba secuelas, (Colles 1970) es por esta razón por la que a través del tiempo diversos métodos de tratamiento conservador y quirúrgico se han descrito. Actualmente, la tendencia a tratar de forma quirúrgica estas fracturas está encaminada a disminuir las secuelas y complicaciones provocadas en buena parte por la debilidad estructural del

hueso y sus complicaciones clínicas.(Mudgal and Jupiter 2008; Patel and Rozental 2014; Rozental et al. 2002)

Como es de suponerse, las fracturas de radio distal son más comunes entre individuos con osteoporosis relativamente más activos, con un mayor nivel funcional y mayores demandas en términos de resultados.(Mudgal and Jupiter 2008) Por esto requieren un tratamiento integral que desde el punto de vista quirúrgico restaure la anatomía, promueva la recuperación funcional y evite complicaciones relacionadas con la inmovilización prolongada. Los implantes de estabilidad angular están diseñados especialmente para hueso con una densidad mineral baja y microarquitectura alterada, características preponderantes en la osteoporosis. Y desde el punto de vista clínico, mejore la calidad ósea y prevenga nuevas fracturas.

Las fracturas que ocurren en hueso osteoporótico se caracterizan generalmente por inestabilidad posterior a estas, relacionada a la fragmentación del hueso o a la fragilidad del mismo, como es el caso de las fracturas que ocurren en el radio distal.(Augat and Goldhahn 2016) Incluso para muchos autores la sola presencia de OP en el extremo distal del radio se considera un signo radiológico indicador de inestabilidad.(Kettler et al. 2008; Osterhoff et al. 2016) Los criterios de inestabilidad utilizados en la actualidad para este tipo de fracturas fueron descritos por Lafontaine et al.,(Lafontaine, Hardy, and Delince 1989) y son: 1) conminución dorsal extensa, 2) acortamiento axial del radio 5 a 10 mm, 3) angulación dorsal del fragmento distal del radio mayor a 20°, 4) fractura intra-articular radiocarpal o radiocubital, 5) fractura cubital asociada y 6) edad mayor a 60 años; cuando se cumplen tres criterios o más el tratamiento de la fractura debe de ser quirúrgico. En estudios publicados por Nesbitt et al.(Nesbitt, Failla, and Les 2004) y MacKenney et al.(MacKenney, McQueen, and R 2006) se ha relacionado la edad como el factor pronóstico de inestabilidad más importante, esto es de suma importancia ya que la calidad de hueso va

disminuyendo con la edad, no sólo en cuanto a la DMO, sino también con relación a la microarquitectura, la relación hueso esponjoso-hueso cortical a nivel metafisario y a los procesos biológicos encargados de su regulación, todos ellos sometidos a control genético.(NIH 2001)

### 3.4.2 Epidemiología.

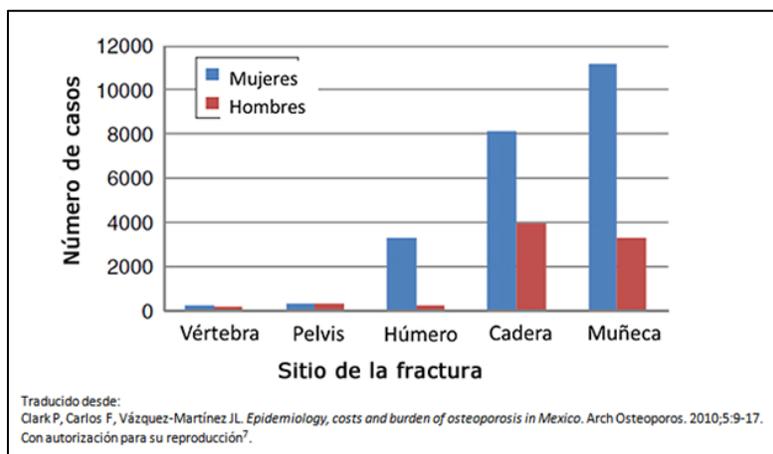
De los sitios más comunes de fracturas por insuficiencia, el radio distal es el más frecuente. (ver Figura 9). (Yoo et al. 2015; Díez Garcia et al. 2013; Espinosa Gutiérrez 2012; Clark, Carlos, and Martínez 2010). Estudios epidemiológicos han demostrado que la incidencia aumenta en el grupo de mujeres perimenopáusicas entre los 49 y 69 años.(Falch 1983) El aumento en la esperanza de vida en la población mexicana ha contribuido a un aumento significativo en la incidencia de FRD.[(Carlos et al. 2013)] De acuerdo con Carlos y *col.*, el número de fracturas de antebrazo en México durante el 2010 fue de 34,177 casos, más del doble comparado con las fracturas de cadera o columna vertebral en el mismo periodo de tiempo. El costo estimado por caso fue de \$433 USD (\$8,073.85 MXN),<sup>1</sup> y se espera que sea tan alto como \$614 USD (\$11,448.83 MXN) en 2020.(Carlos et al. 2013)<sup>2</sup> Más aún, la incidencia de fracturas de radio distal (FRD) ha ido en aumento en mujeres entre los 49 y 69 años de edad (Padegimas and Ilyas 2015; Øyen, Diamantopoulos, and Haugeberg 2014; Falch 1983) y son un factor de riesgo importante para fracturas futuras y más graves, incluyendo fracturas vertebrales y de cadera.(Bogoch et al. 2008; Rozental et al. 2002; Klotzbuecher et al. 2000) Los riesgos relativos reportados tras una FRD inicial varían de 1.4 a 2.7 para fracturas de cadera y de 3.3 a 10.7 para fracturas vertebrales. (Klotzbuecher et al. 2000)

---

<sup>1</sup> Tipo de cambio \$18.64 MXN por \$1.00 USD, consultado en-línea el 31 de julio de 2018.  
<https://finance.yahoo.com/currency-converter/>

<sup>2</sup> Idem.

En el Instituto Nacional de Rehabilitación, para el año 2012 se trataban anualmente de forma quirúrgica 164 fracturas de radio distal. Mientras que el Instituto Mexicano del Seguro Social reportó que durante el año 2005 se trataron más de 10,000 fracturas de radio distal en sus servicios de urgencias.



**Figura 9. Fracturas por insuficiencia en México, reportadas por el IMSS en 2005.**

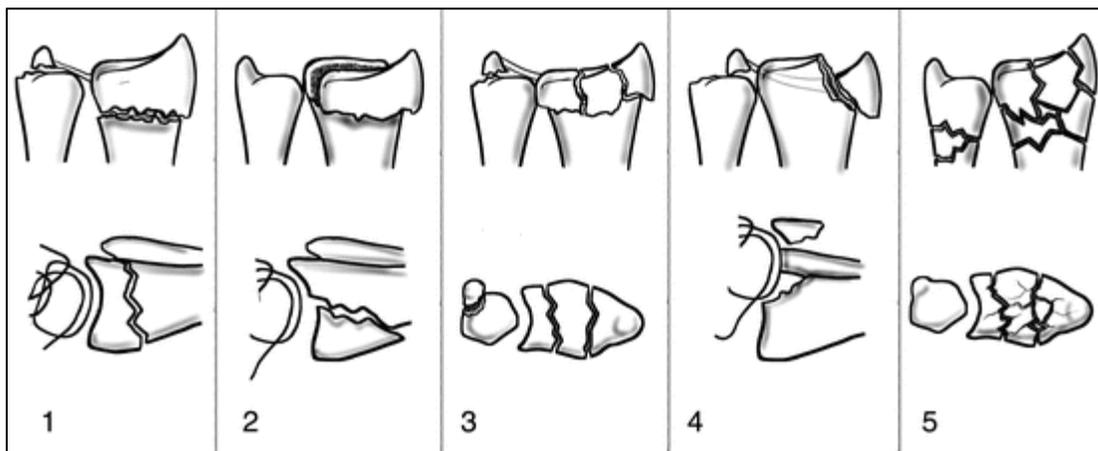
Grafica que muestra el panorama de fracturas osteoporóticas en hombres y mujeres mayores de 50 años, tomado del servicio de urgencias del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) en el periodo comprendido de enero a diciembre del 2005. (División de informática, IMSS). (Clark, Carlos, and Martínez 2010)

### 3.4.3 Clasificaciones

Existen múltiples clasificaciones para clasificar las fracturas del extremo distal del radio, en el apartado 3.3 se menciona brevemente la definición del radio y cúbito distales propia de la clasificación AO. La clasificación utilizada para este trabajo es la de Fernández, la cual clasifica las fracturas de radio distal en adultos de acuerdo con el mecanismo de lesión (ver Figura 10).

La fractura tipo 1 es la más común en fracturas de baja energía, usualmente provocadas tras una caída de la propia altura con extensión o flexión forzadas de la muñeca y carga axial. Una fractura tipo 3, se puede presentar en hueso osteoporótico, cuando tras la caída en lugar de hiperextensión de la metáfisis hay una compresión directa de la superficie articular del radio por los huesos del

carpo. Según Fernández, únicamente estos dos tipos en su clasificación son las que pueden ser estables y ser tratadas de forma no quirúrgica; sin embargo, su clasificación no toma en cuenta la presencia de osteoporosis.



**Figura 10. Clasificación de Fernández para Fracturas del Radio Distal en Adultos.**

Tipo I: fractura por inflexión de la metáfisis, Tipo II: fractura por cizallamiento de la superficie articular, Tipo III: fractura por compresión de la superficie articular, Tipo IV: fractura por avulsión, fractura-luxación radiocarpiana, Tipo V: Fracturas combinadas (I-II-III-IV) o fracturas por alta energía. (Tomado de: Kanakaris N.K., Lasanianos N.G. (2015) Distal Radial Fractures. In: Lasanianos N., Kanakaris N., Giannoudis P. (eds) Trauma and Orthopaedic Classifications. Springer, London.).

#### 3.4.4 Tratamiento

Tomando en cuenta que las fracturas por insuficiencia son la manifestación clínica de una enfermedad de base que ha sido generalmente silente hasta el momento de la falla del hueso, el tratamiento debe de ser integral e incluir asesoramiento, intervenciones nutricionales, sobre el estilo de vida, prescripción farmacológica para tratar la enfermedad y prevenir más fracturas. Así como el tratamiento *per se* de la fractura para evitar deformidades y otras complicaciones por falta de tratamiento o un tratamiento inadecuado, para mejorar el pronóstico funcional y reincorporar al paciente a sus actividades previas a la fractura lo más pronto y lo mejor posible.

El problema de la fijación de las fracturas en el hueso osteoporótico ha sido tradicionalmente la interfase entre el implante y el hueso. Esta interfase usualmente se da con el uso de clavos o tornillos que necesitan anclarse a un hueso que es, o incapaz de sujetar el implante o que permite el aflojamiento temprano.(Tejwani and Guerado 2011)

#### 3.4.4.1 *Tratamiento quirúrgico*

A lo largo de los últimos 25 años, se han perfeccionado las técnicas y aparatos de fijaciones interna y externa para el tratamiento de las fracturas desplazadas del radio distal. De especial mención son las placas e implantes de fijación interna de bajo perfil; la reducción asistida por artroscopia y técnicas de injerto óseo, incluyendo sustitutos de hueso, todos han contribuido a mejorar la estabilidad de la fractura y el resultado.(Simic and Weiland 2003)

Los efectos nocivos de la inmovilización prolongada sobre el cartílago articular y las estructuras de los tejidos blandos que lo rodean han sido demostrados tanto clínica como experimentalmente. Por lo tanto, además de conseguir una reducción anatómica, establecer una fijación estable debe ser un objetivo para permitir movilidad y rehabilitación tempranas. Por lo tanto, puede alcanzarse un balance entre conseguir una reducción anatómica, asegurar una fijación estable, minimizar la disrupción de los tejidos blandos y permitir una rehabilitación temprana con el conocimiento y la aplicación de tecnologías y técnicas actuales.

Aunque tradicionalmente las fracturas de radio distal se han tratado con un aparato circular de yeso o fibra de vidrio, este manejo se ha ido revisando y cambiando ya que los pacientes viven por más tiempo y de forma más activa.(Gehrmann, Windolf, and Kaufmann 2008) Además, una DMO baja llevará a inestabilidad de la fractura de radio distal demostrando un 50% de riesgo de desplazamiento secundario después de la reducción cerrada y colocación de aparato circular,

además este riesgo de desplazamiento va aumentando conforme aumenta la edad del paciente.(Nesbitt, Failla, and Les 2004)

El radio se fractura con mayor desplazamiento y acortamiento en pacientes osteoporóticos que sin osteoporosis, aun cuando se haya aplicado la misma fuerza.(Oshige et al. 2007; Sakai et al. 2008) Tras varios estudios se ha concluido que se debe evitar el uso de clavillos intrafocales en pacientes mayores de 60 años que presenten una varianza ulnar >5mm y una DMO -2.5 DS, en su lugar recomiendan el uso de una placa de estabilidad angular, que se ha relacionado con mejores resultados funcionales. Las placas bloqueadas permiten una mejor estabilidad en pacientes osteoporóticos, esto a su vez ayuda a disminuir el tiempo de inmovilización y promover una movilidad temprana, reduciendo la tasa de complicaciones.(Kandemir et al. 2008)

Sin embargo, para que el sistema sea exitoso requiere una planificación preoperatoria cuidadosa, consideración de los principios biomecánicos, el uso apropiado de la placa y los tornillos del sistema y una buena técnica quirúrgica.

Lo anterior recalca que la mayoría de las complicaciones en el tratamiento de las fracturas de radio distal con placas de estabilidad angular se deben a impericia o desconocimiento de los principios biomecánicos tanto del hueso osteoporótico como de los implantes, así como a una técnica quirúrgica inadecuada.

#### 3.4.4.2 *Injerto óseo*

*Injerto óseo.* Las fracturas de radio distal tanto extra- como intra-articulares presentan a menudo una importante conminución cortical y pérdida de hueso esponjoso en la región metafisaria. Durante el proceso de curación de la fractura, el colapso de los fragmentos distales de los defectos esponjosos en las regiones metafisaria y subcondral llevarán a un desplazamiento secundario y pérdida de la reducción. Como ha sido descrito con varias técnicas de fijación, la colocación de

injerto óseo proporciona un soporte mecánico interno, acelera la consolidación ósea y provee potencial osteoinductor y osteoconductor al hueso remanente parcialmente desvitalizado.(Simic and Weiland 2003) El uso de placas de estabilidad angular proporciona tal estabilidad que generalmente no es necesario el uso de aumento con injertos óseos.(Gehrmann, Windolf, and Kaufmann 2008)

#### 3.4.4.3 *Cemento óseo*

En algunas fracturas de radio distal se presenta un vacío metafisario, especialmente en ancianos y/o pacientes osteoporóticos. En estos casos se ha reportado que el uso de injerto óseo y de sustitutos óseos es benéfico para mantener la reducción metafisaria. El cemento óseo es un compuesto inorgánico que imita a la fase mineral ósea, pero al ser inerte tiene pobre potencial de remodelación y de sustitución por hueso sano.

Al momento de indicar el tratamiento integral de un paciente con una fractura de radio distal por fragilidad, considerando que pueden presentarse más adelante fracturas en otros elementos del esqueleto axial y apendicular, no deben retrasarse la evaluación y el tratamiento adecuados para osteoporosis, en términos de prevención secundaria.(Arora et al. 2008)

#### 3.4.4.4 *Suplementos de calcio y vitamina D.*

Existen estudios recientes que han mostrado preocupación acerca de un aumento en el riesgo cardiovascular con el uso de suplementos de calcio, pero los hallazgos han sido inconsistentes y no concluyentes. Los requerimientos de calcio en mujeres mayores de 50 años y hombres mayores de 70 aumentan a 1200mg por día, teniendo cuidado de no exceder los 2500mg al día. La falta de un consumo adecuado de calcio de calcio, especialmente en personas mayores de 70 años se asocia con un aumento en la pérdida ósea y en el riesgo de fractura. La vía preferida para asegurar un consumo adecuado de calcio es el consumo de alimentos ricos en calcio, y los suplementos deben

considerarse cuando la ingesta de la dieta no sea adecuada. El uso de calcio suplementario por lo general se acompaña de pocos efectos secundarios, aunque son comunes la constipación y la distensión abdominal; la nefrolitiasis es una complicación que ocurre infrecuentemente.(Bauer 2013) Así mismo, la suplementación con vitamina D debe realizarse con cautela y estricta vigilancia, ya que la hipervitaminosis D puede producir aumento en la resorción ósea y por lo tanto disminución en la densidad mineral del hueso.

#### *3.4.4.5 Tratamiento y prevención farmacológicos.*

La prevención farmacológica ha progresado de forma sustancial en los últimos años. Han sido introducidos nuevos bifosfonatos con intervalos de dosis más largos y nuevos moduladores selectivos del receptor de estrógenos con pocos efectos adversos no esqueléticos para superar los fracasos terapéuticos previos. Sin embargo, las terapias existentes tienen ciertas limitaciones que incluyen temas de eficacia y seguridad a largo plazo. Los avances en biología molecular y celular han revelado nuevos blancos terapéuticos.(Palaniswamy et al. 2010) Los agentes antiresortivos han dominado la terapéutica para osteoporosis durante muchos años, pero su eficacia antifractura es menor que la deseable. La evidencia disponible sugiere que pueden reducir el riesgo de fractura sólo alrededor del 50% y, en su mejor resultado, mejorar la DMO alrededor de un 10%.(Cranney et al. 2002) Más aún, todos estos fármacos deben administrarse a largo plazo. La terapia con estrógenos/progestina tiene muchas consecuencias adversas no esqueléticas, incluyendo eventos vasculares y carcinoma mamario.(Cauley et al. 2003) Recientemente, han ganado atención fracturas atípicas ocurridas en pacientes con tratamiento a largo plazo con bifosfonatos, siendo la explicación más plausible la supresión del recambio óseo. Los nuevos fármacos para el tratamiento de la osteoporosis se clasifican como antiresortivos [inhibidores de la vía de señal de RANK (denosumab), inhibidores de la Catepsina K (odanacatib, balicatib y relacatib), antagonistas de

$\alpha$ 5 $\beta$ 3 integrina (L-000845704)] o anabólicos [Teriparatida, Ranelato de estroncio y anticuerpos monoclonales a la esclerostina].(Palaniswamy et al. 2010)

#### 3.4.4.6 *Bifosfonatos en fracturas de radio distal.*

Se ha estudiado el comportamiento de algunos bifosfonatos en el proceso de consolidación ósea en el radio distal, ya que, debido a su mecanismo de acción se les ha asociado con un aumento en los tiempos clínico y radiológico de consolidación ósea. En un estudio (Rozental et al. 2009) se compararon las tasas de unión de fracturas de radio distal en pacientes en tratamiento con bifosfonatos al momento de la lesión con las tasas de aquellos sin tratamiento antiresortivo. El uso de bifosfonatos se asoció con un aumento en los tiempos de consolidación cuando se realizó un control individual para edad, género, complejidad de la fractura o comorbilidades. El uso de bifosfonatos también se asoció con mayor tiempo de consolidación después de ajustarse para edad, género y tipo de tratamiento. La fijación quirúrgica se asoció con un mayor tiempo de consolidación después de ajustarse para uso de bifosfonatos. Debido a que la diferencia de tasas de consolidación fue menor a una semana no se consideraron clínicamente significativos.

En un estudio prospectivo multicéntrico (Uchiyama et al. 2013) se concluyó que la administración temprana de alendronato tras el tratamiento quirúrgico de las fracturas de radio distal no retrasa los tiempos de consolidación ni clínica, ni radiológicamente.

#### 3.4.5 Rehabilitación

La mayoría de las fracturas de radio distal son tratadas de forma conservadora. Este tratamiento incluye la reducción cerrada y la inmovilización con yeso, fibra de vidrio u otro tipo de ortesis durante seis a ocho semanas. El tratamiento quirúrgico normalmente involucra la reducción de los fragmentos y su fijación percutánea o abierta con clavillos, fijadores, tornillos y/o placas, tratamientos que requerirán tiempos de inmovilización menores o similares, de acuerdo con la

preferencia del cirujano y el tipo de estabilidad conseguida tras la cirugía.(Farias-Cisneros et al. 2010) Sin embargo, muchas veces no se cumple uno de los objetivos principales del tratamiento que es la movilización precoz. La guía de práctica clínica sobre rehabilitación de las fracturas distales del radio, publicada en 2013 por el Consejo de Salubridad General en México,(CENETEC 2013) recomienda las intervenciones de rehabilitación durante la inmovilización, posterior a la inmovilización y las modalidades de terapia física que pueden utilizarse. Esto sin importar que el tratamiento ortopédico haya sido conservador o quirúrgico. Las intervenciones que deben hacerse por el equipo de rehabilitación incluyen la educación del paciente que en donde haya instrucciones que le permitan participar en el proceso de recuperación, la educación cruzada que involucra el uso de la extremidad contralateral sana, el uso de férula de muñequeras dinámicas, la aplicación local de hielo, el uso de vendajes anti-edema cíclicos o intermitentes, así como la movilización de las articulaciones de toda la extremidad en dos modalidades: activa y pasiva. El consenso general sobre el inicio de la rehabilitación es que el pronóstico mejora si se realizan intervenciones dentro de los primeros tres o cuatro días de instaurado el tratamiento, haya sido este conservador o quirúrgico, en las que se otorgue al paciente un programa de casa que incluya material escrito con actividades programadas con un incremento gradual de la resistencia y complejidad de movimientos. En aquellos pacientes con riesgo de desarrollar complicaciones se recomienda incorporarlos a un programa de rehabilitación dirigido y supervisado.

Sin embargo, tras una revisión sistemática de Cochrane se dejó de manifiesto la insuficiente evidencia científica de 26 estudios controlados aleatorizados sobre el tratamiento de rehabilitación en fracturas de radio distal en pacientes adultos. Ninguna de las modalidades de intervención pudo demostrar su eficacia relativa en adultos con fracturas de radio distal.(Handoll and Elliott 2015)

Aparentemente las intervenciones de rehabilitación o terapia ocupacional tienen un efecto modesto al compararse con ejercicios en casa no supervisados.

#### 3.4.6 Resultados funcionales

De acuerdo con diversas publicaciones los factores que influyen en el resultado funcional son el tipo de actividad laboral y el tiempo de demora quirúrgica, más que la gravedad de la fractura inicial o el tipo de tratamiento empleado. (Farias-Cisneros et al. 2010; Oshige et al. 2007) Supuestamente, trabajadores autónomos como amas de casa o empleados independientes, presentan mejores resultados funcionales que aquellos con otras actividades laborales. Algunas explicaciones a esto son que estos pacientes se involucran de forma más activa en su rehabilitación y la ausencia de ganancias secundarias. De acuerdo con un estudio realizado en Castellón, España sobre fracturas inestables que requieren tratamiento quirúrgico, la demora en la cirugía influye negativamente en el resultado, ya que por cada día de retraso la probabilidad de alcanzar un resultado funcional excelente disminuye un 20%. (Lax-Pérez et al. 2008) El proceso clínico de toma de decisiones en pacientes adultos mayores es diferente que en pacientes jóvenes y deben de tomarse en cuenta factores como calidad ósea, involucro articular, ocupación, nivel de actividad, lesiones actuales o previas y tipo de fractura. El tratamiento con fijación interna como la colocación de placas volares permite la movilización temprano y reduce el potencial de desplazamiento de la fractura durante periodos prolongados de inmovilización con yeso tras una reducción cerrada. Sin embargo, existen otras opciones disponibles que pueden ser utilizadas basadas en el tipo de fractura, las condiciones generales del paciente entre otros factores. (Ikpeze et al. 2016)

## 4.0 Aspectos Genéticos de la Osteoporosis

### 4.1 Factores genéticos de la enfermedad

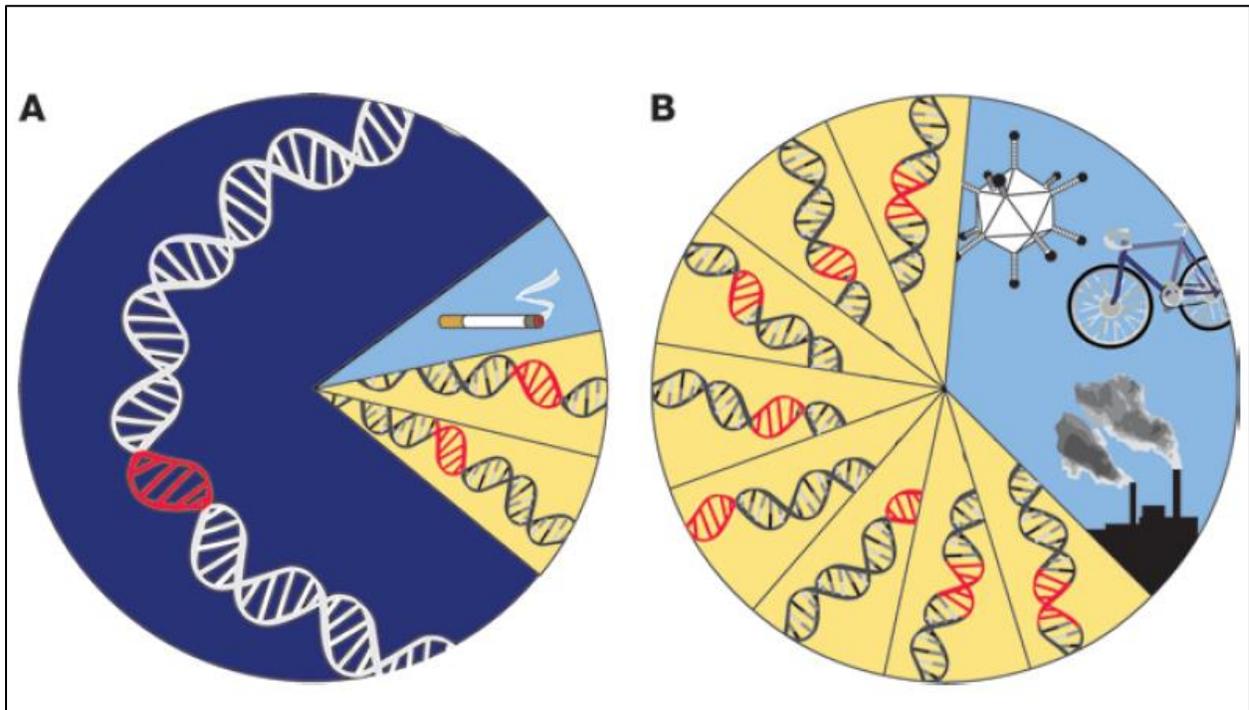
**L**a OP es una enfermedad multifactorial y poligénica que resulta de la interacción de genes y factores ambientales.(Khoury 1998) Reportes previos han demostrado que los factores genéticos intervienen en un 50-80% de la variabilidad total en DMO.(Ferrari 2008)

En los últimos años numerosas investigaciones han demostrado que los factores genéticos juegan un papel importante en la regulación de la DMO, propiedades estructurales del hueso, en el recambio óseo y en otros aspectos del metabolismo óseo, contribuyendo de manera importante en la patogénesis de la fractura de radio distal.(Stewart and Ralston 2000) En la mayoría de los casos la OP es causada por el efecto combinado de alteraciones en diferentes genes y su interacción con influencias del medio ambiente. Múltiples y variadas investigaciones internacionales estiman que la heredabilidad de la DMO de columna y cadera oscila entre 70-85%(Ferrari 2008) y en muñeca es del 50-60%.(Arden et al. 1996) Otros determinantes óseos, con evidente componente hereditario son la geometría y la longitud del cuello femoral, las propiedades ultrasonográficas del hueso (que traduce el grado de interconectividad trabecular) y la velocidad de remodelado óseo.(Guéguen et al. 1995) Por otra parte la historia familiar de fracturas en cadera ha mostrado ser consistentemente un factor de riesgo, independiente a la DMO y estudios en gemelos estiman que la heredabilidad de las fracturas por sí misma oscila entre 25-35%.(Guéguen et al. 1995)

### 4.2 Enfermedad monogénica vs poligénica.

La mayoría de las enfermedades comunes están causadas por la interacción de genes y ambiente, en donde la exposición a condiciones ambientales adversas actúa en un individuo genéticamente susceptible para producir una enfermedad. A diferencia de las enfermedades mendelianas como la

anemia de células falciformes y la fibrosis quística, en las que las alteraciones de un solo gen explican todas o casi todas las apariciones de la enfermedad, los genes subyacentes a enfermedades comunes son probablemente múltiples, cada uno con un efecto relativamente pequeño, pero que al actuar en concierto con influencias ambientales para llevar a una enfermedad clínica. (Ver Figura 11)



**Figura 11. Enfermedad Monogénica vs Poligénica.**

**A)** Enfermedad monogénica. Un solo gen es el principal determinante de la enfermedad o rasgo monogénico, responsable por la mayoría del riesgo de enfermedad o variación del rasgo (azul marino), con posibles contribuciones menores de los genes modificadores (amarillo) o ambiente (azul claro). **B)** Enfermedad compleja. Muchas variantes de pequeño efecto (sectores amarillos) contribuyen al riesgo de enfermedad o variación del rasgo, junto con muchos factores ambientales (sector azul). (Manolio, Brooks, and Collins 2008)

### 4.3 Heredabilidad

La heredabilidad ( $h^2$ ) es una medida estadística utilizada para estimar el grado de variabilidad de un rasgo fenotípico debido a la variación genética del individuo y se expresa en porcentaje. Los

estimados de la heredabilidad pueden variar entre cero y uno. Una heredabilidad cercana a cero indica que casi toda la variabilidad en un rasgo entre la gente es debida a factores ambientales, con poca influencia de las diferencias genéticas. Por su parte, una heredabilidad cercana a uno indica que casi toda la variabilidad en un rasgo proviene de diferencias genéticas, pero con muy poca contribución de factores ambientales. La heredabilidad cercana al 50%, sugiere que la variabilidad de la enfermedad o el rasgo se debe a una combinación de factores genéticos y ambientales. (Tenesa and Haley 2013)

Se sabe que factores tanto genéticos como ambientales influyen la DMO y, por lo tanto, tienen un impacto en la aparición de FRD. (Ver Tabla 5) Basados en estudios de gemelos, la heredabilidad de la DMO en el antebrazo es del 46% y en el radio distal se ha estimado tan alta como 61%. (Arden et al. 1996)

Tabla 5. Heredabilidad ( $h^2$ ) de los Fenotipos Relacionados con Osteoporosis	
Fenotipo	Heredabilidad ( $h^2$ , %)
Densidad mineral ósea	50-80%
Geometría de la cadera	70-85%
Recambio óseo (marcadores bioquímicos)	40-70%
Microarquitectura ósea	50-60% <sup>a</sup>
Fractura	25-48% <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Datos preliminares en radio distal  
<sup>b</sup> 68% máximo encontrado en un subgrupo de hombres jóvenes

#### 4.4 Genes implicados

La cantidad de genes implicados de diferentes maneras en el fenotipo óseo es importante, algunos de los más estudiados son los genes *COL1A1*, *COL1A2*, *ESR1*, *ESR2*, *CT*, *VDR*, *IL1*, *IL4*, *IL11*,

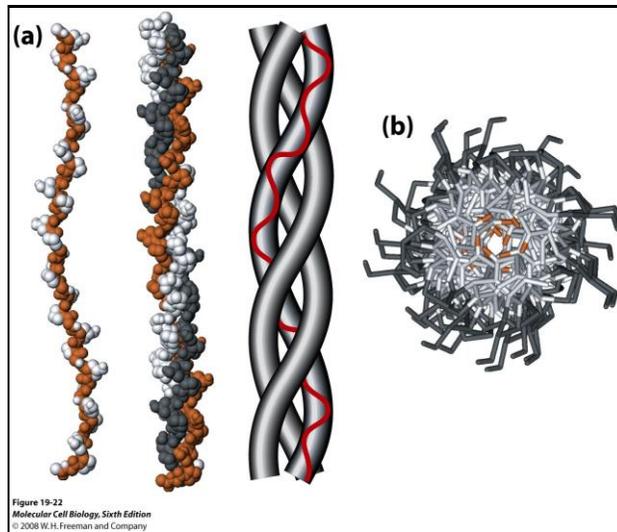
*IL6, LRP5, TGF-beta, APOE, PTH, CALCAR*, etc.(Valdés-Flores et al. 2012; Gomez et al. 2007; Magaña et al. 2006; Richards et al. 2009) (Ver Tabla 6). Todos estos genes codifican para proteínas que de alguna u otra forma repercuten sobre el fenotipo óseo.

Tabla 6. Genes Relacionados con el Fenotipo Óseo, su Localización Cromosómica y sus Productos			
Gen	Nombre alternativo	Localización	Producto
Hormonas y sus receptores			
<i>ESR<math>\alpha</math></i>	<i>ESR1</i>	6q25	Receptor de estrógenos alfa
<i>ESR<math>\beta</math></i>	<i>ESR2</i>	14q22	Receptor de estrógenos beta
<i>AR</i>	<i>DHTR</i>	Xq11	Receptor de andrógenos
<i>VDR</i>	.	12q12	Receptor de vitamina D
<i>PTH</i>	.	11p15	Paratohormona
<i>PTHR1</i>	.	3p22	Receptor 1 de paratohormona
<i>CT</i>	<i>CALC1</i>	11p15	Calcitonina
<i>CTR</i>	<i>CALCR</i>	7p21	Receptor de calcitonina
<i>CYP1A1</i>	<i>ARO</i>	15q21	Aromatasa
<i>CASR</i>	<i>PCAR1</i>	3q13	Receptor sensible a calcio
Componentes de matriz			
<i>COL1A1</i>	.	17p21	Colágena 1A1
<i>COL1A2</i>	.	7q22	Colágena 1A2
<i>OC</i>	<i>BGP</i>	1q25	Osteocalcina
<i>OPN</i>	.	4q21	Osteopontina
Con participación en procesos osteoblastogénicos			
<i>ALOX12</i>	<i>LOG12</i>	17p13	Araquinodato 12 lipoxigenasa
<i>ALOX15</i>	.	17p13	Araquinodato 15 lipoxigenasa
<i>BMP2</i>	.	20p12	Proteína morfogenética de hueso 2
<i>BMP4</i>	.	14q22	Proteína morfogenética de hueso 4
<i>BMP7</i>	.	20q13	Proteína morfogenética de hueso 7
<i>IGF-1</i>	Somatomedin C	12q22	Factor de crecimiento similar a la insulina
<i>LRP5</i>	.	11q13	Receptor relacionado con lipoproteína de baja densidad 5
<i>LRP6</i>	.	12p13	Receptor relacionado con lipoproteína de baja densidad 6
<i>SOST</i>	.	17q12	Esclerotina

**Tabla 6. Genes Relacionados con el Fenotipo Óseo, su Localización Cromosómica y sus Productos**

Con participación en procesos de osteoclastogénesis			
<i>P53</i>	.	17p13	Proteína supresora de tumor P53
<i>CPK</i>	.	1q21	Captésina K
<i>OC</i>	<i>BGP</i>	1q25	Osteocalcina
<i>OPN</i>	<i>ETA1</i>	4q21	Osteopontina
<i>OPG</i>	<i>OCIF</i>	8q24	Osteoprogeterina
<i>RANK</i>	<i>ODFR, PDB2</i>	18q22	Receptor activador de NF-Kappa-β
<i>RANK-L</i>	<i>OPGL, ODF</i>	13q14	Ligando del receptor activador de NF-Kappa-β
<i>CLC7</i>	.	16p13	Canal de cloro
Gen	Nombre alternativo	Localización	Producto
Citocinas y sus receptores			
<i>IL1α</i>	<i>IL1A</i>	2q14	Interleucina 1A
<i>IL1β</i>	<i>IL1B</i>	2q14	Interleucina 1B
<i>IL6</i>	<i>IFNB2</i>	7p21	Interleucina 6
<i>TNF</i>	<i>TNFA</i>	6p21	Factor de necrosis tumoral
<i>TNFR2</i>	<i>TNFR</i>	1p36	Receptor del factor de necrosis tumoral 2
Otros			
<i>MTHFR</i>	.	1p36	5, 10-metilentetrahidrofolatoreductasa
<i>APOE1</i>	.	19q13	Apolipoproteína E

La proteína de colágeno tipo 1 es la más abundante en los mamíferos y se trata del principal componente estructural de huesos, dientes y tendones.(Kini and Nandeesh 2012) La estructura molecular de la proteína comprende dos cadenas alfa, codificadas por el gen *COL1A1*, y una cadena beta, codificada por el gen *COL1A2*. Las tres cadenas se arreglan por enlaces cruzados estables en una configuración de triple hélice.(Osterhoff et al. 2016) (Ver Figura 12).



### Figura 12. Estructura de la Colágena.

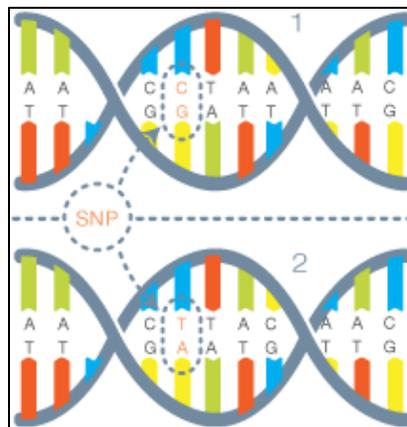
La hélice de colágena tiene una secuencia inusual de aminoácidos. Aproximadamente cada tercer aminoácido es una glicina y la mayoría de las colágenas contienen un porcentaje inusualmente alto de prolinas comparadas con otras proteínas. Las prolinas tuercen las cadenas por lo que la hélice entera se mantiene en configuración helicoidal principalmente por estas uniones fijas covalentes, NO por las uniones de hidrógeno como en la alfa hélice. Las uniones de hidrógeno se dirigen hacia fuera y ayudan a unir bandas adyacentes de colágena para formar una molécula de tropocolágena. La hélice de colágena tiene 3.3 aminoácidos por vuelta, en lugar de los 3.6 vistos en una alfa hélice. (Tomado de: Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., Scott, M. P., Bretscher, A., Ploegh, H., and Matsudaira, P., W. H. Freeman and Company, New York, 2007, 973 pp., ISBN-13: 978-0-716-77601-7).

El producto del gen del receptor de estrógenos alfa (*ESR1*), es un factor de transcripción activado a ligando que contiene importantes dominios para el acoplamiento de hormonas y/o DNA y activación de la transcripción. La proteína dentro del núcleo celular formará un homodímero o heterodímero con el receptor de estrógeno tipo 2. Los estrógenos y sus receptores son esenciales para el desarrollo sexual y la función reproductiva, pero también juegan un papel importante en otros tejidos como el hueso. (Jia, Dalhman-Wright, and Gustafsson 2015) Un estudio basado en la población encontró que el polimorfismo de un sólo nucleótido (conocido por sus siglas en inglés SNPs, single nucleotide polymorphism) rs4870044 localizado en el locus *CCDC170/C6ORF97-ESR1* (6q25.1) se ha asociado con DMO de antebrazo y total de cadera. (Martinaityte et al. 2017) La función del producto del dominio de superenrollamiento conteniendo el gen 170 (*CCDC170*),

no se entiende aun completamente. Evidencia experimental sugiere que participa en la organización del aparato de Golgi.(Jiang et al. 2017; Veeraraghavan et al. 2014; Dunbier et al. 2011) Múltiples estudios de asociación del genoma completo han implicado a la región alrededor de este gen con el cáncer de mama y la DMO, incluyendo uno en mujeres mestizas mexicanas.(Luo et al. 2014; Villalobos-Comparán et al. 2017; Kim et al. 2016)

#### 4.5 Polimorfismos

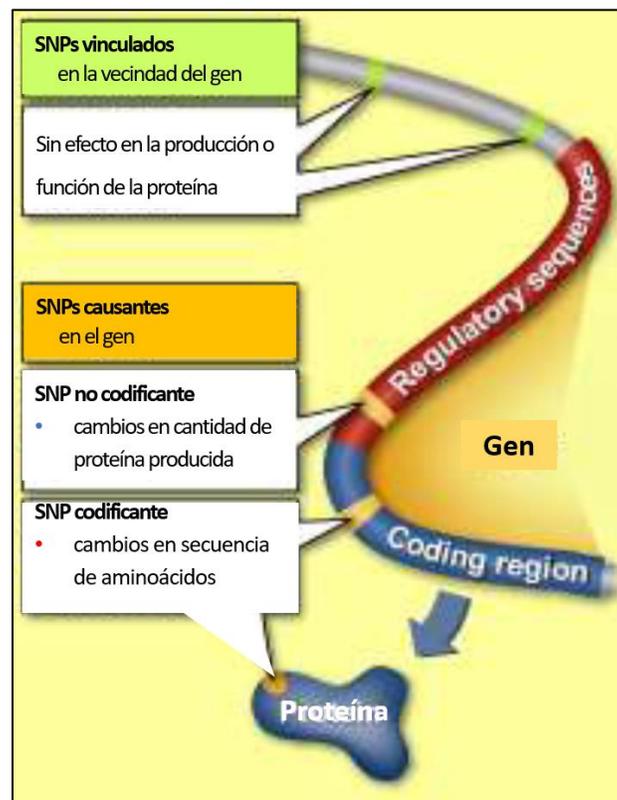
El término polimorfismo génico se refiere a la presencia de dos o más variantes génicas en un mismo alelo, de tal forma que la variante menos común debe tener una frecuencia igual o mayor al 1% en la población, de no ser así dicha variación en la secuencia es considerada una mutación. Estos cambios en la secuencia normal pueden involucrar varias bases (minisatélites o microsatélites), o bien, tratarse de la variación de un nucleótido (SNP) (ver Figura 13). El estudio de las variaciones de un nucleótido actualmente representa una herramienta de uso muy común en los estudios que buscan la asociación de ciertas variables alélicas con rasgos fenotípicos, sobre todo los atribuidos a enfermedades poligénicas.



**Figura 13. Polimorfismo de un Sólo Nucleótido (SNP).**

Representación esquemática de un SNP en el DNA. La secuencia del DNA en un locus determinado puede contener una de las cuatro variantes de nucleótidos; pero los SNPs son bialélicos, es decir, sólo pueden contener dos posibilidades de nucleótidos. (Tomado de: [https://slaphappyhappywvu.wordpress.com/2012/11/30/genomics/snp\\_diagram/](https://slaphappyhappywvu.wordpress.com/2012/11/30/genomics/snp_diagram/))

Los SNPs representan la forma más simple de los polimorfismos génicos, y la más común (90%), ocurren en 0.5-10 por cada mil pares de bases, y no se encuentran distribuidos de forma uniforme. Se han identificado cerca de 1,000,000, pero se calcula que puede haber cerca de 30,000,000 de polimorfismos en toda la raza humana y alrededor de 3,000,000 entre dos individuos. Un SNP en una región codificadora puede ser *sinónimo* (mutación silente) o *no sinónimo* (mutación sin sentido o mutación de sentido equívoco). (Ver Figura 14).



**Figura 14. Tipos de SNPs**

Los SNPs pueden encontrarse en secuencias codificadoras de los genes, en regiones no codificadoras de los genes, o en regiones intergénicas. Los SNPs dentro de una secuencia codificadoras no cambian necesariamente la secuencia los aminoácidos de la proteína que es producida, debido a la degeneración del código genético. Los SNPs en la región codificadora son de dos tipos: sinónimos y no sinónimos. Los sinónimos no afectan la secuencia de la proteína, mientras que los no-sinónimos cambian la secuencia de aminoácidos de una proteína. Los SNPs no sinónimos son de dos tipos, sin sentido o en sentido equívoco. Los SNPs que no se encuentran en regiones codificadoras de proteínas pueden aún afectar el corte y empalme, el factor de unión de transcripción, la degradación del RNAm, o la secuencia del RNA no-codificante. La expresión génica afectada por este tipo de SNP se nombra como un eSNP (SNP de expresión) y puede estar río arriba o río abajo del gen.

(Modificado de: <https://learn.genetics.utah.edu/content/precision/snips/>)

Múltiples SNPs en los genes *COL1A1* y *ESR1* han sido estudiados por su asociación con DMO y con el aumento de riesgo de fractura en cuello femoral y en columna vertebral lumbar en diferentes poblaciones.(Huilin Jin et al. 2009; Falcón-Ramírez, Hidalgo-Bravo, Barredo-Prieto, and Pineda-Gómez 2016; Singh et al. 2013; H Jin et al. 2011; Selezneva et al. 2008) Sin embargo, pocos reportes se han centrado en fracturas de radio distal y, tras una revisión exhaustiva, no se identificaron publicaciones de estudios en población mexicana.(Van Pottelbergh et al. 2001) Entender los determinantes genéticos que influyen en la masa ósea puede mejorar la detección temprana y las intervenciones terapéuticas que tienen como objetivo disminuir el peso las fracturas osteoporóticas en la salud pública.(Dole et al. 2015)

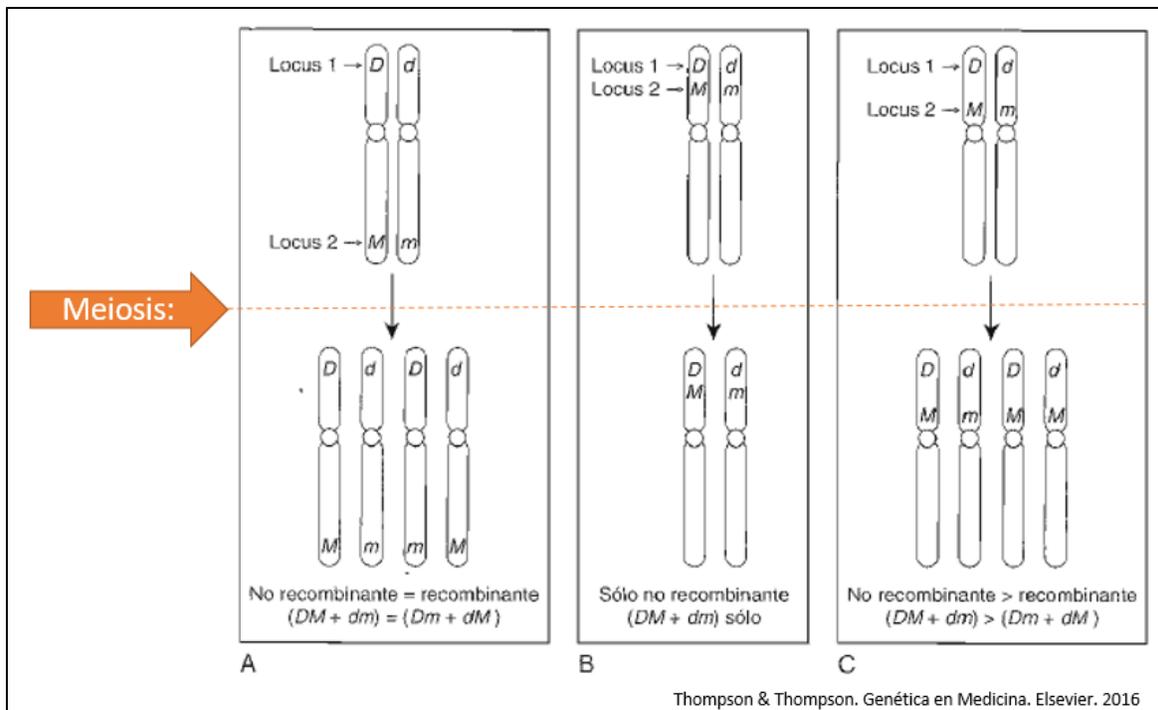
#### 4.6 Estudios de asociación genética

Los estudios de asociación genética buscan riesgo para una enfermedad específica, para ello se utilizan generalmente SNPs. Se pueden utilizar estudios de casos y controles, estudios de gemelos, basados en familias, así como estudios de asociación del genoma completo (conocidos por sus siglas en inglés GWAS, *genome wide association studies*). Estos estudios buscan la asociación entre una característica y un polimorfismo, en los que los resultados pueden distinguir tres opciones, en la primera el polimorfismo se relaciona directamente con la variación en el riesgo para un fenotipo, en la segunda no se aprecia una relación directa, pero está vinculado con una variante causal cercana, en la tercera la asociación se debe a estratificación o mestizaje de la población. Los estudios de casos y controles se consideran de asociación directa y se estima que estadísticamente tienen más poder pues se comparan con controles. La asociación directa se refiere a cuando el polimorfismo se relaciona directamente con variación del fenotipo, sin embargo, con ellos es difícil identificar polimorfismos candidatos. También es importante recalcar que muchas

de las variantes causales son no codificantes, por lo que podrían tener efecto en la regulación génica o en procesamiento alternativo. Por su parte los estudios en familias en donde se buscan genes causales de forma indirecta son llamados de asociación indirecta, el polimorfismo estudiado es un subrogado del locus causal, esto quiere decir que el SNP se encuentra en desequilibrio de ligamiento con la variante de riesgo verdadera, además se consideran estadísticamente débiles en comparación con los estudios de asociación directa. (Cordell and Clayton 2005; Lewis and Knight 2012) Algunos estudios GWAS, los cuales tienen el potencial de identificar polimorfismos candidatos, han identificado varios loci asociados con DMO y OP.(Ferrari 2008; Chesi et al. 2015)

#### 4.6.1 Entrecruzamiento o recombinación

Para estudiar la probable influencia de los genes en las enfermedades complejas la epidemiología genética se sirve de diversas herramientas, una de las más usadas es el análisis de ligamiento genético. Este es un método estadístico que se usa para asociar la funcionalidad de los genes a su localización en los cromosomas. La principal idea de este análisis es que los genes vecinos en el cromosoma tienen una tendencia a permanecer juntos durante la recombinación en la meiosis de en la gametogénesis (Ver Figura 15). Por lo tanto, si alguna enfermedad a menudo pasa a los descendientes junto con marcadores genéticos específicos, entonces puede concluirse que los genes que son responsables de la enfermedad están localizados cerca del cromosoma de dichos marcadores. (Burton, Tobin, and Hopper 2005)



### Figura 15. Recombinación Cromosómica Durante la Meiosis.

La distribución de los alelos  $D$ ,  $d$ ,  $M$  y  $m$  en dos loci, 1 y 2, cuando están localizados en el mismo cromosoma. A: los loci están muy apartados y es probable que ocurra al menos un entrecruzamiento entre ellos en cada meiosis. B: los loci están tan cerca que es muy improbable un entrecruzamiento entre ellos. C: los loci están cerca en el mismo cromosoma, pero lo suficientemente lejos como para que ocurra entrecruzamiento entre ellos en el intervalo entre los dos loci en algunas meiosis, aunque no en otras. (Imagen modificada de Thompson & Thompson. Genética en Medicina. Elsevier. 2016)

#### 4.6.2 Análisis de ligamiento genético

El análisis de ligamiento se suele utilizar en familias, ya que se parte del entendido que la información se va a transmitir junta como un haplotipo. Utiliza un método estadístico para asociar la funcionalidad de los genes a su localización de los cromosomas, es decir, la probabilidad de que dos loci segreguen juntos. Por esto mismo, en poblaciones nuevas (mestizas) se pueden utilizar

marcadores de ancestría, que se refieren a regiones muy constantes de DNA en cada población, que se conservan por generaciones sin cambio.

#### 4.6.3 LOD score

A esta probabilidad de que dos loci segreguen juntos, se le da el nombre de LOD (por sus siglas que en inglés *logarithm of the odds*, logaritmo de las probabilidades) score. La interpretación del LOD score es la siguiente:

Si  $\geq 3$ , hay certeza de ligamiento.

Si = 2, sospecha de que está ligado.

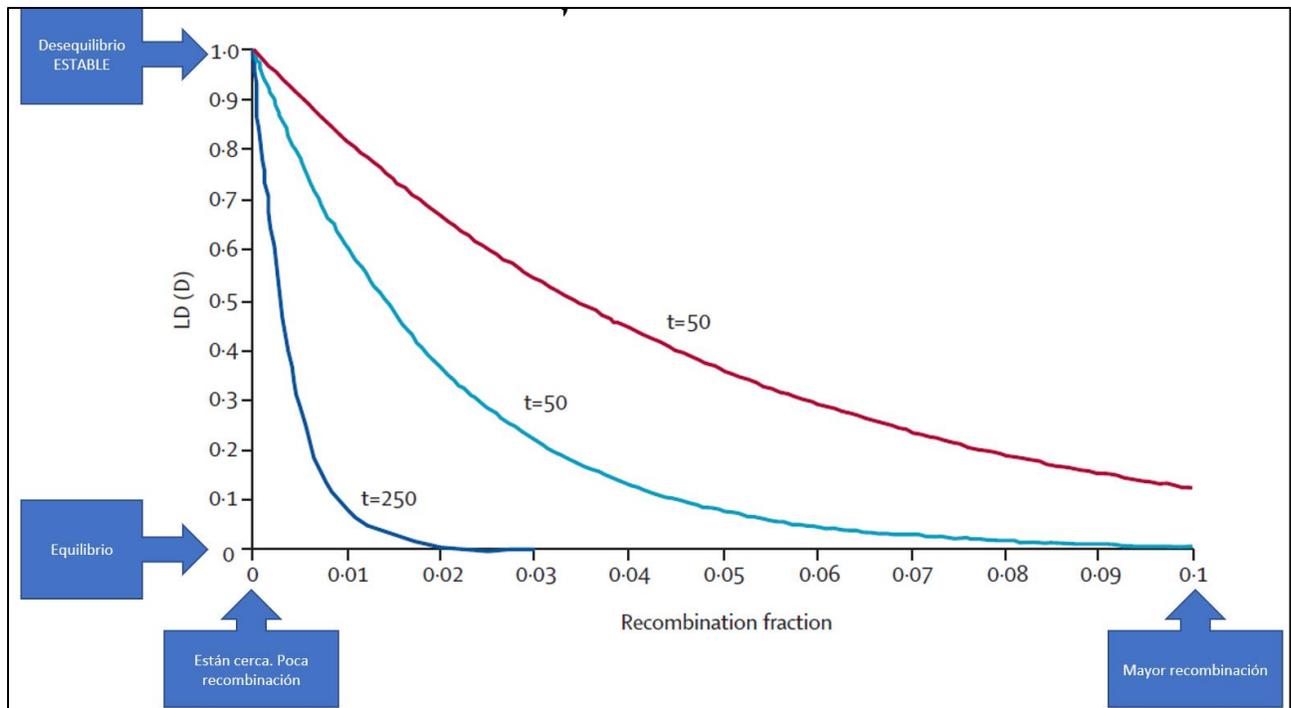
Si = 1, no hay certeza de ligamiento.

Si  $< -2$ , podemos afirmar que no existe ligamiento.

O sea, que entre más apartados se encuentren dos genes en el mismo cromosoma, mayor es la probabilidad de que ocurra una recombinación entre ellos. Se dice que dos genes están en ligamiento si la fracción de recombinación entre ellos es pequeña ( $\ll 50\%$  probabilidad).

#### 4.6.4 Fracción de recombinación

La fracción de recombinación se representa con la letra griega Teta ( $\theta$ , Τετα), significa la distancia entre dos loci. (R. L. Nussbaum, McInnes, and Willard 2016))  $\theta$  es una probabilidad, no es lineal, pues conforme se aleja de cero la probabilidad es mayor, cuando teta es mayor a 0.5 hay una redistribución independiente de los genes estudiados (recombinación). Cuando  $\theta$  es igual a cero no hay recombinación, pues los genes están muy cerca uno del otro. Cuando  $\theta$  es mayor de 0.5 hay una redistribución independiente de los genes estudiados, lo cual es conocido como recombinación. (Ver Figura 16)



**Figura 16. Análisis de Ligamiento Genético.**

Figura de análisis de ligamiento: SNPs a más generaciones (t) recombinan juntos. (t=250). Menos generaciones (t), menos estable, mayor probabilidad a recombinar separados (t=50).

#### 4.7 Equilibrio de Hardy-Weinberg

En 1908 G. Hardy y W. Weinberg propusieron de forma independiente que la frecuencia de alelos y genotipos en una población permanecerá constante de generación en generación si la población es estable y se encuentra en equilibrio genético. En una población se requieren cinco condiciones para que esta permanezca en equilibrio de Hardy-Weinberg: 1) Población de reproducción grande. Una población de reproducción grande ayuda a asegurar que el azar por si solo no alterará el equilibrio genético. En una pequeña población, sólo existirán unas pocas copias de un cierto alelo. Si por alguna razón del azar los organismos con ese alelo no se reproducen exitosamente, la frecuencia alélica va a cambiar. Este cambio al azar, no selectivo es el que sucede cuando hay

deriva génica o un evento de cuello de botella. 2) Apareamiento al azar. En una población en equilibrio, el apareamiento debe ser al azar. En un apareamiento selectivo, los individuos tienden a escoger a sus parejas similares a ellos. Aunque esto no altera las frecuencias alélicas, esto resulta en menos individuos heterocigotos a los que se podría esperar en una población donde haya apareamiento al azar. 3) Ausencia de cambio en la frecuencia alélica debido a mutación. Para que una población esté en equilibrio de Hardy-Weinberg, no puede haber cambio en la frecuencia alélicas debido a mutaciones, cualquier mutación en un gen particular puede cambiar el balance de alelos en la reserva genética. Las mutaciones permanecerán ocultas en grandes poblaciones para un número de generaciones, pero se mostrarán más rápidamente en una población pequeña. 4) Ausencia de inmigración o emigración. Para que la frecuencia alélica permanezca constante en una población en equilibrio, no puede haber nuevos alelos en la población, y tampoco se pueden perder alelos. Ambos, inmigración y emigración pueden alterar la frecuencia alélica. 5) Ausencia de selección natural. En una población en equilibrio, no se seleccionan unos alelos sobre otros. Si ocurre selección, aquellos alelos que sean seleccionados a la fuerza se volverán más comunes. Por ejemplo, si la resistencia a un herbicida en particular permite a una planta vivir en un ambiente que ha sido rociado con ese herbicida, el alelo para resistencia se volverá más frecuente en la población.

### *Ecuación de Hardy-Weinberg*

Para estimar la frecuencia alélica de una población, se puede usar la ecuación de Hardy-Weinberg.

De acuerdo con esta ecuación:

$p$  = la frecuencia del alelo mayor (A)

$q$  = la frecuencia del alelo menor (a)

Para una población en equilibrio genético:

$$p + q = 1.0 \text{ (La suma de las frecuencias de ambos alelos es 100\%.)}$$

$$(p + q)^2 = 1$$

entonces,

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Los tres términos de esta expansión binomial indican las frecuencias de los tres genotipos:

$$p^2 = \text{frecuencia de AA (homocigoto del alelo de mayor frecuencia)}$$

$$2pq = \text{frecuencia de Aa (heterocigoto)}$$

$$q^2 = \text{frecuencia de aa (homocigoto del alelo de menor frecuencia)}$$

Una característica genética particular de poblaciones de apareamiento al azar es el equilibrio de Hardy-Weinberg. Ya que los alelos de loci diploides se reorganizan al azar en cada nueva concepción, resulta que para las frecuencias alélicas  $p$  y  $q$  (donde  $p + q = 1$ ) para loci bialélicos, las frecuencias de los genotipos son expresadas por la ecuación  $(p + q)^2$ . (Rodriguez, Gaunt, and Day 2009)

En genética, la prueba de si las proporciones de los genotipos observados en una muestra de la población son consistentes con la predicción ( $p^2$ ,  $2pq$ , y  $q^2$ ) ofrecen una prueba fundamental de comprobación biológica para los genotipos. Una muestra de una población de apareamiento al azar homogénea deberá sólo de desviarse de un HWE perfecto por pequeñas cantidades de azar, de acuerdo con las estadísticas de muestreo paramétrico. Las desviaciones grandes, estadísticamente significativas, son a menudo causadas por detalles de calidad con la captura de datos de laboratorio. Sin embargo, dada la alta calidad de datos de genotipificación, el HWE ofrece la oportunidad de

buscar posibles sesgos de comprobación biológica para la población muestra en relación con el genotipo de interés.(Rodriguez, Gaunt, and Day 2009)

#### 4.8 Haplotipos

Un haplotipo es un grupo de genes dentro de un organismo que fueron heredados de forma conjunta de un solo progenitor. La palabra “haplotipo” se deriva de la palabra “haploide”, que describe aquellas células con únicamente un juego de cromosomas, y de la palabra “genotipo”, la cual se refiere al contenido genético de un organismo. Un haplotipo puede describir un par de genes heredados de forma conjunta de un progenitor en un cromosoma, o puede describir todos los genes en un cromosoma que fueron heredados de forma conjunta de un solo progenitor. Este grupo de genes fue heredado de forma conjunta debido a asociación genética, es decir, al fenómeno por el cual los genes en un mismo cromosoma que están cerca uno de otro, a menudo se heredan juntos. Además, el término "haplotipo" también se puede referir a la herencia de un grupo de SNPs.

Un haplotipo es un grupo de estados alélicos en un loci vecino en un mismo cromosoma, como se hereda de uno de los padres. Los haplotipos pueden romperse por recombinación.

#### 4.9 Genómica Quirúrgica y Ortogenómica.

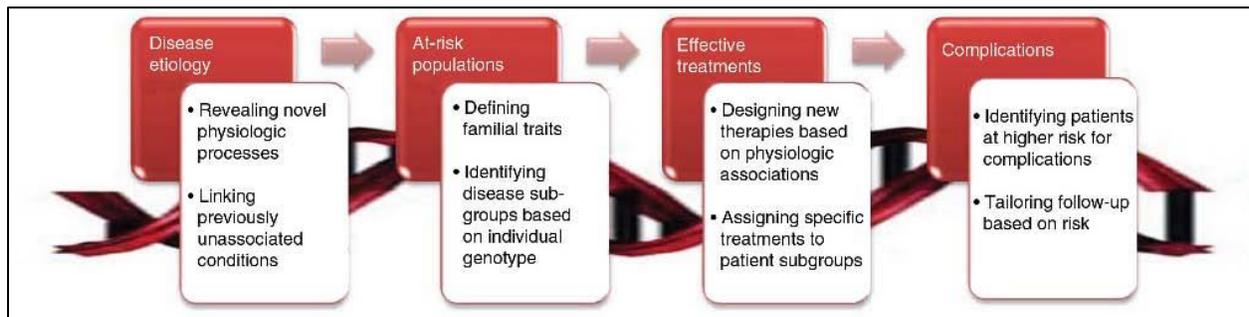
El concepto de la genómica quirúrgica es relativamente nuevo, se trata de un campo que se encuentra en la punta de lanza de la medicina actual, que surge de la intersección de la investigación genética, la investigación de las células troncales y la práctica quirúrgica. Mientras que los cirujanos de la historia tuvieron que basarse únicamente en su vista, y los del siglo XX vieron a través de las lentes de la imagenología médica, los cirujanos de la presente Era Genómica colaboran con los genetistas, para examinar los genes que proporcionan un paquete completo de instrucciones para fenotipo y función. Basados en esta información, los cirujanos podrían

determinar de forma más exacta cuándo y cómo operar, evitar posibles complicaciones, y predecir el resultado del tratamiento.

Aún más sorprendente, en un futuro los cirujanos serán capaces de colaborar con genetistas y biólogos celulares que reparen un defecto genético en una célula madre derivada del paciente y usen esas células troncales reparadas para trasplantes terapéuticos sin un rechazo inmunológico. El mapa completo del genoma humano se finalizó en el 2003 por una empresa privada encabezada por Craig Venter en colaboración con el Proyecto del Genoma Humano liderado por Francis Collins. La secuencia precisa de los 3.2 billones de pares de nucleótidos que conforman este plano genético humano guía la mano de los cirujanos actuales e indicará el camino hacia el territorio desconocido.(Raabe and Roscher 2012)

Los pocos estudios basados en el genoma de las principales enfermedades ortopédicas se han centrado en OP, osteoartritis, neuropatía y compresión nerviosa, deformidad espinal, respuesta inflamatoria asociada al trauma, y dolor y analgesia.(Matzko, Bowen, and Smith 2012) (Ver Figura 18) Con respecto a la OP, se han realizado importantes contribuciones genéticas respecto a la etiología, progresión y tratamiento farmacológico de la enfermedad, pero no así con el pronóstico de los pacientes con esta enfermedad. Con respecto a la osteoartritis la heredabilidad se estima de 65% en la rodilla, 60% en la cadera y 39% en la mano. Estudios de asociación han detectado variantes génicas con resultados estadísticos significativos, incluso algunos en población mexicana.(Borgonio-Cuadra et al. 2019) Estos resultados podrían dirigir la investigación para desarrollar tratamientos novedosos que puedan disminuir la prevalencia de esta enfermedad. En cuanto a la compresión nerviosa y otros tipos de neuropatía periférica, estudios genéticos han contribuido con la caracterización de variantes génicas que regulan la mielinización, la comunicación entre células gliales, entre otros. Por otro lado, las deformidades degenerativas de

columna vertebral presentan una heredabilidad hasta del 74%, mientras que factores ambientales contribuyen en menor porcentaje, o no contribuyen en absoluto. De hecho, en escoliosis idiopática del adolescente se puede realizar un análisis de 53 marcadores genéticos, para estratificar paciente en riesgo de progresión de deformidad, a partir del ángulo de Cobb existente. Esto puede categorizar a los pacientes en aquellos con bajo riesgo de progresión y aquellos con alto riesgo de progresión. Resultados promisorios se han observado también en estudios relacionados a la respuesta metabólica al trauma, neoplasias óseas, así como trabajos relacionados al dolor crónico, postoperatorio y a la analgesia.



**Figura 17. Líneas Principales de la Investigación Genómica Médica.**

A) Etiología, B) Poblaciones en riesgo, C) Tratamientos efectivos, y D) Complicaciones. El presente trabajo forma parte del dominio de población en riesgo.(Matzko, Bowen, and Smith 2012)

---

## Capítulo 2 – Marco Teórico

---

### Justificación

La OP es un problema de salud pública mundial, con tasas elevadas de morbilidad y mortalidad. Una de las fracturas más frecuentes relacionadas a la fragilidad ósea es la que se presenta alrededor del radio y cúbito distales, y suele ser el heraldo de fracturas más complicadas como cadera y columna, lo cual brinda una oportunidad invaluable para investigar el componente genético de la OP, en general; y de las fracturas de radio distal, en lo particular. La mayoría de las investigaciones nacionales muestran orientaciones clínicas, epidemiológicas, y son pocas las investigaciones encaminadas a conocer el gran componente genético de la OP en nuestra población. (Gómez et al. 2007; Magaña et al. 2006; Falcón-Ramírez, Hidalgo-Bravo, Barredo-Prieto, Pineda-Gómez, et al. 2016; Falcón-Ramírez. et al. 2011; Valdés-Flores et al. 2012) Esto nos ayudará a generar conocimientos novedosos sobre las variaciones genéticas en población mexicana y asociarlos con el riesgo aumentado de fracturas, permitiendo intervenciones preventivas y terapéuticas en la población de riesgo, sin efecto perjudicial para los sujetos de estudio.

### Planteamiento del problema

El efecto genético de las fracturas de radio distal por fragilidad en el grupo de mujeres mexicanas postmenopáusicas es un tema poco explorado. La carga económica y social de las fracturas secundarias a osteoporosis obliga la necesidad de realizar investigación de las causas. Al mismo

tiempo, de encontrar soluciones preventivas y terapéuticas, que mejoren el pronóstico funcional de las afectadas. En este sentido, se han identificado variaciones genéticas que afectan el fenotipo óseo y pueden incrementar el riesgo de fractura en pacientes con fragilidad esquelética. Nuestra propuesta es conocer si un grupo de variaciones en algunos de los genes más relacionados con el fenotipo óseo, díganse *COL1A1*, *CCDC170* y *ESR1*, se asocia o no a las fracturas de radio distal en mujeres mexicanas mestizas postmenopáusicas.

### **Pregunta de Investigación**

¿Existen variaciones en los genes *COL1A1*, *CCDC170* y *ESR1*, asociadas a las fracturas de radio distal en mujeres mestizas mexicanas postmenopáusicas?

### **Hipótesis**

Algunas variantes de los genes *COL1A1*, *CCDC170* y *ESR1* tienen asociación con fracturas de radio distal en mujeres mestizas mexicanas postmenopáusicas.

### **Objetivos**

– General:

Investigar las frecuencia alélicas y genotípicas de los polimorfismos de un solo nucleótido rs1800012, rs2075555, rs2412298 y rs1107946 en el gen *COL1A1*; de los polimorfismos rs9479055 y rs4870044 en el gen *CCDC170* y de los polimorfismos rs3020331, rs851982,

rs1999805, rs2234693 y rs3020404 en el gen *ESR1* en un grupo de pacientes mestizas mexicanas postmenopáusicas con fracturas de radio distal y en un grupo de controles sanas postmenopáusicas.

– Secundarios:

- Calcular la heterocigocidad y el equilibrio con relación a la ley de Hardy-Weinberg de cada uno de los alelos y genotipos detectados con relación a cada uno de los polimorfismos en cada población.
- Realizar un análisis multivariado de cada SNP ajustado para edad, IMC, menarca, años desde la menopausia, DMO de cadera y columna.
- Realizar un análisis de haplotipos de los genes estudiados.

---

## Capítulo 3 - Material y Métodos

---

### DISEÑO DEL ESTUDIO Y CONSIDERACIONES ÉTICAS

**S**e diseñó un estudio de casos y controles (estudio de asociación genética), el cual fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Instituto Nacional de Rehabilitación de la Ciudad de México. Todos los sujetos que accedieron en participar firmaron de forma libre y voluntaria el consentimiento informado. Se siguieron los protocolos éticos vigentes nacionales e internacionales en investigación en seres humanos.

### UNIVERSO DE TRABAJO

Mujeres mexicanas postmenopáusicas de más de 38 años, procedentes de la Clínica de Osteoporosis y de los Servicios de Cirugía de la Mano y Urgencias del Instituto Nacional de Rehabilitación, con fractura de radio distal. A todas las mujeres se les realizó una densitometría ósea de columna, cadera y/o muñeca.

### MUESTREO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA

Los casos fueron mujeres mayores de 38 años, que se presentaron con una FRD de baja energía dentro de las primeras dos semanas de la lesión. Los controles fueron mujeres de 38 años de edad o mayores, sin historia previa de fractura y DMO dentro de rangos normales. Las mujeres de ambos grupos ya habían presentado la menopausia al momento del enrolamiento. El grupo de estudio (n=383, FRD=182, Controles=201) incluyó únicamente mujeres nacidas en México, cuyos padres y abuelos se identificaron a sí mismos como mestizos mexicanos, los criterios de ancestría mexicanos fueron evaluados también con un cuestionario validado. Los criterios de exclusión fueron, mujeres tomando fármacos que alteren el metabolismo óseo o la DMO (p. ej.

anticonvulsivos, esteroides), aquellas con displasia ósea u OP secundaria (cáncer, artritis reumatoide, síndromes de mala absorción intestinal, enfermedades sistémicas graves). Aquellos pacientes con FRD de alta energía también fueron excluidas. El criterio de eliminación fue la incapacidad de realizar el 100% de las pruebas moleculares. Los factores de riesgo y covariables fueron registrados a través de un cuestionario validado. (Ver Anexo 1)

Para el cálculo del tamaño de la muestra, se conoce la diferencia entre la frecuencia alélica y genotípica en población mestiza mexicana para el alelo de riesgo (C) del SNP rs2234693; de 0.31<sup>3</sup>

Se planea un estudio de casos y controles con un control por caso. Se trabajará con una seguridad de no cometer un error del tipo I del 95% (probabilidad,  $\alpha = 0.05$ ) y del tipo II se establecerá sobre un 20% (probabilidad,  $\beta = 0.2$ ). Así nos aseguramos un poder estadístico ( $1 - \beta$ ) del 80%. (Schlesselman 1982)

Necesitaremos estudiar un mínimo de 185 casos y 185 controles para ser capaces de rechazar la hipótesis nula de que esta OR es igual a 1 con un poder de 0.8.

#### GRUPOS DE ESTUDIO

##### **A) Mujeres con Fractura de Radio Distal (Casos):**

Criterios de Inclusión:

- 1.- Mujeres postmenopáusicas de 38 años o más, con fractura de radio distal de baja energía.
- 2.- Que acepten participar en el estudio mediante consentimiento informado.

Criterios de Exclusión:

---

<sup>3</sup> reportado en la página dbSNP de la National Library of Medicine.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>

- 1.- Mujeres con ingesta de fármacos que de alguna u otra forma repercuten sobre la densidad mineral ósea (anticonvulsivantes, corticoesteroides).
- 2.- Presencia de enfermedades óseas concomitantes.
- 3.- Desórdenes que causen OP secundaria.
- 4.- Mujeres que no cumplan con criterios de ancestría mestiza mexicana.
- 5.- Pacientes en quienes no sea posible la realización del 100% de las prácticas moleculares, requeridas para el desarrollo de la investigación.
- 6.- Mujeres con fracturas de radio distal por alta energía (v.gr. accidentes de tránsito o caídas de gran altura).

**B) Mujeres sin Fractura de Radio Distal (Controles):**

Criterios de inclusión:

- 1.- Mujeres postmenopáusicas de más de 38 años sin fractura de radio distal.
- 2.- Con densitometría de columna vertebral, cadera y/o muñeca.
- 3.- Que acepten participar en el estudio mediante consentimiento informado.

Criterios de exclusión:

- 1.- Mujeres con ingesta de fármacos que repercuten sobre la DMO.
- 2.- Presencia de enfermedades óseas concomitantes.
- 3.- Desórdenes que causen OP secundaria.
- 4.- Mujeres que no cumplan con criterios de ancestría mestiza mexicana.

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

#### EVALUACIÓN DE FRACTURA Y DENSIDAD MINERAL ÓSEA

Todas las fracturas fueron confirmadas con una revisión de los registros médicos y radiológicos. En los controles, la ausencia de fractura fue corroborada durante el interrogatorio médico, no se realizaron radiografías simples de muñeca en los controles. Se obtuvieron valores de DMO lumbar y femoral con un equipo de absorciometría de energía-dual de rayos X (HOLOGIC 2000), dentro de las primeras dos semanas de lesión. Los valores fueron expresados en  $\text{g/cm}^2$ , e interpretados con valores de referencia para población mexicana sana del mismo sexo y edad.(Tamayo et al. 2009)

#### IDENTIFICACIÓN DE FACTORES DE RIESGO

Para este fin, en cada una de las mujeres con y sin OP se documentarán la ancestría, así como la presencia de factores de riesgo no modificables y potencialmente modificables relacionados con esta entidad. Para este fin se empleará un formato de recolección de datos que incluye cuestionarios previamente validados en población mexicana. (Ver ANEXO)

## DEFINICIÓN OPERACIONAL DE LAS VARIABLES

Tabla 7. Definición Operacional de las Variables				
Variable	Definición Conceptual de la Variable	Definición Operacional de la Variable	Tipo de Variable	Identificadores
<b>Dependiente o de Respuesta</b>				
Presencia de Fractura de Radio Distal de Baja Energía	Pérdida de continuidad ósea en el radio distal; secundaria a un traumatismo que no genera fractura en un hueso sano	Diagnóstico con el antecedente de traumatismo en muñeca afectada, y radiografías AP y lateral de la extremidad afectada (sólo casos)	Categórica Nominal	0 = SI (Casos) 1 = NO (Controles)
<b>Independientes</b>				
Polimorfismos ( <i>COL1A1</i> n=4, <i>CCDC170</i> n=2, <i>ESR1</i> n=5)	Genotipo	Obtención del DNA genómico a partir de sangre periférica. Posteriormente discriminación alélica mediante PCR en tiempo real	Categórica Nominal	0 = XX (Homocigoto 1) 1 = XY (Heterocigoto) 2 = YY (Homocigoto 2)
	Modelo codominante,			1 = XX + XY (Homocigoto 1 ó 2 + Heterocigoto) 0 = YY (Homocigoto 1 ó 2)
	Modelo dominante,			1 = XX 0 = XY/YY
	Modelo recesivo			1 = YY 0 = XX/XY
	Modelo aditivo			2 = YY 1 = XY 0 = XX
<b>Covariables</b>				
Densidad Mineral Ósea (DMO)	Disminución de la DMO, aumento en el riesgo de fractura y fragilidad esquelética	Obtención de la DMO con DEXA y expresada en g/cm <sup>2</sup>	Cuantitativa Continua	Ver Anexo 3.(Tamayo et al. 2009)
Edad	Edad	Años	Cuantitativa continua	0 - ∞
Menarca	Edad a la que se presentó la primera regla	Años	Cuantitativa continua	0 - ∞
Años transcurridos desde la menopausia	Tiempo desde la última regla. Menopausia: al menos 1 año sin menstruación	Años	Cuantitativa continua	0 - ∞
Peso	Peso	Kg	Cuantitativa continua	0 - ∞
Talla	Talla	metros	Cuantitativa continua	0 - ∞
Índice de Masa Corporal (IMC)	Asociación entre la masa y la talla de un individuo	IMC = Peso en Kg/ Talla en m al cuadrado	Cuantitativa continua	≤ 20 = desnutrición 20-25 = normal 26-30 = Sobrepeso ≥30 = obesidad

## GENES CANDIDATOS Y SELECCIÓN DE SNPs

En la Tabla 8 se resumen las asociaciones identificadas previamente para los once SNPs a estudiar, que incluyen datos sobre las poblaciones analizadas, las razones de momios y los valores de P.

De los once SNPs analizados, diez son intrónicos (rs1800012, rs2075555, rs1107946, rs9479055, rs4870044, rs3020331, rs851982, rs1999805, rs2234693, rs3020404) y uno (rs2412298) se encuentra en la región promotora del gen *COL1A1*, y principalmente regulan la expresión de los genes *COL1A1*, *ESR1* y *CCDC170* (Tabla 9). Los cuatro SNPs de *COL1A1* se encuentran en el brazo largo del cromosoma 17, y los 7 SNPs restantes, dos del gen *CCDC170* y cinco del gen *ESR1* gene, se localizan en el brazo largo del cromosoma 6.

Tabla 8. Resumen de reportes previos de la asociación de los SNPs estudiados con fractura, DMO y/o OP.			
Gen	SNP	Reportes previos	Este estudio
COL1A1	rs1800012 [también conocido como +1245G>T (Sp1)]	Mujeres polacas, genotipo ss posiblemente protege para OP. (No se reportó OR).(Majchrzycki et al. 2015)  Mujeres polacas, no efecto recesivo o dominante de cualquier genotipo Sp1 en prevalencia de fracturas de baja energía. (OR = 1.12, 95% CI: 0.72–1.76).(Dytfeld et al. 2016)  Mujeres del noroeste de la India, el haplotipo GT (con rs1107946) confiere aproximadamente tres veces mayor riesgo de OP en portadoras (OR 3.12, 95% CI 1.24–8.88, P = 0.008).(H Jin et al. 2011)  Mujeres mexicanas, el modelo dominante mostró asociación con DMO de columna lumbar (P=0.021). Además, el análisis de haplotipo con rs1107946, mostró que el haplotipo GG presentó una mayor DMO en columna lumbar.(Rojano-Mejía et al. 2013)  Mujeres mexicanas, alelo s OR 4.36 (95% CI, 2.49–7.67), alelo S OR 0.23 (95% CI, 0.13–0.4). La OR del genotipo SS aumentó de 0.15 (95% CI, 0.08–0.3) a 6.58 para genotipos con al menos un alelo s (95% CI, 3.37–12.98).(Falcón-Ramírez et al. 2011)  Estudio transversal en hombres adultos mayores belgas, una DMO menor se asoció con el alelo s, los valores menores de DMO se observaron en los sujetos homocigotos ss. Significativamente asociada con DMO en antebrazo distal, se apreciaron valores menores en presencia del alelo s.(Dole et al. 2015)	<b>HWE valor de P: 0.011</b>
	rs2075555	Estudio GWAS de la cohorte Framingham. Asociado con ancho de cuello femoral en mujeres y de ancho diafisario femoral en hombres. (Nuevos loci candidatos, se necesitan estudios de asociación).(D. Kiel et al. 2007)	No se encontró asociación.
	rs2412298	Un metaanálisis reportó 3 estudios con OR's ni significativas para todos los modelos (recesivo, dominante, aditivo, codominante) y OP.(Zintzaras et al. 2011)	<b>HWE P-value: &lt;0.0001</b>

**Tabla 8. Resumen de reportes previos de la asociación de los SNPs estudiados con fractura, DMO y/o OP.**

Gen	SNP	Reportes previos	Este estudio
COL1A1	[también conocido como -1663T ins/del]	Reino Unido. Un haplotipo con el alelo no favorable en tres sitios (rs1107946, rs2412298, rs1800012) se asoció con fuerza límite elástico, módulo y dureza. Haplotipo portado por 19/94 (20.2%) mujeres con fractura de cadera, y sólo en 0.06% de los controles (No se reportó OR).(H Jin et al. 2009)	
	rs1107946 [aka -1997G>T]	<p>Mujeres polacas, con osteopenia y OP el genotipo TT se asoció con DMO baja. Tendencia para menopausia precoz en mujeres con OP y osteopenia con el mismo genotipo TT.(Majchrzycki et al. 2015)</p> <p>Mujeres del noroeste de la India, el haplotipo GT (con rs1800012) confiere aproximadamente tres veces mayor riesgo de OP en portadoras (OR 3.12, 95% CI 1.24–8.88, P = 0.008).(H Jin et al. 2011)</p> <p>Mujeres españolas. Asociado con DMO de columna lumbar (p = 0.015) cohorte de 256 mujeres postmenopáusicas tras ajustar para edad, peso corporal y años desde la menopausia; un menor grado de asociación fue detectado también para DMO de cuello femoral en un subgrupo de 146 mujeres en análisis univariado y tras ajustar para edad (p = 0.044).(Garcia-Giralt et al. 2002)</p> <p>Mujeres japonesas, genotipo T afecta la DMO en varios sitios con una varianza de 0.46-0.62% para todas las mujeres y de 0.61-1.01% para mujeres postmenopáusicas.(Yamada et al. 2005)</p> <p>Mujeres mexicanas. No se encontró asociación con OP, pero el haplotipo GG (con rs1800012) encontró asociación con una DMO lumbar más alta. (No se reportó OR).(Rojano-Mejía et al. 2013)</p>	<p>Modelo codominante:</p> <p>Genotipo AA - riesgo FRD.</p> <p>Genotipo CA - riesgo FRD.</p> <p>Modelo dominante:</p> <p>CA/AA vs CC - riesgo FRD.</p> <p>Modelo aditivo: riesgo FRD.</p>
CCDC170	rs9479055	<p>Mujeres mexicanas. No se encontró asociación con DMO en ningún modelo.(Ávila-Rodríguez 2014)</p> <p>Mujeres chinas Han, el alelo C se asoció con fracturas osteoporóticas y DMO de columna lumbar (OR 1.18).(Liu et al. 2010)</p>	<p>Modelo codominante:</p> <p>Genotipo CC - protector FRD.</p> <p>Modelo dominante:</p> <p>AC/CC vs AA - riesgo FRD.</p> <p>Modelo aditivo: protector FRD.</p>
	rs4870044	<p>Mujeres chinas, los homocigotos CC se asociaron con DMO de cadera total en el modelo dominante (P = 0.034) pero no con fractura.(Kim et al. 2016)</p> <p>Poblaciones muestra islándicas deCODE GWAS y réplica, asociadas con DMO de columna lumbar.(Zhang et al. 2010)</p> <p>En población noruega, se asoció con DMO de antebrazo y de cadera total tanto en hombres como en mujeres.(Veeraraghavan et al. 2014)</p>	<p>Modelo codominante:</p> <p>Genotipo CT - riesgo FRD.</p> <p>Genotipo CC - protector FRD.</p> <p>Modelo recesivo: CC vs TT/TC - protector FRD.</p> <p>Modelo aditivo: riesgo FRD.</p>

**Tabla 8. Resumen de reportes previos de la asociación de los SNPs estudiados con fractura, DMO y/o OP.**

Gen	SNP	Reportes previos	Este estudio
ESR1	rs3020331	Mujeres mexicanas. Sin asociación con DMO en ningún modelo.(Ávila-Rodríguez 2014)  Caucásicos norteamericanos, ambos géneros (1,000). Asociado con DMO total de cadera, cuello femoral y columna lumbar.(Zhang et al. 2010)	Modelo aditivo: protector FRD.
	rs851982	Mujeres mexicanas. Asociación con DMO total de cadera, cuello femoral y columna lumbar L1-L4 y L2-L4.(Ávila-Rodríguez 2014)	Modelo codominante:  Genotipo CT - riesgo FRD.  Genotipo TT - protector FRD.  Modelo dominante:  CT/TT vs CC - riesgo FRD.  Modelo aditivo: protector FRD.
	rs1999805	Mujeres chinas postmenopáusicas asociadas con riesgo de fractura en el modelo recesivo. P = 0.041, OR 1.633, 95 %CI 1.020–2.616.(Kim et al. 2016)  Mujeres mexicanas. Asociación con DMO total de cadera y columna lumbar. Baja frecuencia de genotipo AA. La DMO de cuello femoral fue alta con el genotipo AA.(Ávila-Rodríguez 2014)	No se encontró asociación.
	rs2234693	Población búlgara. Se encontraron valores más altos de DMO en antebrazo distal y ultra distal en individuos pp y valores más bajos en individuos PP.(Ivanova et al. 2007)  Mujeres escocesas. Haplotipo px (junto con rs9340799) asociado con pérdida ósea en cuello femoral en postmenopáusicas sin TRH (p=0.009). Menor DMO en cuello femoral (p=0.02) y valores reducidos en DMO de calcáneo medida con US(p=0.005).(Albagha et al. 2005)  Metaanálisis de 8467 mujeres y 2032 hombres. Asociado con DMO de columna lumbar. Los homocigotos PP tienen efecto protector al compararse con portadores de alelos p, los efectos más significativos están presentes en mujeres premenopáusicas y caucásicas. El homocigoto PP es un factor de riesgo para DMO de cuello femoral baja en mujeres y hombres orientales.(Wang et al. 2012)	Modelo codominante (ajustado):  Genotipo CC - protector FRD.  Modelo recesivo (ajustado):  CC vs TT/TC - protector FRD.
	[también conocido como PvuII]		
	rs3020404	Frecuencia del alelo menor (G) reportada en población general del 36% (Mundial 20%). Frecuencia del genotipo AG 42.8%. No se encontró asociación con DMO.(Ávila-Rodríguez 2014)	Modelo recesivo:  AA/AG vs GG - riesgo FRD.

DMO: densidad mineral ósea. FRD: fractura de radio distal. GWAS: estudio de asociación genómica. HWE: equilibrio de Hardy-Weinberg. IC: intervalo de confianza. OP: osteoporosis. OR: razón de momios. TRH: terapia de reemplazo hormonal. US: ultrasonido.

**Tabla 9. Resumen de los Reportes de los SNPs de Referencia para el Presente Estudio. (Datos de dbSNP\*).**

Posición cromosómica (GRCh38)	Gen	ID del SNP	Clase Funcional	Polimorfismo	Alelo 1	Alelo 2	Frecuencia Genotípica de HAPMAP-MEX						1000 Genomas (MAF)
							Homo1	Hetero	Homo2	HWP	Frec Alelo 1	Frec Alelo 2	
17:50200388	COL1A1	rs1800012	Intrónico	g.6252G>T	G	T	N	N	N	N	N	N	0.0911
17:50196930	COL1A1	rs2075555	Intrónico	g.9710A>C	A	C	N	N	N	N	N	N	0.2554
17:50203294	COL1A1	rs2412298	Región Promotora	c.-1781C>T	G	A	N	N	N	N	N	N	N/A
17:50203629	COL1A1	rs1107946	Intrónico	g.3011T>G	A	C	N	N	N	N	N	N	0.2576
6:151526832	CCDC170	rs9479055	Intrónico	c.58-9486C>A	A	C	0.259	0.479	0.259	1	0.5	0.5	0.3502
6:151580274	CCDC170	rs4870044	Intrónico	g.91235C>T	C	T	0.28	0.460	0.259	0.583	0.509	0.490	0.4185
6:151687645	ESR1	rs3020331	Intrónico	g.35955C>T	C	T	0.540	0.360	0.1	0.479	0.720	0.28	0.2778
6:151703850	ESR1	rs851982	Intrónico	n.300+1845T>C	C	T	0.090	0.402	0.506	0.751	0.28	0.720	0.2414
6:151747229	ESR1	rs1999805	Intrónico	n.300+45224G>A	G	A	0.319	0.44	0.239	0.438	0.540	0.460	0.4643
6:151842200	ESR1	rs2234693	Intrónico	g.190510T>C	C	T	0.08	0.460	0.460	0.654	0.31	0.69	0.4463
6:151975851	ESR1	rs3020404	Intrónico	g.324161A>G	A	G	N	N	N	N	N	N	0.2037

SNP: *single nucleotide polymorphism*, polimorfismo de un solo nucleótido HAPMAP-MEX: mapa de haplotipos de población de los Ángeles, California, con ancestría mexicana. MAF: *minor allele frequency*, frecuencia del alelo menor. HWP: *Hardy-Weinberg probability*, probabilidad de Hardy-Weinberg. N: no hay datos disponibles. COL1A1: gen de colágeno tipo 1 alfa 1. ESR1: gen del receptor de estrógenos alfa. CCDC170: dominio de superenrollamiento conteniendo el gen 170. \*<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>

## GENOTIPIFICACIÓN

Se extrajo DNA genómico de 300 µl de sangre periférica usando el estuche *Gentra Puregene Blood Kit* © (Gentra Systems, Minneapolis, MN) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La concentración y calidad del DNA se analizaron con espectrofotometría, usando un equipo *NanoDrop 2000*© (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA). Las muestras de DNA fueron almacenadas a -80°C hasta su utilización. La detección de los SNPs se realizó con las sondas de discriminación alélica *TaqMan*© (Applied Biosystems 2000, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA). Las secuencias de cada sonda tienen fluoróforos VIC/FAM en el extremo 3' y un apagador no fluorescente (conocido por sus siglas en inglés NFQ de non-fluorescent quencher) en el extremo 5'.

Cada 5µl de reacción en cadena de polimerasa (conocida por sus siglas en inglés PCR polymerase chain reaction) contenían 18 ng de DNA genómico, 2.5µl de 2X *Applied Biosystems*© *TaqMan*© *Universal PCR Master Mix* (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA), y 0.12µl de la sonda específica 40X *TaqMan*© para cada SNP. Los ensayos de PCR-en tiempo real se realizaron en un instrumento *Applied Biosystems*© *StepOnePlus*©. Las condiciones de la PCR se realizaron de acuerdo a las recomendaciones del fabricante 5 minutos a 50 °C, seguido de 10 minutos a 95, posteriormente 45 ciclos de un perfil a dos etapas de temperatura de 95 °C durante 15 segundos y 60 °C durante 60 segundos. Las muestras se corrieron en placas de 96 pozos.

## CONTROL DE CALIDAD

Las genotipificaciones inconclusas fueron repetidas. La determinación de las variantes o *variant calling* fue realizado de forma independiente por dos de los autores, y los resultados fueron confirmados manualmente.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se obtuvieron estadísticas descriptivas, las variables continuas se compararon con prueba *t* de Student, y las variables categóricas con pruebas de Chi cuadrada o prueba exacta de Fisher (de dos colas). Las frecuencias alélicas y genotípicas fueron calculadas y se realizó la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg (conocida por sus siglas en inglés HWE de Hardy–Weinberg equilibrium). Se realizó regresión logística no condicional uni y multivariada para estimar el efecto de cada SNP sobre las FRD bajo los modelos genéticos aditivo, codominante, dominante y recesivo.

El modelo dominante supone que solo una copia del alelo particular (p. ej. C) es suficiente para modificar el riesgo y el poseer dos copias lo modifica en la misma proporción.

Los heterocigotos TC y homocigotos CC tienen el mismo riesgo:

$$\log[p/(1-p)] = \alpha + \beta D_o + \gamma Z.$$

En el modelo recesivo, dos copias de C son necesarias para modificar el riesgo; siendo así, heterocigotos y homocigotos del alelo más frecuente (TT) tienen el mismo riesgo:

$$\log[p/(1-p)] = \alpha + \beta R_e + \gamma Z.$$

Por su parte, el modelo aditivo presume que cada copia de C modifica el riesgo en forma aditiva; siendo así, los homocigotos CC tienen doble riesgo (2) que los heterocigotos TC (1):

$$\log[p/(1-p)] = \alpha + \beta A_d + \gamma Z.$$

Finalmente, el modelo codominante es el más común. Cada genotipo supondrá un riesgo diferente para la enfermedad y no aditivo, en este modelo los heterocigotos (He) y las variantes homocigotas (Va) son comparadas con los homocigotos del alelo más frecuente:

$$\log[p/(1-p)] = \alpha + \beta_1 H_e + \beta_2 V_a + \gamma Z.$$

Para el análisis multivariado, se incluyeron las variables con un valor de  $p \leq 0.15$  en el análisis descriptivo y se reportaron solamente los modelos más parsimoniosos. Se reportaron las razones de momios (por sus siglas en inglés OR, odds ratio) con sus intervalos de confianza al 95% (IC 95%) y los valores de  $P$  con un nivel Alfa de 0.05. Los programas STATA/SE versión 10.0 e IBM SPSS versión 24 se usaron para realizar los cálculos. Las frecuencias de haplotipos se estimaron con el programa HaploView versión 4.2.

## Capítulo 4 – Resultados

La población estudiada incluyó 383 muestras consistentes en 182 casos con FRD y 201 controles. Cada muestra de DNA se analizó con la sonda para cada uno de los 11 SNPs incluidos en el estudio. Las características de la población incluyendo estadísticas descriptivas se presentan en la Tabla 10. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre casos y controles con respecto a la edad promedio, IMC, años desde la menopausia, así como DMO de columna lumbar y total de cadera (valor de  $P < 0.05$ ).

Tabla 10. Características Demográficas de los Sujetos de Estudio. Incluye estadísticas descriptivas comparando ambos grupos.			
	Sujetos con FRD (casos)	Sujetos sin FRD (controles)	Valor de $P$ (T-Student)
N	182	201	
Características Generales	(Promedio±DS)	(Promedio±DS)	
Edad (años)	66±11.2	58.1±8.4	1.11575E-13
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	27.1±5.2	28.7±4	0.00073365
Edad de menarca (años)	12.9±1.6	12.7±1.8	0.31720828
Años desde la menopausia	18.5±12.28	9.4±9.14	6.56766E-15
DMO			
Columna lumbar, L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	0.513±0.378	1.053±0.257	2.03296E-42
Cadera total (g/cm <sup>2</sup> )	0.431±0.319	0.876±0.205	3.90737E-43

FRD: fractura de radio distal. N: número de sujetos. DS: Desviación estándar. IMC: índice de masa corporal. DMO: densidad mineral ósea.

Dos SNPs candidatos de *COL1A1* (rs1800012 y rs2412298) no se encontraron en HWE (valor de  $P < 0.05$ ). Los SNPs restantes no mostraron desviaciones del HWE. La Tabla 11 ilustra las frecuencias alélicas de los polimorfismos analizados. Para el polimorfismo rs1800012, el alelo G se asoció con FRD [OR 2.4 (I.C. 1.5-4.0,  $p < 0.0001$ )], sin embargo, este SNP mostró una desviación significativa del HWE. Un segundo polimorfismo del *COL1A1*, el rs1107946, tuvo el alelo A asociado con FRD [OR 2.9 (I.C. 2.1-4.0,  $p < 0.0001$ )]. Por otro lado, los dos polimorfismos

del gen *CCDC170* mostraron riesgo de asociación con FRD, primero en el rs9479055 el alelo A mostró una OR de 1.4 (I.C. 1.1-2.0, p 0.008), y después, en el rs4870044 el alelo T tuvo una OR de 1.6 (I.C. 1.2-2.1, p 0.001). Dos SNPs más del gen *ESR1* estuvieron asociados con FRD, en cuanto al rs3020331 el alelo C [OR 1.5 (I.C. 1.1-2.0, p 0.012)], y en el rs851982 el alelo C [OR 2.0 (I.C. 1.5-2.7, p <0.0001)].

<b>Tabla 11. Frecuencias Alélicas y Equilibrio de Hardy-Weinberg en el Estudio.</b>					
<i>Gen/SNP</i>	FRD Casos n (%)	Controles n (%)	OR (IC 95%)	Valor de <i>P</i>	Valor de <i>P</i> del EHW
<b><i>COL1A1/rs1800012</i></b>	n=181	n=196			<b>0.011030</b>
G	333 (0.92)	324 (0.83)	<b>2.4 (1.5-4.0)</b>	<b>0.000130815</b>	
T	29 (0.08)	68 (0.17)	0.4 (0.2-0.7)		
<b><i>COL1A1/rs2075555</i></b>	n= 182	n= 196			0.544238
C	239 (0.66)	261 (0.67)	0.9 (0.7-1.3)	0.79133678	
A	125 (0.34)	131 (0.33)	1.0 (0.8-1.4)		
<b><i>COL1A1/rs2412298</i></b>	n= 182	n= 198			<b>4.143358E-39</b>
G	183 (0.50)	195 (0.49)	1.0 (0.8-1.4)	0.777297411	
A	181 (0.50)	201 (0.51)	0.9 (0.7-1.3)		
<b><i>COL1A1/rs1107946</i></b>	n= 182	n= 196			0.821666
C	193 (0.53)	301 (0.77)	0.3 (0.2-0.5)	<b>6.84961E-12</b>	
A	171 (0.48)	91 (0.23)	<b>2.9 (2.1-4.0)</b>		
<b><i>CCDC170/rs9479055</i></b>	n= 182	n= 197			0.633078
C	131 (0.36)	179 (0.45)	0.7 (0.5-0.9)	<b>0.008242561</b>	
A	233 (0.64)	215 (0.55)	<b>1.4 (1.1-2.0)</b>		
<b><i>CCDC170/rs4870044</i></b>	n= 182	n= 197			0.837846
T	191 (0.53)	162 (0.41)	<b>1.6 (1.2-2.1)</b>	<b>0.001735655</b>	
C	173 (0.47)	232 (0.59)	0.6 (0.5-0.8)		
<b><i>ESR1/rs3020331</i></b>	n= 182	n= 197			0.984436
C	156 (0.70)	243 (0.62)	<b>1.5 (1.1-2.0)</b>	<b>0.012073797</b>	
T	108 (0.30)	151 (0.38)	0.7 (0.5-0.9)		
<b><i>ESR1/rs851982</i></b>	n= 182	n= 197			0.897575
T	167 (0.46)	247 (0.63)	0.5 (0.4-0.7)	<b>3.41146E-06</b>	
C	197 (0.54)	147 (0.37)	<b>2.0 (1.5-2.7)</b>		
<b><i>ESR1/rs1999805</i></b>	n= 182	n= 197			0.134689
G	185 (0.51)	198 (0.50)	1.0 (0.8-1.4)	0.887537084	
A	179 (0.49)	196 (0.50)	1.0 (0.7-1.3)		
<b><i>ESR1/rs2234693</i></b>	n= 180	n= 196			0.126693
T	252 (0.70)	260 (0.66)	1.2 (0.9-1.6)	0.279401241	
C	108 (0.30)	132 (0.33)	0.8 (0.6-1.2)		
<b><i>ESR1/rs3020404</i></b>	n= 182	n= 197			0.120176
A	210 (0.58)	209 (0.53)	1.2 (0.9-1.6)	0.198958931	
G	154 (0.42)	185 (0.47)	0.8 (0.6-1.1)		

OR: odds ratio (razón de momios); IC: intervalo de confianza.

Las frecuencias genotípicas y modelos de heredabilidad se presentan en la Tabla 12. Los resultados de los SNPs de COL1A1 rs1800012 y rs2412298 se describen también en la tabla, sin embargo, aquellos no estuvieron en HWE. Para los dos SNPs de COL1A1 restantes, encontramos: en el caso del rs1107946, los genotipos CC [OR 0.1 (I.C. 0.07-0.2,  $p < 0.0001$ )] y AC [OR 5.7 (I.C. 3.6-8.9,  $p < 0.0001$ )], mostró asociación con FRD bajo los modelos codominante y dominante [OR 8.1 (I.C. 4.9-13.4,  $p < 0.0001$ )]. Bajo el modelo aditivo se mostró asociación con FRD [OR 7.0 (I.C. 4.4-11.1,  $p < 0.001$ )]. Tras el ajuste por edad, IMC, y años desde la menopausia las asociaciones se mantuvieron. Para el rs2075555, no se encontró asociación tanto en el modelo no ajustado como en el ajustado.

<b>Tabla 12. Frecuencias Genotípicas y Modelos de Heredabilidad Asociados con FRD.</b>								
Gen/Modelo	SNP/Genotipo	Casos n (%)	Controles n (%)	OR (IC 95%) <sup>a</sup>	Valor de P	OR (IC 95%) <sup>b</sup>	Valor de P	
<i>COL1A1</i>	<b>rs1800012</b>	181 (100)	196 (100)					
Codominante								
	GG	154 (85.1)	139 (70.9)	1.0		1.0		
	GT	25 (13.8)	46 (23.5)	<b>0.5 (0.3-0.9)</b>	<b>0.01657</b>	<b>0.5 (0.3-0.9)</b>	<b>0.00164</b>	
	TT	2 (1.1)	11 (5.6)	<b>0.2 (0.0-0.8)</b>	<b>0.01656</b>	<b>0.2 (0.0-0.8)</b>	<b>0.02641</b>	
Dominante								
	GG	154 (85.1)	139 (70.9)	1.0		1.0		
	GT/TT	27 (14.9)	57 (29.1)	<b>2.3 (1.4-3.9)</b>	<b>0.00115</b>	<b>2.5 (1.4-4.3)</b>	<b>0.00163</b>	
Recesivo								
	GG/GT	179 (98.9)	185 (94.4)	1.0		1.0		
	TT	2 (1.1)	11 (5.6)	<b>5.3 (1.2-24.3)</b>	<b>0.03155</b>	<b>5.7 (1.2-27.1)</b>	<b>0.0264</b>	
Aditivo								
				<b>0.4 (0.3-0.7)</b>	<b>0.00058</b>	<b>0.4 (0.3-0.7)</b>	<b>0.00077</b>	
<i>COL1A1</i>	<b>rs2075555</b>	182 (100)	196 (100)					
Codominante								
	CC	74 (40.7)	85 (43.4)	1.0		1.0		
	CA	91 (50.0)	91 (46.4)	1.1(0.8-1.7)	0.48747	1.3 (0.8-2)	0.2501	
	AA	17 (9.3)	20 (10.2)	0.9 (0.4-1.8)	0.7777	0.8(0.4-1.6)	0.471	
Dominante								
	CC	74 (40.6)	85 (43.4)	1.0		1.0		
	CA/AA	108 (59.3)	111 (56.6)	1.1 (0.7-1.7)	0.59611	1.2 (0.7-1.9)	0.47152	
Recesivo								
	CC/CA	165 (90.6)	176 (89.8)	1.0		1.0		
	AA	17 (9.3)	20 (10.2)	0.9 (0.4-1.8)	0.77947	0.8 (0.4-1.6)	0.47152	
Aditivo								
				1.0 (0.8-1.4)	0.77947	1.0 (0.7-1.5)	0.83366	

<b>Tabla 12. Frecuencias Genotípicas y Modelos de Heredabilidad Asociados con FRD.</b>								
<i>Gen/Modelo</i>	<i>SNP/Genotipo</i>	<i>Casos n (%)</i>	<i>Controles n (%)</i>	<i>OR (IC 95%)<sup>a</sup></i>	<i>Valor de P</i>	<i>OR (IC 95%)<sup>b</sup></i>	<i>Valor de P</i>	
<b>COL1A1</b>	<b>rs2412298</b>	182 (100)	198 (100)					
Codominante								
	GG	2 (1.1)	2 (1.0)	1.0		1.0		
	GA	179 (98.4)	191 (96.5)	2.1(0.6-8.5)	0.2509	2.5(0.5-12.2)	0.2460	
	AA	1 (0.5)	5 (2.5)	0.2(0.02-1.8)	0.1227	0.1(0.0-1.4)	0.0872	
Dominante								
	GG	2 (1.1)	2 (1.0)	1.0		1.0		
	GA/AA	180 (98.9)	196 (98.9)	0.9 (0.1-6.6)	0.93623	0.7 (0.08-6.1)	0.76417	
Recesivo								
	GG/GA	181 (99.4)	193 (97.5)	1.0		1.0		
	AA	1 (0.6)	5 (2.5)	0.2 (0.02-1.8)	0.16151	0.1 (0.01-1.4)	0.08726	
Aditivo								
				0.4 (0.1-1.7)	0.22627	0.3 (0.1-1.4)	0.13104	
<b>COL1A1</b>	<b>rs1107946</b>	182 (100)	196 (100)					
Codominante								
	CC	27 (14.8)	115(58.7)	<b>0.1 (0.07-0.2)</b>	<b>1.42E-18</b>	<b>0.1 (0.05-0.2)</b>	<b>1.35E-15</b>	
	CA	139 (76.4)	71 (36.2)	<b>5.7 (3.6-8.9)</b>	<b>4.18E-15</b>	<b>7.8 (4.5-13.3)</b>	<b>4.70E-14</b>	
	AA	16 (8.7)	10 (5.1)	1.8 (0.8-4.0)	0.1567	1.5 (0.6-3.7)	0.357573	
Dominante								
	CC	27 (14.8)	115 (58.7)	1.0		1.0		
	CA/AA	155 (85.2)	81 (41.3)	<b>8.1 (4.9-13.4)</b>	<b>1.46E-16</b>	<b>10.8 (6.0-19.4)</b>	<b>1.35E-15</b>	
Recesivo								
	CC/CA	166 (91.2)	186 (94.9)	1.0		1.0		
	AA	16 (8.8)	10 (5.1)	1.8 (0.8-4.0)	0.16151	1.5 (0.6-3.7)	0.35757	
Aditivo								
				<b>7.0 (4.4-11.1)</b>	<b>6.83E-17</b>	<b>9.1 (5.4-15.5)</b>	<b>2.61E-16</b>	
<b>CCDC170</b>	<b>rs9479055</b>	182 (100)	197 (100)					
Codominante								
	AA	62 (34.1)	57 (28.9)	1.0		1.0		
	AC	109 (59.9)	101 (51.3)	1.4(0.9-2.1)	0.0916	1.4(0.9-2.2)	0.1310	
	CC	11 (6.0)	39 (19.8)	<b>0.3(0.1-0.5)</b>	<b>7.74E-05</b>	<b>0.3(0.1-0.6)</b>	<b>0.0007</b>	
Dominante								
	AA	62(34.1)	57(28.9)	1.0		1.0		
	AC/CC	120 (65.9)	140 (71.1)	1.3 (0.8-1.9)	0.28461	1.3 (0.8-2)	0.34211	
Recesivo								
	AA/AC	171 (94)	158 (80.2)	1.0		1.0		
	CC	11 (6)	39 (19.8)	<b>3.8 (1.8-7.7)</b>	<b>0.000177</b>	<b>3.7 (1.7-7.9)</b>	<b>0.000752</b>	
Aditivo								
				<b>0.6 (0.4-0.9)</b>	<b>0.00465</b>	<b>0.6 (0.4-0.9)</b>	<b>0.01173</b>	
<b>CCDC170</b>	<b>rs4870044</b>	182 (100)	197 (100)					
Codominante								
	TT	27 (14.8)	34 (17.3)	1.0		1.0		
	TC	137 (75.2)	94 (47.7)	<b>3.3(2.1-5.2)</b>	<b>3.92E-08</b>	<b>3.4(2.0-5.5)</b>	<b>8.22E-07</b>	
	CC	18 (9.9)	69 (35.0)	<b>0.2(0.1-0.3)</b>	<b>6.12E-09</b>	<b>0.2(0.1-0.4)</b>	<b>7.42E-07</b>	

<b>Tabla 12. Frecuencias Genotípicas y Modelos de Heredabilidad Asociados con FRD.</b>								
Gen/ Modelo	SNP/ Genotipo	Casos n (%)	Controles n (%)	OR (IC 95%) <sup>a</sup>	Valor de P	OR (IC 95%) <sup>b</sup>	Valor de P	
<b>Dominante</b>								
	TT	27 (14.8)	34 (17.3)	1.0		1.0		
	TC/CC	155 (85.2)	163 (82.7)	1.2 (0.7-2.1)	0.52217	1.2 (0.7-2.3)	0.45325	
<b>Recesivo</b>								
	TT/TC	164 (90.1)	128 (65)	1.0		1.0		
	CC	18 (9.9)	69 (35)	<b>0.19 (0.1-0.3)</b>	<b>4.02E-08</b>	<b>0.2 (0.1-0.4)</b>	<b>7.42E-07</b>	
<b>Aditivo</b>								
				<b>1.8 (1.3-2.6)</b>	<b>0.00046</b>	<b>1.7 (1.2-2.5)</b>	<b>0.00261</b>	
<i>ESR1</i>	<b>rs3020331</b>	182(100)	197(100)					
<b>Codominante</b>								
	CC	74 (40.6)	75 (38.1)	1.0		1.0		
	CT	108 (59.3)	93 (47.2)	<b>1.6(1.1-2.4)</b>	<b>0.018</b>	<b>1.7(1.1-2.7)</b>	<b>0.0146</b>	
	TT	0 (0)	29 (14.7)	NA	NA	NA	NA	
<b>Dominante</b>								
	CC	74 (40.7)	75 (38.1)	1.0		1.0		
	CT/TT	108 (59.3)	122 (61.9)	1.1 (0.7-1.7)	0.60306	1.0 (0.7-1.7)	0.81033	
<b>Recesivo</b>								
	CC/CT	182 (100)	168 (85.3)	1.0		1.0		
	TT	0 (0)	29 (14.7)	NA	NA	NA	NA	
<b>Aditivo</b>								
				<b>0.6 (0.4-0.9)</b>	<b>0.00596</b>	<b>0.6 (0.4-0.9)</b>	<b>0.01778</b>	
<i>ESR1</i>	<b>rs851982</b>	182(100)	197(100)					
<b>Codominante</b>								
	CC	23 (12.6)	27 (13.7)	1.0		1.0		
	CT	151 (83)	93 (47.2)	<b>5.4 (3.3-8.7)</b>	<b>3.78E-13</b>	<b>6.3 (3.7-11.0)</b>	<b>2.23E-11</b>	
	TT	8 (4.4)	77 (39.1)	<b>0.1 (0.03-0.2)</b>	<b>5.99E-16</b>	<b>0.1 (0.03-0.2)</b>	<b>1.55E-10</b>	
<b>Dominante</b>								
	CC	23 (12.6)	27 (13.7)	1.0		1.0		
	CT/TT	159 (87.4)	170 (86.3)	0.9 (0.5-1.6)	0.75656	0.8 (0.4-1.5)	0.4593	
<b>Recesivo</b>								
	CC/CT	174 (95.6)	120 (60.9)	1.0		1.0		
	TT	8 (4.4)	77 (39.1)	<b>13.9(6.5-30)</b>	<b>1.38E-11</b>	<b>14.4 (6.4-32.6)</b>	<b>1.55E-10</b>	
<b>Aditivo</b>								
				<b>0.3 (0.2-0.5)</b>	<b>1.16E-07</b>	<b>0.4 (0.2-0.5)</b>	<b>2.25E-06</b>	
<i>ESR1</i>	<b>rs1999805</b>	182(100)	199(100)					
<b>Codominante</b>								
	GG	50 (27.5)	54 (27.4)	1.0		1.0		
	AG	79 (43.4)	88 (44.7)	0.9 (0.6-1.4)	0.8044	1.0 (0.6-1.5)	0.9124	
	AA	53 (29.1)	57 (27.9)	1.0 (0.6-1.6)	0.9887	0.9 (0.5-1.4)	0.5823	
<b>Dominante</b>								
	GG	50 (27.5)	54 (27.4)	1.0		1.0		
	GA/AA	132 (72.5)	145 (72.6)	0.9 (0.6-1.5)	0.79486	0.8 (0.5-1.4)	0.50925	
<b>Recesivo</b>								
	GG/GA	129 (70.8)	142 (72.1)	1.0		1.0		
	AA	53 (29.1)	57 (27.9)	1.0 (0.6-1.6)	0.99202	0.9 (0.5-1.4)	0.58231	
<b>Aditivo</b>								
				1.0 (0.8-1.3)	0.88076	1.1 (0.8-1.5)	0.46539	

<b>Tabla 12. Frecuencias Genotípicas y Modelos de Heredabilidad Asociados con FRD.</b>								
Gen/ Modelo	SNP/ Genotipo	Casos (%)	n	Controles n (%)	OR (IC 95%) <sup>a</sup>	Valor de P	OR (IC 95%) <sup>b</sup>	Valor de P
<i>ESR1</i>	<b>rs2234693</b>	180(100)		196(100)				
Codominante								
	TT	91 (50.6)		91 (46.4)	1.0		1.0	
	CT	70 (38.9)		78 (39.8)	1.0(0.6-1.4)	0.8573	1.1(0.7-1.8)	0.5823
	CC	19 (10.6)		27 (13.8)	0.7(0.4-1.4)	0.3411	<b>0.4(0.2-0.9)</b>	<b>0.0307</b>
Dominante								
	TT	91 (50.6)		91 (46.4)	1.0		1.0	
	TC/CC	89 (49.4)		105 (53.6)	0.8 (0.6-1.3)	0.42371	0.8 (0.5-1.3)	0.3843
Recesivo								
	TT/TC	161 (89.4)		169 (86.2)	1.0		1.0	
	CC	19 (10.6)		27 (13.8)	0.7 (0.4-1.4)	0.3421	<b>0.4 (0.2-0.9)</b>	<b>0.03077</b>
Aditivo								
					1.2 (0.9-1.6)	0.30301	1.3 (0.9-1.8)	0.09691
<i>ESR1</i>	<b>rs3020404</b>	182(100)		197(100)				
Codominante								
	AA	45 (24.7)		50 (25.4)	1.0		1.0	
	AG	120 (65.9)		109 (55.3)	<b>1.6(1.0-2.4)</b>	<b>0.0349</b>	1.5(0.9-2.4)	0.0784
	GG	17 (9.3)		38 (19.3)	<b>0.4(0.2-0.8)</b>	<b>0.0060</b>	0.5(0.3-1.0)	0.0511
Dominante								
	AA	45 (24.7)		50 (25.4)	1.0		1.0	
	AG/GG	137 (75.3)		147 (74.6)	0.9 (0.6-1.5)	0.88076	0.9 (0.5-1.5)	0.70394
Recesivo								
	AA/AG	165 (90.7)		158 (80.7)	1.0		1.0	
	GG	17 (9.3)		38 (19.3)	<b>2.3 (1.2-4.3)</b>	<b>0.00714</b>	1.9 (0.9-3.7)	0.05117
Aditivo								
					0.8 (0.6-1.1)	0.14705	0.8 (0.6-1.2)	0.39532

a: Razones de momios e intervalos de confianza al 95% sin ajustar [OR (95% IC)].

b: OR (IC 95%) ajustados para edad, índice de masa corporal y años desde la menopausia.

En negritas se resaltan los resultados estadísticamente significativos.

Ambos SNPs del *CCDC170* se asociaron con FRD, para el rs9479055 bajo el modelo codominante, se encontró el genotipo CC protector vs FRD [OR 0.3 (I.C. 0.1-0.5 p <0.001)], mientras que el modelo recesivo se asoció con FRD [OR 3.8 (I.C. 1.8-7.7, p <0.001)]. Bajo el modelo aditivo se mostró que es protector contra FRD [OR 0.6 (I.C. 0.4-0.9, p 0.004)]. Para el rs4870044, bajo el modelo codominante el genotipo CC se asoció con protección [OR 0.2 (I.C. 0.1-0.3, p <0.001)] y el heterocigoto CT se asoció con riesgo de FRD [OR 3.3 (I.C. 2.1-5.2, p <0.001)]. Por otro lado, el modelo recesivo se asoció con protección contra FRD [OR 0.19 (I.C. 0.1-0.3, p <0.001)], y el modelo aditivo se asoció con riesgo para FRD [OR 1.8 (I.C. 1.3-2.6, p

<0.001)] Estos resultados permanecieron significativos tras el ajuste para edad, IMC y años desde la menopausia.

Para los SNPs del gen *ESRI*, el heterocigoto CT del SNP rs3020331 mostro aumento en el riesgo para FRD en el modelo codominante [OR 1.6 (I.C. 1.1-2.4, p 0.018)], mientras que el modelo aditivo fue protector contra FRD [OR 0.6 (I.C. 0.4-0.9, p 0.005)]. El heterocigoto CT del rs851982 mostró un aumento en el riesgo para FRD en el modelo codominante [OR 5.4 (C.I. 3.3-8.7, p <0.001)], y en el modelo recesivo [OR 13.9 (I.C. 6.5-30, p <0.001)], mientras que el modelo codominante para el homocigoto TT mostró protección contra FRD [OR 0.1 (I.C. 0.03-0.2, p <0.001), así como por el modelo aditivo [OR 0.3 (I.C. 0.2-0.5, p <0.001)]. Los resultados se mantuvieron tras realizar el análisis ajustado. En cuanto al SNP rs1999805, no existió asociación bajo ningún modelo. Durante el análisis para el SNP rs2234693 los resultados sin ajustar no mostraron ninguna asociación. Sin embargo, tras ajustar para edad, IMC y años desde la menopausia, el genotipo CC, bajo los modelos codominante y recesivo, mostraron asociación protectora para FRD, con [OR 0.4 (I.C. 0.2-0.9, p 0.03)] y [OR 0.4 (I.C. 0.2-0.9, p 0.03)] respectivamente. Finalmente, el heterocigoto AG del SNP rs3020404 mostró un aumento en el riesgo de FRD en el modelo codominante [OR 1.6 (C.I. 1.0-2.4, p 0.034)] y el homocigoto GG mostró ser protector [OR 0.4 (C.I. 0.2-0.8, p 0.006)], bajo un modelo recesivo se asoció con riesgo para FRD en el análisis no ajustado [OR 2.3 (I.C 1.2-4.3, p 0.007), sin embargo, todas las asociaciones de este SNP se perdieron tras el ajuste del análisis.

Acerca del análisis de haplotipos para asociación con FRD, la construcción de los haplotipos fue considerada sólo para los nueve SNPs que tuvieron HWE. Para el cálculo de la OR, solo se reportaron los haplotipos que mostraron significancia estadística (Tabla 13). Dos polimorfismos del gen *COL1A1* se utilizaron para la construcción de haplotipos (rs2075555 el rs1107946), de los

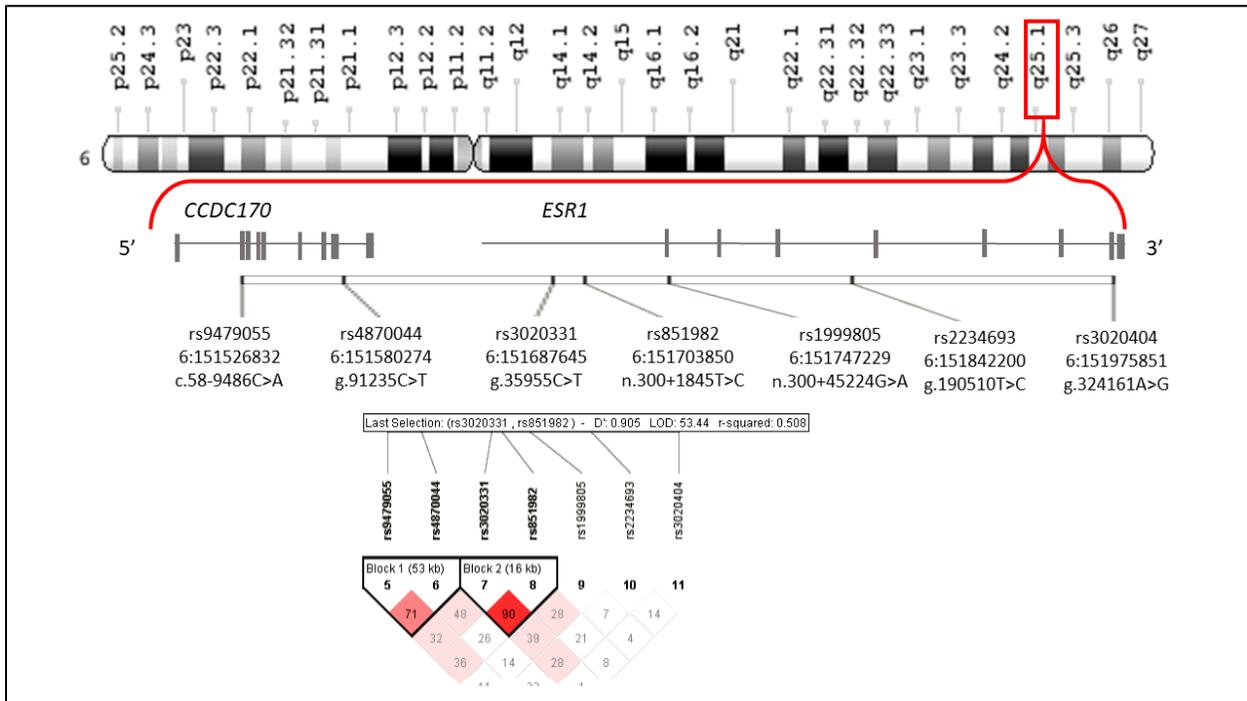
cuatro posibles haplotipos alélicos, CC y AC mostraron asociación protectora para FRD [OR 0.5 (C.I. 0.4-0.7,  $p < 0.001$ )] y [OR 0.3 (C.I. 0.2-0.6,  $p < 0.001$ )] respectivamente. Los otros dos, AA y CA mostraron una fuerte asociación con FRD [OR 1.6 (C.I. 1.1-2.3,  $p = 0.004$ )] y [OR 7.9 (C.I. 3.9-17.7,  $p < 0.001$ )] respectivamente. Para el gen *CCDC170*, solo dos haplotipos mostraron asociación, el haplotipo AT mostró una fuerte asociación con casos [OR 4.7 (C.I. 2.8-8.4,  $p < 0.001$ )] y el haplotipo CC mostró asociación protectora contra FRD [OR 0.4 (C.I. 0.2-0.7,  $p = 0.003$ )]. Para el análisis de haplotipos del gen *ESR1*, hubo 22 combinaciones posibles, 6 de las cuales mostraron una asociación muy fuerte para FRD y una más se asoció con protección contra FRD (Tabla 12).

**Tabla 13. Análisis de Haplotipos de los SNPs Estudiados.**

La tabla muestra únicamente los haplotipos con valores de  $p$  específicamente significativos.

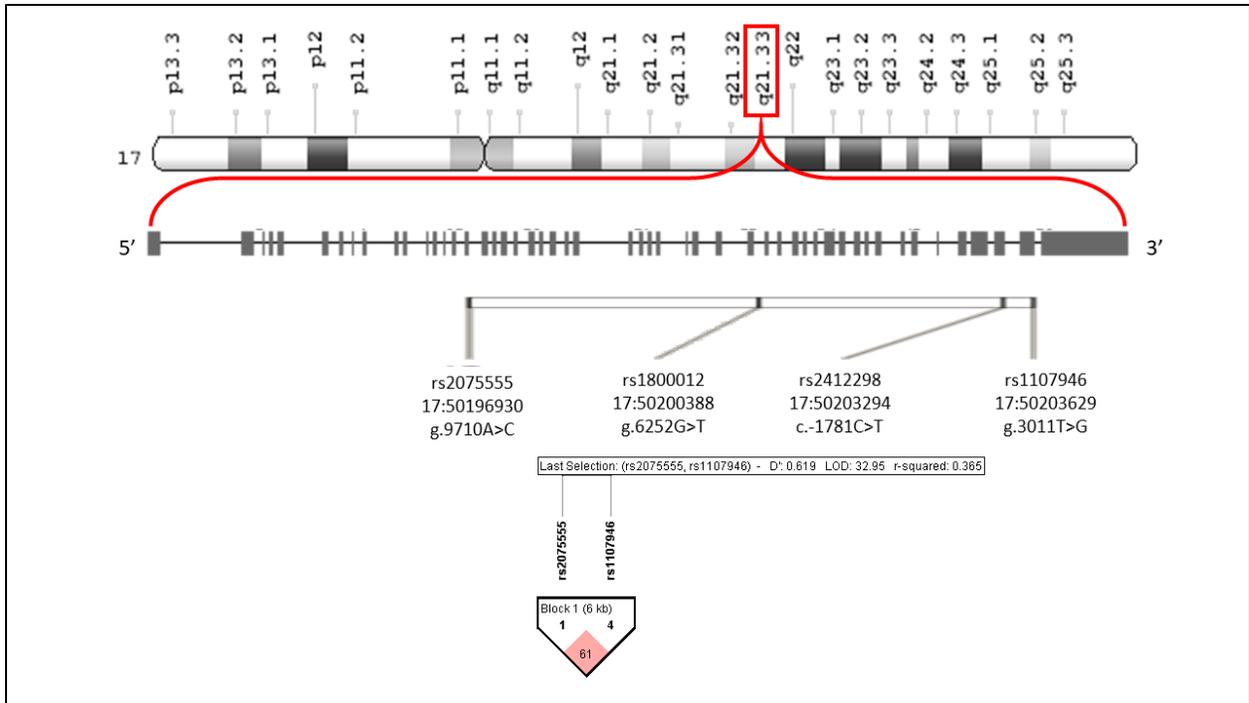
Gen/ Haplotipo	Frec.	Frec. Caso, Control	Valor de $P$	OR (IC 95%)
<i>COL1A1</i>				
CC	0.566	0.485, 0.641	1.40E-05	0.5 (0.4-0.7)
AA	0.251	0.298, 0.208	0.0043	1.6 (1.1-2.3)
CA	0.096	0.172, 0.025	5.47E-12	7.9 (3.9-17.7)
AC	0.088	0.046, 0.127	8.43E-05	0.3 (0.2-0.6)
<i>CCDC170</i>				
AT	0.124	0.204, 0.050	1.28E-10	4.7 (2.8-8.4)
CC	0.067	0.039, 0.093	0.003	0.4 (0.2-0.7)
<i>ESR1</i>				
CCGTA	0.041	0.080, 0.006	2.40E-07	16.9 (4.2-147.4)
TCGTA	0.029	0.015, 0.041	0.031	0.3 (0.1-0.9)
CCATG	0.023	0.044, 0.004	2.00E-04	18 (2.8-757)
CCGTG	0.018	0.036, 0.002	6.00E-04	14.5 (2.2-620)
CCATA	0.018	0.035, 0.002	6.00E-04	14.5 (2.2-620)
CCACA	0.015	0.028, 0.004	0.0077	5.5(1.2-52.2)
CCGCA	0.012	0.025, 0.004	0.0116	9.9(1.4-437.7)

De forma interesante, los seis haplotipos asociados con FRD comparten los alelos C para los SNPs. rs3020331 y rs851982. La región entre estos dos SNPs se encuentra en fuerte desequilibrio de ligamiento con una escala LOD de 53.44 y un valor de  $D'$ : 0.905, y una frecuencia del haplotipo CC del 13%. (Figura 18). En cuanto a los SNPs del gen *COL1A1*, localizados en el cromosoma 17, mostraron un valor de escala LOD de 32.95 y un valor de  $D'$ : 0.619. (Figura 19).



**Figura 18. Mapa del Cromosoma Humano 6 Mostrando los Genes Sinténicos *ESR1* y *CCDC170*.**

Estos genes están localizados en el locus 6q25.1. Los dos SNPs del *CCDC170* y los cinco del *ESR1* estudiados se muestran en un esquema que amplifica el loci. Al fondo, la gráfica de bloques muestra los valores  $D'$  de los SNPs considerados por el análisis de haplotipos.



**Figura 19. Mapa del Cromosoma Humano 17 Mostrando la Localización del Gen *COL1A1* en el Locus 17q21.33 y los 4 SNPs Estudiados.**

Se muestra una magnificación del locus conteniendo el SNP. Al fondo, la gráfica de bloques muestra los valores D' considerados para el análisis de haplotipos.

---

## CAPÍTULO 5 – DISCUSIÓN

---

Los estudios de asociación genética tienen como objetivo identificar variantes génicas asociadas con un rasgo específico en población abierta. El reconocimiento de estas variantes puede utilizarse para desarrollar nuevas estrategias para identificar población en riesgo.(Matzko, Bowen, and Smith 2012) Particularmente, en el caso de las FRD, su presentación es muy común en la población perimenopáusica. Debido a que su incidencia ha aumentado importantemente tras el envejecimiento poblacional, las FRD se han convertido en un importante tema de salud pública principalmente debido a los costos directos e indirectos, y en un alto porcentaje, cierto grado de discapacidad.(Patel and Rozental 2014) Los estudios genéticos tienen el potencial de identificar pacientes en riesgo antes de la lesión, y por lo tanto, poder implementar programas de prevención enfocados en disminuir la carga ocasionada por las fracturas de fragilidad en nuestras sociedades.(Matzko, Bowen, and Smith 2012) Como se irá mencionando en el presente capítulo, este estudio logró demostrar una asociación entre algunas variantes génicas y las FRD.

Varios genes se han asociado de forma independiente con la DMO y el riesgo de fractura. Entre ellos, los genes *COL1A1*, *ESR1* y el recientemente descubierto *CCDC170* parecen jugar un papel importante en el fenotipo óseo, la DMO y el riesgo de fractura. Sin embargo, los resultados de estudios cuyo objetivo es encontrar una relación entre estos genes y las fracturas son controversiales, con algunos resultados que reportan asociación y otros que fallan en demostrar cualquier relación importante. A pesar de los resultados controversiales, se sabe que las variaciones genéticas, especialmente los polimorfismos de un solo nucleótido pueden influir en la presencia de OP y fracturas. Más aún, la evidencia actual sugiere que la acción aditiva puede tener una influencia más importante sobre la causalidad de fracturas por fragilidad.

### Gen COL1A1.

Los SNPs y haplotipos del gen de *COL1A1* han demostrado relaciones con DMO y OP, pero una asociación directa con fracturas por fragilidad ha sido menos reportada, en algunas ocasiones debido al diseño de los estudios. Por ejemplo, el alelo de riesgo T del polimorfismo rs1800012 se ha encontrado asociado con DMO baja en varias poblaciones (Majchrzycki et al. 2015). Además, se ha observado asociación en diferentes regiones del esqueleto, incluyendo la columna lumbar (Singh et al. 2013; Rojano-Mejía et al. 2013; Falcón-Ramírez. et al. 2011) y el antebrazo distal (Van Pottelbergh et al. 2001). Con respecto al antebrazo, el hallazgo fue una DMO baja en hombres adultos mayores con el alelo G del rs1800012. En nuestro estudio, el alelo mayor (G), mostró una OR de riesgo para FRD, mientras que el alelo menor se asoció con protección. Sin embargo, el grupo control no se encontraba en HWE. Algunas posibles explicaciones para esto son estratificación de la población, mutaciones *de-novo* o deriva génica. La genotipificación fue revisada manualmente por dos de los autores y, por lo tanto, no consideramos estos resultados para posterior análisis.

El segundo polimorfismo analizado del gen *COL1A1* (rs2075555), fue señalado por un estudio GWAS de la cohorte Framingham como un nuevo locus candidato asociado con el ancho del cuello femoral en mujeres y con el ancho de la diáfisis femoral en hombres. (D. P. Kiel et al. 2007) En este estudio, no encontramos asociación del rs2075555 con FRD.

Con respecto al polimorfismo rs2412298 muy bien estudiado, un meta-análisis realizado por Zintzaras E et al. (Zintzaras et al. 2011) reportó tres estudios que fallaron en probar asociación con osteoporosis. Otro estudio proveniente del Reino Unido mostró que un haplotipo que contiene el alelo no favorable en los tres sitios polimórficos (-1997T/-1663delT/+1245T) que corresponden a los SNPs rs1107946, rs2412298 y rs1800012 se asocia con límite elástico, módulo y resistencia.

Este haplotipo estaba presente en 19/94 (20.2%) de las pacientes con fractura de cadera comparado con únicamente 2/3399 (0.06%) de las mujeres controles ( $p < 0.0001$ ). El análisis se realizó independientemente de la DMO, pero no se reportaron ORs. (H Jin et al. 2009)

En cuanto al último SNP de *COL1A1* analizado, el rs1107946, un estudio realizado en mujeres polacas, (Majchrzycki et al. 2015) incluyendo pacientes con diagnósticos de osteopenia y osteoporosis el genotipo *TT* se asoció con DMO baja. Ellos concluyeron que hay una tendencia para la menarca temprana en mujeres con osteoporosis y osteopenia en mujeres que poseen el genotipo *TT*. Sin embargo, no se reportó la OR. En mujeres del noroeste de la India, se observó un efecto de dosis de alelos con DMO de columna lumbar baja en las portadoras de *G*. El haplotipo *GT* (junto con el rs1800012) se ha asociado con un mayor riesgo de OP postmenopáusica. (Singh et al. 2013) En mujeres españolas, el cambio de *G* a *T* en el rs1107946 se asoció con la DMO de columna lumbar ( $p = 0.015$ ) al estudiarse en una cohorte de 256 mujeres posmenopáusicas tras ajustar el análisis para edad, peso corporal y años desde la menopausia. También fue detectado un menor grado de asociación para la DMO de cuello femoral en un subgrupo de 146 mujeres, en el análisis univariado tras ajustar por edad ( $p = 0.044$ ). (Garcia-Giralt et al. 2002) En mujeres japonesas, el genotipo *GT* afectó la DMO en varias regiones con una varianza de 0.46-0.62% para todas las mujeres y de 0.61-1.01% para mujeres postmenopáusicas. (Yamada et al. 2005) En un estudio realizado en mujeres mexicanas, no hubo asociación con OP, sin embargo el haplotipo *GG* (con el rs1800012) mostró estar asociado con una mayor DMO lumbar. (No se reportó OR). (Rojano-Mejía et al. 2013)

#### Gen *CCDC170*.

De forma interesante, ambos SNPs del gen *CCDC170* analizados en este estudio presentaron asociación con FRD, a diferencia de un previo estudio en población mexicana que no mostró

asociación del rs94479055 con DMO femoral y de columna lumbar. (Ávila-Rodríguez 2014) Este resultado puede interpretarse como que tanto la DMO como la FRD son rasgos independientes, además la DMO es sitio-específica, por lo que posee diferentes valores en distintas regiones corporales. Este mismo SNP fue estudiado en mujeres chinas del clan han en las que el alelo *C* mostró asociación con fracturas por OP, así como DMO de columna lumbar, replicando resultados previos en población europea.(Liu et al. 2010)

El SNP rs4870044 mostró a su vez asociación con DMO de columna lumbar, en la población completa del estudio islandés deCODE GWAS así como en la muestra de replicación.(Zhang et al. 2010) En la población noruega el rs4870044 se asoció con DMO de antebrazo y total de cadera en 1,674 mujeres y 1,276 hombres al ser ajustado para IMC y peso.(Martinaityte et al. 2017) Finalmente, en mujeres chinas, las homocigotas *CC* mostraron asociación con DMO total de cadera bajo un modelo dominante ( $P = 0.034$ ), pero no con fractura.(Luo et al. 2014) En nuestro estudio, se encontró que este SNP rs4870044 está asociado con FRD en mujeres mestizas mexicanas, de manera independiente a la DMO.

### Gen *ESRI*.

Acerca del polimorfismo rs3020331 del gen *ESRI* bajo el modelo aditivo mostraron asociación para FRD. Un estudio previo en mujeres mexicanas no encontró asociación con DMO bajo cualquier modelo.(Ávila-Rodríguez 2014) Por otro lado, en un estudio previo realizado en mujeres mexicanas, el SNP rs851982, se encontró en asociación con DMO total de cadera, de cuello femoral y de columna lumbar.(Ávila-Rodríguez 2014) En nuestra muestra este SNP mostró una fuerte asociación con FRD usando el modelo dominante. Estos resultados pueden utilizarse en próximos estudios para investigar el valor de este SNP como marcador biológico para DMO y FRD en población mexicana.

En el caso del SNP rs1999805, no encontramos asociación con FRD, aun cuando Ávila encontró asociación con DMO total de cadera y de columna lumbar con el genotipo AA, mientras que altos valores de DMO del cuello femoral se relacionaron el genotipo AA.(Ávila-Rodríguez 2014) En mujeres chinas postmenopáusicas, el mismo polimorfismo se asoció con riesgo de fractura bajo el modelo recesivo, sin embargo en nuestro estudio no pudimos replicar este resultado.(Luo et al. 2014)

También incluimos en el estudio al rs2234693, también conocido como PvuII, localizado dentro del intrón 1 del gen *ESRI*, debido a que es un marcador común para DMO baja en diferentes poblaciones. Por ejemplo, en población búlgara se encontró que una mayor DMO en antebrazo distal (hueso cortical) y antebrazo ultra distal (hueso trabecular) se asociaron con individuos con el genotipo *TT* (alelo menor). El mismo estudio obtuvo un riesgo relativo (RR) de 1.35 para DMO baja en presencia de un marcador PvuII.(Ivanova et al. 2007) En un estudio en mujeres escocesas, un haplotipo común conocido como “*px*” (*TG*), y que se define por los SNPs PvuII y XbaI (*ESRI* SNP rs9340799: A>G) dentro del intron 1 del gen *ESRI*, se asoció con pérdida de masa ósea del cuello femoral ( $p=0.009$ ), menor DMO en cuello femoral ( $p=0.02$ ) y valores reducidos en DMO de calcáneo medida con ultrasonido ( $p=0.005$ ) en mujeres postmenopáusicas sin terapia de reemplazo hormonal.(Albagha et al. 2005) Por otro lado, un meta análisis que incluyó 8,467 mujeres y 2,302 hombres de 27 estudios encontró que el rs2234693 está asociado con la DMO de la columna lumbar. Los homocigotos *CC* tiene un efecto protector al ser comparados con los portadores de alelos *T*. El efecto más significativo está presente en mujeres premenopáusicas y del hemisferio occidental. Además, se encontró que el genotipo *CC* es un factor de riesgo para la DMO del cuello femoral en hombres y mujeres del hemisferio oriental.(Wang et al. 2012)

En cuanto al SNP rs3020404, encontramos asociación con FRD independientemente de la DMO, mientras que un estudio previo en población Mexicana del norte del país no pudo mostrar asociación con DMO en mujeres menopáusicas.(Ávila-Rodríguez 2014)

### Análisis de Haplotipos.

De forma interesante, los seis haplotipos asociados con FRD comparten los alelos *C* para los SNPs rs3020331 y rs851982. Estos dos SNPs se encuentran en un fuerte desequilibrio de ligamiento, con un logaritmo de las probabilidades (conocido por sus siglas en inglés LOD, de *logarithm of the odds*) cercano a 1.0, que significa que es probable que aquellos SNPs sean heredados juntos de forma más frecuente que la esperada. Este hallazgo resalta la importancia de esta región como un importante marcador para la población en riesgo.

Los estudios de haplotipos, interacción gen-gen y estudios de escala de riesgo genéticos pueden convertirse importantes en un futuro para poder elucidar si es que y como varios polimorfismos génicos afectan la salud ósea e intervienen en la osteoporosis y las fracturas.(Xie et al. 2015)

Uno de los pocos estudios previos en población mexicana (Ávila-Rodríguez 2014) se realizó en Nuevo León, en nuestro estudio, la mayoría de los casos y controles son del centro del país, lo cual reduce el riesgo de estratificación geográfica, pero lo hace difícil de comparar con estudios regionales. Otro estudio en población mexicana sugiere resultados diferentes,(Rojano-Mejía et al. 2013), sin embargo, aunque los autores concluyen que la muestra puede ser considerada como una muestra de toda la población mexicana, está demostrado por otros estudios que existen diferencias regionales, lo que limita los resultados al centro del país. Además, se trata de un estudio de cohorte, que no toma en cuenta ningún tipo de fractura. Las herramientas que podrían utilizarse para evitar estos problemas son aumentar la muestra o utilizar marcadores de ancestría. Un tamaño de muestra con suficiente poder estadístico es imprescindible para el éxito de estudios de asociación genética

para detectar genes causales de enfermedades complejas, sin embargo, con nuestro estudio podemos identificar genes marcadores que pueden acercarnos a los genes causales, como es el caso del presente estudio.

Las limitaciones del presente trabajo incluyen un tamaño de muestra relativamente pequeño, el número de casos calculados en el tamaño de muestra fue de 185, aun así, sólo logramos incluir 182 casos en los resultados, la pérdida de tres casos no afecta el resultado dado el número de controles conseguidos. Además, estudios en otras poblaciones han incluido muestras más grandes para encontrar riesgos pequeños. Sin embargo, creemos que estudios de replicación realizados en otras poblaciones serán más útiles que sólo aumentar el tamaño de la muestra, será más útil describir estas variantes en múltiples estudios independientes, porque un único reporte de asociación es casi siempre insuficiente para probar causalidad. Por lo tanto, la replicación es de vital importancia para confirmar un estudio como verdadero positivo. Segundo, la estratificación de la población mexicana siempre es una preocupación debido a su origen mestizo. Sin embargo, se han descrito diferencias entre las regiones norte, centro y sur del país. La población de este estudio es de la zona centro del país, lo cual reduce el riesgo de estratificación geográfica. También utilizamos un cuestionario validado para registrar variantes étnicas y antropométricas, así como ancestría.

---

## Conclusión

---

Nuestro estudio demostró una asociación entre diversas variantes genéticas y FRD, independientes de la DMO. Las FRD están asociadas con variantes genéticas de los genes *ESR1* (rs3020331, rs851982, rs1999805, rs2234693 y rs3020404), *CCDC170* (rs9479055 y rs4870044) y *COL1A1* (rs2075555 y rs1107946). También encontramos que los haplotipos del gen *ESR1* que comparten los alelos *CC* alelos de los SNPs rs3020331 y rs851982 están fuertemente asociados con FRD, independientemente de la DMO. Además, el fuerte desequilibrio de ligamiento (LD) hallado entre estos dos SNPs refuerza la importancia de esta región como un marcador potencial. Estos hallazgos aún tienen que ser replicados en una población diferente.

Dado que se ha demostrado una reducción en las tasas de sobrevida entre pacientes con FRD (Rozental et al. 2002) y a que el antecedente de una FRD previa predice un riesgo en el futuro de fracturas más graves (Klotzbuecher et al. 2000; Gehlbach et al. 2012) nuestros hallazgos pueden ser importantes para identificar mujeres mexicanas postmenopáusicas en riesgo de presentar futuras fracturas por fragilidad. Estos resultados pueden también tener un impacto benéfico en prevenir fracturas en la comunidad inmigrante con mayor crecimiento en los Estados Unidos. El potencial en identificar pacientes en riesgo permite una oportunidad única en intervenir y disminuir la carga futura secundaria a fracturas.

---

## Anexos

---

**Anexo 1.** Formato autorizado por el comité de bioética del INR para el registro de datos personales, el consentimiento informado, así como la recolección de datos que incluye cuestionarios previamente validados en población mexicana.



INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN

Servicio de Genética



Número de Registro: _____		
_____ Día	_____ Mes	_____ Año
		F M
_____ Apellido Paterno	_____ Apellido Materno	_____ Nombre (s)
		_____ Sexo

**Carta de consentimiento informado para la participación voluntaria en la línea de investigación relacionada con el análisis de la susceptibilidad genética relacionada con osteoporosis en la población mexicana de la cual se derivan los siguientes proyectos.**

- 1.- Polimorfismos génicos relacionados con osteoporosis de columna vertebral en mujeres mexicanas.
- 2.- Polimorfismos génicos relacionados con osteoporosis de cadera en mujeres mexicanas.
- 3.- Variaciones genéticas relacionadas con fracturas de antebrazo distal en mujeres mexicanas con y sin osteoporosis.

Consentimiento:

A través de la presente expreso mi autorización voluntaria para participar en los proyectos de investigación previamente mencionados a cargo de la Dra. Margarita Valdés Flores, quien es Investigador y Médico Adscrito al Servicio de Genética del Instituto Nacional de Rehabilitación. Mi autorización consiste en lo siguiente: Se me practicará una evaluación de la densidad mineral ósea de cadera y/o columna vertebral y/o antebrazo a través de una densitometría ósea, la cual es considerada un método diagnóstico confiable y no invasivo. Se me realizará además la toma de una muestra de sangre venosa periférica (3-6 ml) o bien un cepillado de mucosa oral, comprendo que cualquiera de las dos opciones representan un riesgo mínimo por lo que otorgo mi consentimiento. Esto se realizará con el propósito de extraer una muestra de mi DNA genómico total. Esta muestra formará parte de un banco de DNA que será resguardado en el Servicio de Genética del Instituto Nacional de Rehabilitación. Así mismo acepto que esta muestra de DNA sea utilizada para la realización de estudios moleculares de investigación relacionados con el estudio de polimorfismos génicos (características genéticas) relacionados con enfermedades poligénicas y multifactoriales como es la osteoporosis y que son comunes en la población mexicana. Me ha sido proporcionada una explicación clara de la importancia de conocer las características genéticas de la población mexicana, lo cual, entre otras cosas permitirá que a través de diferentes investigaciones pueda conocerse en forma más precisa el grado de susceptibilidad genética que nuestra población y en particular algunas familias presentan con relación a enfermedades que representan grandes problemas de salud en nuestro país y en el mundo, como son la obesidad, osteoporosis, artritis, hipertensión, diabetes, cáncer, etc.



Queda entendido que acepto que los diferentes resultados de los análisis moleculares podrán ser publicados en revistas de difusión científica y que de momento no tienen utilidad en la asistencia médica.

Reitero mi deseo de participar voluntariamente para la formación de este banco de DNA y acepto el uso en investigación médica que se dará a mi muestra de DNA. Por mi participación no recibiré beneficio económico ni de ningún otro tipo y se me ha informado que el declinar la invitación de participación no afectará la calidad de atención que recibo en el instituto.

Por otra parte, acepto proporcionar la siguiente información personal:

Confirmo que al menos las tres últimas generaciones de mi familia han vivido en esta área geográfica (especificar sitio de origen y residencia actual).

Lugar de origen del donador de la muestra	
Lugar de residencia del donador de la muestra	
Lugar de origen del padre	
Lugar de origen de la madre	
Lugar de origen del abuelo paterno	
Lugar de origen de la abuela paterna	
Lugar de origen del abuelo materno	
Lugar de origen de la abuela materna	

Nombre y firma del voluntario:

\_\_\_\_\_

Domicilio

\_\_\_\_\_

Teléfono (s) \_\_\_\_\_

Testigo 1

Testigo 2

Nombre

Nombre

Firma

Firma

Nombre y firma del responsable de la toma de muestra \_\_\_\_\_

Responsable del proyecto: Dra. Margarita Valdés Flores \_\_\_\_\_



# INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN

Servicio de Genética



## ETAPA 1

Formato de recolección de datos para factores de riesgo

Nombre \_\_\_\_\_

Institución \_\_\_\_\_

Número de expediente \_\_\_\_\_

Dirección actual \_\_\_\_\_  
Calle No. Ext. No. Int. Colonia

Delegación \_\_\_\_\_ CP \_\_\_\_\_

### 1.- Edad

Edad actual \_\_\_\_\_  
(multiplicar por 3 el primer número) Anotar resultado \_\_\_\_\_

Fecha de nacimiento \_\_\_\_\_  
dd mm aa Años \_\_\_\_\_ Meses \_\_\_\_\_

### 2.- Raza o grupo étnico al cual pertenece (marque una)

Afroamericana / Negra Americana \_\_\_\_\_ Anote 0 \_\_\_\_\_  
Caucásica \_\_\_\_\_ Hispánica \_\_\_\_\_ Asiática \_\_\_\_\_ Anote 5 \_\_\_\_\_

3.- En alguna ocasión le han diagnosticado o ha recibido tratamiento para artritis  
Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ Si contestó si anote 5 \_\_\_\_\_

### 4.- A partir de los 45 años. Ha sufrido alguna fractura en algunos de los siguientes sitios:

Cadera Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ Anote 4 \_\_\_\_\_  
Costilla Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ Anote 4 \_\_\_\_\_  
Muñeca Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

5.- En este momento o antes ha tomado estrógenos?  
Si \_\_\_\_\_ Anote 0 \_\_\_\_\_  
No \_\_\_\_\_ Anote 1 \_\_\_\_\_

Sume todos los puntos acumulados en todas las preguntas Subtotal \_\_\_\_\_

### 6.- Peso actual en kilogramos multiplicado por 2.2 y anote

Tome los 2 primeros números y restelo del subtotal Puntaje final \_\_\_\_\_

Si la calificación es 6 o más, se tienen posibilidades de presentar osteopenia u osteoporosis.



# INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN



## Servicio de Genética

Peso actual \_\_\_\_\_ Talla actual \_\_\_\_\_ IMC \_\_\_\_\_

Antecedente familiar de fractura de cadera, columna, muñeca u otros sitios. Especificar sitio de fractura y grado de parentesco.

\_\_\_\_\_

Antecedente personal de fractura de cadera, columna, muñeca u otro sitio anatómico. Especificar mecanismo de fractura y edad de presentación de la fractura.

\_\_\_\_\_

Tabaquismo activo

Fecha de inicio de tabaquismo. Especificar número de cigarrillos al día.

\_\_\_\_\_

Administración de corticoides a dosis mayores de 7.0 mg/día (prednisona o equivalente por más de tres meses). \_\_\_\_\_

Alcoholismo \_\_\_\_\_

Deterioro progresivo del estado físico o mental (o ambos) \_\_\_\_\_

Estado confusional crónico (demencia) \_\_\_\_\_

Disminución de la agudeza visual \_\_\_\_\_

Deterioro del estado general por enfermedades crónicas concomitantes.

\_\_\_\_\_

Administración prolongada de fármacos como benzodiazepinas, antihipertensivos, antidepresivos, analgésicos opiáceos u otros capaces de inducir mareo o hipotensión.

\_\_\_\_\_

Edad de primera menstruación \_\_\_\_\_ Fecha de última menstruación \_\_\_\_\_

Número de gestaciones \_\_\_\_\_ Partos \_\_\_\_\_ Abortos \_\_\_\_\_ Cesareas \_\_\_\_\_

Menopausia natural: Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ Menopausia quirúrgica: Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Reemplazo hormonal: No \_\_\_\_\_ Si \_\_\_\_\_ Duración: \_\_\_\_\_

Responsable de la aplicación del cuestionario: \_\_\_\_\_



# INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN



## Servicio de Genética

### Etapas

Ingesta de café: Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ Tazas al día \_\_\_\_\_ Tiempo (años) \_\_\_\_\_

Tipo: Descafeinado \_\_\_\_\_ Con cafeína \_\_\_\_\_

Ingesta de alcohol: No \_\_\_\_\_ Si \_\_\_\_\_ Ocasional \_\_\_\_\_ Cada semana \_\_\_\_\_

Ingesta de medicamentos: No \_\_\_\_\_ Si \_\_\_\_\_

Cuales (esteroides, anticonvulsivantes) \_\_\_\_\_

Duración (menos de un mes) \_\_\_\_\_ 1-6 meses \_\_\_\_\_ 6-12 meses \_\_\_\_\_ + 12 meses \_\_\_\_\_

Enfermedades concomitantes:

Hipertensión \_\_\_\_\_ Diabetes Mellitus \_\_\_\_\_ Artritis \_\_\_\_\_ Cáncer \_\_\_\_\_

Otras (cuales) \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Etapas 3****Grupo étnico:**Indígena Afroindígena Mestiza Caucásica Asiática  
Otra (especificar) \_\_\_\_\_**Origen de los progenitores:**

Lugar de origen del padre: \_\_\_\_\_

Lugar de origen de la madre: \_\_\_\_\_

Lugar de origen del abuelo paterno: \_\_\_\_\_

Lugar de origen de la abuela paterna: \_\_\_\_\_

Lugar de origen del abuelo materno: \_\_\_\_\_

Lugar de origen de la abuela materna: \_\_\_\_\_

**Color de piel:**

Negra \_\_\_\_\_ Morena oscura \_\_\_\_\_ Morena clara \_\_\_\_\_ Blanca \_\_\_\_\_

**Color de cabello:**

Negro \_\_\_\_\_ Castaño oscuro \_\_\_\_\_ Castaño claro \_\_\_\_\_ Rubio \_\_\_\_\_ Pelirrojo \_\_\_\_\_

**Tipo de cabello:**Grueso \_\_\_\_\_ Delgado \_\_\_\_\_ Lacio \_\_\_\_\_ Ondulado \_\_\_\_\_ Rizado \_\_\_\_\_**Ojos:**

Grandes \_\_\_\_\_ Regulares \_\_\_\_\_ Pequeños \_\_\_\_\_ Redondos \_\_\_\_\_ Ovalados \_\_\_\_\_ Rasgados \_\_\_\_\_

**Color de ojos:**

Negros \_\_\_\_\_ Café oscuro \_\_\_\_\_ Café claro \_\_\_\_\_ Verde \_\_\_\_\_ Azul \_\_\_\_\_

**Nariz:**Grande \_\_\_\_\_ Regular \_\_\_\_\_ Pequeña \_\_\_\_\_ Recta \_\_\_\_\_ Aguzada \_\_\_\_\_Base amplia \_\_\_\_\_ Base angosta \_\_\_\_\_ Puente nasal deprimido: Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_**Aspecto general de los rasgos faciales:**

Negroides: Piel oscura, nariz de base amplia y achatada, labios gruesos, cabello grueso.

Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Indígenas: Piel morena con escaso vello, cabello lacio, ojos pequeños.

Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Mestizas: Piel morena clara o blanca, labios regulares o delgados.

Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

Caucasoides: Piel blanca, nacimiento de barba cerrada y/o bigote, labios delgados, cabello delgado.

Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

**Actividad física:**

Aeróbica \_\_\_\_\_ Caminata \_\_\_\_\_ Otros (Especificar) \_\_\_\_\_

**Anexo 2.** Carta de Dictamen de Candidatura.

**COORDINACIÓN DEL PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO  
EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**C. Efraín Farías Cisneros**  
**Alumno**  
**Doctorado en Ciencias**

El Comité Académico del Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud, a través del Subcomité Académico del campo del conocimiento de las Ciencias Médicas, en su **194°** reunión ordinaria realizada el día **19 de octubre del 2017**, según acuerdo **AA2-(CM/SCA/SO194/17)** y de conformidad en los artículos 21, 22 y 23 del Reglamento General de Estudios de Posgrado de la UNAM y el apartado 5.2.6.5 del Plan de Estudios del Programa, analizó y aceptó el Dictamen Positivo emitido el pasado **13 de octubre del 2017**, por el Comité de Candidatura al Grado de Doctor constituido por los doctores:

DR. JUAN CARLOS ZENTENO RUÍZ  
DR. RUBÉN TORRES GONZÁLEZ  
DRA. VERÓNICA FABIOLA MORÁN BARROSO  
DR. DAVID ROJANO MEJÍA  
DR. ALBERTO MARTÍN HIDALGO BRAVO

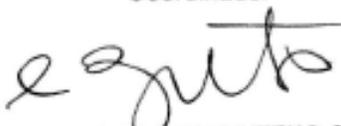
En consecuencia, por acuerdo del Comité Académico se le otorga a usted la denominación de

***CANDIDATO A DOCTOR EN CIENCIAS***

Aprovecho la oportunidad para exhortarlo a mantener su desempeño con el mismo nivel de excelencia para de acuerdo a lo previsto por el Comité Tutorial y dentro de los plazos que establece el plan de estudios del programa, obtenga usted el grado doctoral.

Atentamente  
**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**  
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 19 de octubre de 2017

Coordinador

  
DR. ARTURO EDGAR ZENTENO GALINDO

## COL1A1, CCDC170, and ESR1 single nucleotide polymorphisms associated with distal radius fracture in postmenopausal Mexican women

E. Farias-Cisneros<sup>a</sup> , A. Hidalgo-Bravo<sup>b</sup> , A. Miranda-Duarte<sup>b</sup>, L. Casas-Ávila<sup>b</sup>, T. D. Rozental<sup>c</sup>, R. Velázquez-Cruz<sup>d</sup>  and M. Valdés-Flores<sup>b</sup> 

<sup>a</sup>Division of Hand Surgery and Microsurgery, National Institute of Rehabilitation, Mexico City, Mexico; <sup>b</sup>Department of Genetics, National Institute of Rehabilitation, Mexico City, Mexico; <sup>c</sup>Department of Orthopedic Surgery, Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School, Boston, MA, USA; <sup>d</sup>Bone Metabolism Genomics Laboratory, National Institute of Genomic Medicine, Mexico City, Mexico

### ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study was to analyze the genetic association of five *ESR1* single nucleotide polymorphisms (SNPs) (rs3020331, rs851982, rs1999805, rs2234693, rs3020404), four *COL1A1* SNPs (rs1800012, rs2075555, rs2412298, rs1107946), and two SNPs on the *CCDC170* gene (rs9479055, rs4870044) with distal radius fracture (DRF) in a group of postmenopausal Mexican women.

**Methods:** A case-control study was conducted. Cases ( $n = 182$ ) were women above the age of 38 years with low-energy DRF, and controls ( $n = 201$ ) were women without. Analysis was done through real-time polymerase chain reaction. Frequencies and Hardy-Weinberg equilibrium were calculated. A multivariate analysis including bone mass index, age, menarche, and menopause as covariables was carried out. Finally, haplotype and linkage disequilibrium (LD) analyses were performed.

**Results:** *COL1A1* rs1107946 was strongly associated with DRF. Both *CCDC170* SNPs showed strong association with DRF. For the *ESR1* gene, four SNPs (rs2234693, rs3020404, rs3020331, and rs851982) showed very strong association with DRF. Additionally, the region between the latter two showed strong LD.

**Conclusions:** A strong association of DRF with variants in these genes was found, including haplotypes and a region with strong LD on *ESR1*. The results suggest that these SNPs could be useful to detect the population at risk of presenting DRF among Mexican perimenopausal women.

### ARTICLE HISTORY

Received 20 December 2018  
Revised 22 April 2019  
Accepted 30 May 2019  
Published online 28 June 2019

### KEYWORDS

Bone mineral density; polymorphisms; *ESR1*; *COL1A1*; *CCDC170*; distal radius fracture

### Introduction

The distal radius is one of the major sites of insufficiency fractures, along with the spine, hip, and proximal humerus<sup>1</sup>. The number of forearm fractures in Mexico during 2010 was 34,177, more than double compared to the hip or spine during the same period. The estimated cost per case was 433 USD, and this is expected to rise to 614 USD in 2020<sup>2</sup>. Furthermore, the incidence of distal radius fracture (DRF) has increased in women between 49 and 69 years old<sup>3,4</sup> and is an important risk factor for future fractures<sup>5,6</sup>. Relative risks after an initial DRF range from 1.4 to 2.7 for a hip fracture and from 3.3 to 10.7 for a vertebral fracture<sup>7</sup>.

Osteoporosis (OP) is a high-morbidity systemic disease characterized by deterioration of bone microarchitecture, low bone mineral density (BMD), and increased incidence of fragility fractures<sup>8</sup>. Previous data report that genetic factors account for 50–80% of variability in BMD<sup>9</sup>. OP has been defined by the measurement of BMD, a widely used predictor for diagnosis of OP and fracture risk<sup>10</sup>. However, additional methods have been proposed, including the FRAX tool<sup>11</sup> and the trabecular bone score<sup>12</sup>, estimating fracture risk independently of BMD alone. Serum bone turnover markers have also been proposed as predictors of DRF<sup>13</sup>.

Increased life expectancy has contributed to an elevation of the incidence of DRF<sup>2</sup>. Both genetic and environmental factors influence BMD, and therefore have an impact on the occurrence of DRF. Heritability of BMD at the distal radius has been estimated to be as high as 61%<sup>14</sup>. Genome-wide association studies have identified several loci associated with BMD and OP<sup>9,15</sup>. Multiple single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *COL1A1* and *ESR1* genes have been studied for their association with BMD and increased fracture risk at the femoral neck and lumbar spine in different populations<sup>16–19</sup>. However, few reports have focused on DRF and, to the best of our knowledge, no studies have been conducted in a Mexican population<sup>20</sup>. Understanding the genetic determinants influencing bone mass may improve early detection and interventions aiming to decrease fracture burden.

Type 1 collagen is the most abundant protein in mammals and is the main structural component of bone, teeth, and tendon<sup>21</sup>. The molecular structure of the protein comprises two alpha chains, encoded by the *COL1A1* gene, and one beta chain, encoded by the *COL1A2* gene<sup>8</sup>. The product of the estrogen receptor alpha gene (*ESR1*) is a ligand-activated transcription factor. Estrogens and estrogen receptors have an important role in bone homeostasis<sup>22</sup>. A population-based study found the rs4870044 SNP located at the

CONTACT M. V. Flores  marvaldes@yahoo.com, mvaldes@inr.gov.mx  Department of Genetics, National Institute of Rehabilitation, Calz. México Xochimilco No. 289. Col. Arenal de Guadalupe, C.P.14389 Mexico City, Mexico

© 2019 International Menopause Society

CCDC170/C6ORF97/ESR1 locus (6q25.1) to be associated with forearm and total hip BMD<sup>23</sup>. The function of the product of the coiled-coil domain containing 170 gene (CCDC170) is not yet fully understood. Experimental evidence suggests that it participates in organization of the Golgi apparatus<sup>24,25</sup>. Several genome-wide association studies have implicated the region around this gene to be involved in breast cancer and BMD, including one study in Mexican mestizo women<sup>26,27</sup>.

The aim of the present study was to investigate the association between five *ESR1* SNPs, four *COL1A1* SNPs, and two SNPs at *CCDC170* with DRF in 383 Mexican mestizo women.

## Methods

A case-control study was developed and approved by the Institutional Ethics Committee. All subjects signed the informed consent form.

### Sample population

Cases were females above the age of 38 years who presented with a low-energy DRF within the first 2 weeks of injury. Controls were females older than 38 years without fracture history and with BMD in the normal range. The study group ( $n = 383$ ; DRF = 182, controls = 201) included only women born in Mexico whose parents and grandparents identified themselves as Mexican mestizos. Exclusion criteria were women taking drugs that alter bone metabolism or BMD, and those with bone dysplasia or secondary OP. Risk factors and covariables were retrieved through a questionnaire.

### Fracture and bone mass density assessment

All fractures were confirmed with medical and radiological records. The absence of DRF was corroborated during medical interrogation for the controls. Lumbar and femoral BMD were obtained with dual-energy X-ray absorptiometry equipment (Hologic 2000) within the first 2 weeks of injury. Data were expressed in grams per square centimeter, and interpreted with reference values from a healthy Mexican

population of the same gender and age. Participants were classified as normal, osteopenia, or OP according to World Health Organization criteria<sup>28</sup>.

### Candidate genes and SNP selection

Eleven SNPs were analyzed; 10 are intronic (rs1800012, rs2075555, rs1107946, rs9479055, rs4870044, rs3020331, rs851982, rs1999805, rs2234693, rs3020404) and one (rs2412298) is in the promoter region of the *COL1A1*. SNP details are presented in Table 1.

### Genotyping

Genomic DNA was extracted from peripheral blood leukocytes using the Gentra Puregene Blood Kit<sup>®</sup> (Gentra Systems, Minneapolis, MN, USA) according to the manufacturer's instructions. The DNA concentration and quality were analyzed with spectrophotometry, using a NanoDrop 2000<sup>®</sup> (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). DNA samples were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until use. SNP detection was performed using TaqMan<sup>®</sup> allelic discrimination assays (Applied Biosystems 2000; Thermo Fisher Scientific Inc.).

Each 5  $\mu\text{l}$  polymerase chain reaction (PCR) contained 18 ng of genomic DNA, 2.5  $\mu\text{l}$  of 2 $\times$  Applied Biosystems<sup>®</sup> TaqMan<sup>®</sup> Universal PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific Inc.), and 0.12  $\mu\text{l}$  of the specific 40 $\times$  TaqMan<sup>®</sup> assay. Real-time PCR was run on an Applied Biosystems<sup>®</sup> StepOnePlus<sup>®</sup> instrument. PCR conditions were followed according to manufacturer's recommendations.

Inconclusive genotypifications were repeated. Variant calling was done independently by two of the authors, and the results were confirmed manually.

### Statistical analysis

Descriptive statistics were obtained; continuous variables were compared by *t*-test and categorical variables by chi-square or Fisher's exact test (two-tailed). Allelic and genotypic frequencies and the Hardy-Weinberg equilibrium

Table 1. Summary of reference SNP reports for this study (data from dbSNP<sup>†</sup>).

Chromosome position (GRCh38)	Gene	SNP ID	Function class	Polymorphism	Allele 1	Allele 2	HAPMAP-MEX genotype frequency					1000 genomes (MAF)	
							Homo1	Hetero	Homo2	HWP	Allele 1		Allele 2
17:50200388	<i>COL1A1</i>	rs1800012	Intronic	g.6252G > T	G	T	N	N	N	N	N	N	0.0911
17:50196930	<i>COL1A1</i>	rs2075555	Intronic	g.9710A > C	A	C	N	N	N	N	N	N	0.2554
17:50203294	<i>COL1A1</i>	rs2412298	Promoter region	c.-1781C > T	G	A	N	N	N	N	N	N	N/A
17:50203629	<i>COL1A1</i>	rs1107946	Intronic	g.3011T > G	A	C	N	N	N	N	N	N	0.2576
6:151526832	<i>CCDC170</i>	rs9479055	Intronic	c.58-9486C > A	A	C	0.259	0.479	0.259	1	0.5	0.5	0.3502
6:151580274	<i>CCDC170</i>	rs4870044	Intronic	g.91235C > T	C	T	0.28	0.460	0.259	0.583	0.509	0.490	0.4185
6:151687645	<i>ESR1</i>	rs3020331	Intronic	g.35955C > T	C	T	0.540	0.360	0.1	0.479	0.720	0.28	0.2778
6:151703850	<i>ESR1</i>	rs851982	Intronic	n.300 + 1845T > C	C	T	0.090	0.402	0.506	0.751	0.28	0.720	0.2414
6:151747229	<i>ESR1</i>	rs1999805	Intronic	n.300 + 45224G > A	G	A	0.319	0.44	0.239	0.438	0.540	0.460	0.4643
6:151842200	<i>ESR1</i>	rs2234693	Intronic	g.190510T > C	C	T	0.08	0.460	0.460	0.654	0.31	0.69	0.4463
6:151975851	<i>ESR1</i>	rs3020404	Intronic	g.324161A > G	A	G	N	N	N	N	N	N	0.2037

CCDC170, coiled-coil domain containing 170 gene; COL1A1, collagen type 1 alpha 1 gene; ESR1, estrogen receptor alpha gene; HAPMAP-MEX, haplotype map of Mexican ancestry living in Los Angeles, California; HWP, Hardy-Weinberg probability; MAF, minor allele frequency; N, no data available; N/A, not available; SNP, single nucleotide polymorphism.

<sup>†</sup><https://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

(HWE) test were calculated. Univariate and multivariate non-conditional logistic regression was performed to estimate the effect of each SNP on DRF under additive, codominant, dominant, and recessive genetic models. Logistic regression protects against false positives in standard settings, without compromising power. We chose this method because it does not require an estimate of the number of underlying subpopulations, countering the effects of the cryptic substructure<sup>29,30</sup>.

For multivariate analysis, variables with  $p \leq 0.15$  in descriptive analysis were included and the most parsimonious models were reported. Odds ratios (ORs) with confidence intervals (95% CIs) and  $p$ -values are reported, with an alpha level of 0.05. STATA/SE 10.0 and IBM SPSS version 24 software were used. Haplotype frequencies were estimated with HaploView 4.2 software.

## Results

The studied population included 383 samples (182 DRF cases and 201 controls). Characteristics of the population including descriptive statistics are summarized in Table 2. Statistically significant differences between cases and controls were observed with regard to age, body mass index, years since menopause, and lumbar spine and total hip BMD ( $p < 0.05$ ).

Two *COL1A1* candidate SNPs (rs1800012 and rs2412298) were not in HWE ( $p < 0.05$ ). Table 3 presents the allelic frequencies. For rs1800012, the G allele was associated with DRF (OR = 2.4 [CI = 1.5–4.0,  $p < 0.0001$ ]); however, this SNP showed a significant deviation from HWE. A second *COL1A1* polymorphism (rs1107946) showed association with DRF (OR = 2.9 [CI = 2.1–4.0,  $p < 0.0001$ ]). For *CCDC170*, both polymorphisms showed risk association with DRF; the rs9479055 A allele

Table 2. Demographic characteristics of the 413 subjects in the study.

	Subjects with DRF (cases)	Subjects without DRF (controls)	t-test p-value
N	182	201	
General characteristics, mean $\pm$ SD			
Age (years)	66 $\pm$ 11.2	58.1 $\pm$ 8.4	1.11575E-13
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27.1 $\pm$ 5.2	28.7 $\pm$ 4	0.00073365
Age at menarche (years)	12.9 $\pm$ 1.6	12.7 $\pm$ 1.8	0.31720828
Years since menopause	18.5 $\pm$ 12.28	9.4 $\pm$ 9.14	6.56766E-15
BMD			
Lumbar spine, L1–L4 (g/cm <sup>2</sup> )	0.513 $\pm$ 0.378	1.053 $\pm$ 0.257	2.03296E-42
Total hip (g/cm <sup>2</sup> )	0.431 $\pm$ 0.319	0.876 $\pm$ 0.205	3.90737E-43

Includes descriptive statistics comparing both groups. BMD, bone mineral density; BMI, body mass index; DRF, distal radius fracture; N, number of subjects; SD, standard deviation.

Table 3. Allelic frequencies and Hardy–Weinberg equilibrium for our case series.

SNP	DRF cases, n (%)	Controls, n (%)	OR (CI 95%)	p-value	HWE p-value
rs1800012	n = 181	n = 196			<b>0.011030</b>
G	333 (0.92)	324 (0.83)	<b>2.4 (1.5–4.0)</b>	<b>0.000130815</b>	
T	29 (0.08)	68 (0.17)	0.4 (0.2–0.7)		
rs2075555	n = 182	n = 196			0.544238
C	239 (0.66)	261 (0.67)	0.9 (0.7–1.3)	0.79133678	
A	125 (0.34)	131 (0.33)	1.0 (0.8–1.4)		
rs2412298	n = 182	n = 198			<b>4.143358E-39</b>
G	183 (0.50)	195 (0.49)	1.0 (0.8–1.4)	0.777297411	
A	181 (0.50)	201 (0.51)	0.9 (0.7–1.3)		
rs1107946	n = 182	n = 196			0.821666
C	193 (0.53)	301 (0.77)	0.3 (0.2–0.5)	<b>6.84961E-12</b>	
A	171 (0.48)	91 (0.23)	<b>2.9 (2.1–4.0)</b>		
rs9479055	n = 182	n = 197			0.633078
C	131 (0.36)	179 (0.45)	0.7 (0.5–0.9)	<b>0.008242561</b>	
A	233 (0.64)	215 (0.55)	<b>1.4 (1.1–2.0)</b>		
rs4870044	n = 182	n = 197			0.837846
T	191 (0.53)	162 (0.41)	<b>1.6 (1.2–2.1)</b>	<b>0.001735655</b>	
C	173 (0.47)	232 (0.59)	0.6 (0.5–0.8)		
rs3020331	n = 182	n = 197			0.984436
C	156 (0.70)	243 (0.62)	<b>1.5 (1.1–2.0)</b>	<b>0.012073797</b>	
T	108 (0.30)	151 (0.38)	0.7 (0.5–0.9)		
rs851982	n = 182	n = 197			0.897575
T	167 (0.46)	247 (0.63)	0.5 (0.4–0.7)	<b>3.41146E-06</b>	
C	197 (0.54)	147 (0.37)	<b>2.0 (1.5–2.7)</b>		
rs1999805	n = 182	n = 197			0.134689
G	185 (0.51)	198 (0.50)	1.0 (0.8–1.4)	0.887537084	
A	179 (0.49)	196 (0.50)	1.0 (0.7–1.3)		
rs2234693	n = 180	n = 196			0.126693
T	252 (0.70)	260 (0.66)	1.2 (0.9–1.6)	0.279401241	
C	108 (0.30)	132 (0.33)	0.8 (0.6–1.2)		
rs3020404	n = 182	n = 197			0.120176
A	210 (0.58)	209 (0.53)	1.2 (0.9–1.6)	0.198958931	
G	154 (0.42)	185 (0.47)	0.8 (0.6–1.1)		

CI, confidence interval; HWE, Hardy–Weinberg equilibrium; OR, odds ratio; SNP, single nucleotide polymorphism. Bold letters were used to highlight the significant  $p$  values.

Table 4. Genotypic frequencies and models of inheritance associated with DRF.

Model	SNP and genotype	Cases, n (%)	Controls, n (%)	OR (CI 95%) <sup>a</sup>	p-Value	OR (CI 95%) <sup>b</sup>	p-Value
	rs1800012	181 (100)	196 (100)				
Codominant	GG	154 (85.1)	139 (70.9)	1.0		1.0	
	GT	25 (13.8)	46 (23.5)	0.5 (0.3–0.9)	0.01657	0.5 (0.3–0.9)	0.00164
	TT	2 (1.1)	11 (5.6)	0.2 (0.0–0.8)	0.01656	0.2 (0.0–0.8)	0.02641
Dominant	GG	154 (85.1)	139 (70.9)	1.0		1.0	
	GT/TT	27 (14.9)	57 (29.1)	2.3 (1.4–3.9)	0.00115	2.5 (1.4–4.3)	0.00163
Recessive	GG/GT	179 (98.9)	185 (94.4)	1.0		1.0	
	TT	2 (1.1)	11 (5.6)	5.3 (1.2–24.3)	0.03155	5.7 (1.2–27.1)	0.0264
Additive				0.4 (0.3–0.7)	0.00058	0.4 (0.3–0.7)	0.00077
	rs2075555	182 (100)	196 (100)				
Codominant	CC	74 (40.7)	85 (43.4)	1.0		1.0	
	CA	91 (50.0)	91 (46.4)	1.1 (0.8–1.7)	0.48747	1.3 (0.8–2)	0.2501
	AA	17 (9.3)	20 (10.2)	0.9 (0.4–1.8)	0.7777	0.8 (0.4–1.6)	0.471
Dominant	CC	74 (40.6)	85 (43.4)	1.0		1.0	
	CA/AA	108 (59.3)	111 (56.6)	1.1 (0.7–1.7)	0.59611	1.2 (0.7–1.9)	0.47152
Recessive	CC/CA	165 (90.6)	176 (89.8)	1.0		1.0	
	AA	17 (9.3)	20 (10.2)	0.9 (0.4–1.8)	0.77947	0.8 (0.4–1.6)	0.47152
Additive				1.0 (0.8–1.4)	0.77947	1.0 (0.7–1.5)	0.83366
	rs2412298	182 (100)	198 (100)				
Codominant	GG	2 (1.1)	2 (1.0)	1.0		1.0	
	GA	179 (98.4)	191 (96.5)	2.1 (0.6–8.5)	0.2509	2.5 (0.5–12.2)	0.2460
	AA	1 (0.5)	5 (2.5)	0.2 (0.02–1.8)	0.1227	0.1 (0.0–1.4)	0.0872
Dominant	GG	2 (1.1)	2 (1.0)	1.0		1.0	
	GA/AA	180 (98.9)	196 (98.9)	0.9 (0.1–6.6)	0.93623	0.7 (0.08–6.1)	0.76417
Recessive	GG/GA	181 (99.4)	193 (97.5)	1.0		1.0	
	AA	1 (0.6)	5 (2.5)	0.2 (0.02–1.8)	0.16151	0.1 (0.01–1.4)	0.08726
Additive				0.4 (0.1–1.7)	0.22627	0.3 (0.1–1.4)	0.13104
	rs1107946	182 (100)	196 (100)				
Codominant	CC	27 (14.8)	115 (58.7)	0.1 (0.07–0.2)	1.42E–18	0.1 (0.05–0.2)	1.35E–15
	CA	139 (76.4)	71 (36.2)	5.7 (3.6–8.9)	4.18E–15	7.8 (4.5–13.3)	4.70E–14
	AA	16 (8.7)	10 (5.1)	1.8 (0.8–4.0)	0.1567	1.5 (0.6–3.7)	0.357573
Dominant	CC	27 (14.8)	115 (58.7)	1.0		1.0	
	CA/AA	155 (85.2)	81 (41.3)	8.1 (4.9–13.4)	1.46E–16	10.8 (6.0–19.4)	1.35E–15
Recessive	CC/CA	166 (91.2)	186 (94.9)	1.0		1.0	
	AA	16 (8.8)	10 (5.1)	1.8 (0.8–4.0)	0.16151	1.5 (0.6–3.7)	0.35757
Additive				7.0 (4.4–11.1)	6.83E–17	9.1 (5.4–15.5)	2.61E–16
	rs9479055	182 (100)	197 (100)				
Codominant	AA	62 (34.1)	57 (28.9)	1.0		1.0	
	AC	109 (59.9)	101 (51.3)	1.4 (0.9–2.1)	0.0916	1.4 (0.9–2.2)	0.1310
	CC	11 (6.0)	39 (19.8)	0.3 (0.1–0.5)	7.74E–05	0.3 (0.1–0.6)	0.0007
Dominant	AA	62 (34.1)	57 (28.9)	1.0		1.0	
	AC/CC	120 (65.9)	140 (71.1)	1.3 (0.8–1.9)	0.28461	1.3 (0.8–2)	0.34211
Recessive	AA/AC	171 (94)	158 (80.2)	1.0		1.0	
	CC	11 (6)	39 (19.8)	3.8 (1.8–7.7)	0.000177	3.7 (1.7–7.9)	0.000752
Additive				0.6 (0.4–0.9)	0.00465	0.6 (0.4–0.9)	0.01173
	rs4870044	182 (100)	197 (100)				
Codominant	TT	27 (14.8)	34 (17.3)	1.0		1.0	
	TC	137 (75.2)	94 (47.7)	3.3 (2.1–5.2)	3.92E–08	3.4 (2.0–5.5)	8.22E–07
	CC	18 (9.9)	69 (35.0)	0.2 (0.1–0.3)	6.12E–09	0.2 (0.1–0.4)	7.42E–07
Dominant	TT	27 (14.8)	34 (17.3)	1.0		1.0	
	TC/CC	155 (85.2)	163 (82.7)	1.2 (0.7–2.1)	0.52217	1.2 (0.7–2.3)	0.45325

(continued)

Table 4. Continued.

Model	SNP and genotype	Cases, n (%)	Controls, n (%)	OR (CI 95%) <sup>a</sup>	p-Value	OR (CI 95%) <sup>b</sup>	p-Value
Recessive	TT/TC	164 (90.1)	128 (65)	1.0		1.0	
	CC	18 (9.9)	69 (35)	<b>0.19 (0.1–0.3)</b>	<b>4.02E–08</b>	<b>0.2 (0.1–0.4)</b>	<b>7.42E–07</b>
Additive				<b>1.8 (1.3–2.6)</b>	<b>0.00046</b>	<b>1.7 (1.2–2.5)</b>	<b>0.00261</b>
	rs3020331	182(100)	197 (100)				
Codominant	CC	74 (40.6)	75 (38.1)	1.0		1.0	
	CT	108 (59.3)	93 (47.2)	<b>1.6 (1.1–2.4)</b>	<b>0.018</b>	<b>1.7 (1.1–2.7)</b>	<b>0.0146</b>
	TT	0 (0)	29 (14.7)	NA	NA	NA	NA
Dominant	CC	74 (40.7)	75 (38.1)	1.0		1.0	
	CT/TT	108 (59.3)	122 (61.9)	1.1 (0.7–1.7)	0.60306	1.0 (0.7–1.7)	0.81033
Recessive	CC/CT	182 (100)	168 (85.3)	1.0		1.0	
	TT	0 (0)	29 (14.7)	NA	NA	NA	NA
Additive				<b>0.6 (0.4–0.9)</b>	<b>0.00596</b>	<b>0.6 (0.4–0.9)</b>	<b>0.01778</b>
	rs851982	182(100)	197(100)				
Codominant	CC	23 (12.6)	27 (13.7)	1.0		1.0	
	CT	151 (83)	93 (47.2)	<b>5.4 (3.3–8.7)</b>	<b>3.78E–13</b>	<b>6.3 (3.7–11.0)</b>	<b>2.23E–11</b>
	TT	8 (4.4)	77 (39.1)	<b>0.1 (0.03–0.2)</b>	<b>5.99E–16</b>	<b>0.1 (0.03–0.2)</b>	<b>1.55E–10</b>
Dominant	CC	23 (12.6)	27 (13.7)	1.0		1.0	
	CT/TT	159 (87.4)	170 (86.3)	0.9 (0.5–1.6)	0.75656	0.8 (0.4–1.5)	0.4593
Recessive	CC/CT	174 (95.6)	120 (60.9)	1.0		1.0	
	TT	8 (4.4)	77 (39.1)	<b>13.9(6.5–30)</b>	<b>1.38E–11</b>	<b>14.4 (6.4–32.6)</b>	<b>1.55E–10</b>
Additive				<b>0.3 (0.2–0.5)</b>	<b>1.16E–07</b>	<b>0.4 (0.2–0.5)</b>	<b>2.25E–06</b>
	rs1999805	182(100)	199(100)				
Codominant	GG	50 (27.5)	54 (27.4)	1.0		1.0	
	AG	79 (43.4)	88 (44.7)	0.9 (0.6–1.4)	0.8044	1.0 (0.6–1.5)	0.9124
	AA	53 (29.1)	57 (27.9)	1.0 (0.6–1.6)	0.9887	0.9 (0.5–1.4)	0.5823
Dominant	GG	50 (27.5)	54 (27.4)	1.0		1.0	
	GA/AA	132 (72.5)	145 (72.6)	0.9 (0.6–1.5)	0.79486	0.8 (0.5–1.4)	0.50925
Recessive	GG/GA	129 (70.8)	142 (72.1)	1.0		1.0	
	AA	53 (29.1)	57 (27.9)	1.0 (0.6–1.6)	0.99202	0.9 (0.5–1.4)	0.58231
Additive				1.0 (0.8–1.3)	0.88076	1.1 (0.8–1.5)	0.46539
	rs2234693	180(100)	196 (100)				
Codominant	TT	91 (50.6)	91 (46.4)	1.0		1.0	
	CT	70 (38.9)	78 (39.8)	1.0 (0.6–1.4)	0.8573	1.1 (0.7–1.8)	0.5823
	CC	19 (10.6)	27 (13.8)	0.7 (0.4–1.4)	0.3411	<b>0.4 (0.2–0.9)</b>	<b>0.0307</b>
Dominant	TT	91 (50.6)	91 (46.4)	1.0		1.0	
	TC/CC	89 (49.4)	105 (53.6)	0.8 (0.6–1.3)	0.42371	0.8 (0.5–1.3)	0.3843
Recessive	TT/TC	161 (89.4)	169 (86.2)	1.0		1.0	
	CC	19 (10.6)	27 (13.8)	0.7 (0.4–1.4)	0.3421	<b>0.4 (0.2–0.9)</b>	<b>0.03077</b>
Additive				1.2 (0.9–1.6)	0.30301	1.3 (0.9–1.8)	0.09691
	rs3020404	182(100)	197 (100)				
Codominant	AA	45 (24.7)	50 (25.4)	1.0		1.0	
	AG	120 (65.9)	109 (55.3)	<b>1.6 (1.0–2.4)</b>	<b>0.0349</b>	1.5 (0.9–2.4)	0.0784
	GG	17 (9.3)	38 (19.3)	<b>0.4 (0.2–0.8)</b>	<b>0.0060</b>	0.5 (0.3–1.0)	0.0511
Dominant	AA	45 (24.7)	50 (25.4)	1.0		1.0	
	AG/GG	137 (75.3)	147 (74.6)	0.9 (0.6–1.5)	0.88076	0.9 (0.5–1.5)	0.70394
Recessive	AA/AG	165 (90.7)	158 (80.7)	1.0		1.0	
	GG	17 (9.3)	38 (19.3)	<b>2.3 (1.2–4.3)</b>	<b>0.00714</b>	1.9 (0.9–3.7)	0.05117
Additive				0.8 (0.6–1.1)	0.14705	0.8 (0.6–1.2)	0.39532

CI, confidence interval; DRF, distal radius fracture; NA, not available; OR, odds ratio; SNP, single nucleotide polymorphism.

<sup>a</sup>Unadjusted OR and 95% CI.

<sup>b</sup>Adjusted OR (95% CI) for age, body mass index, and years since menopause.

Bold letters were used to highlight the significant p values.

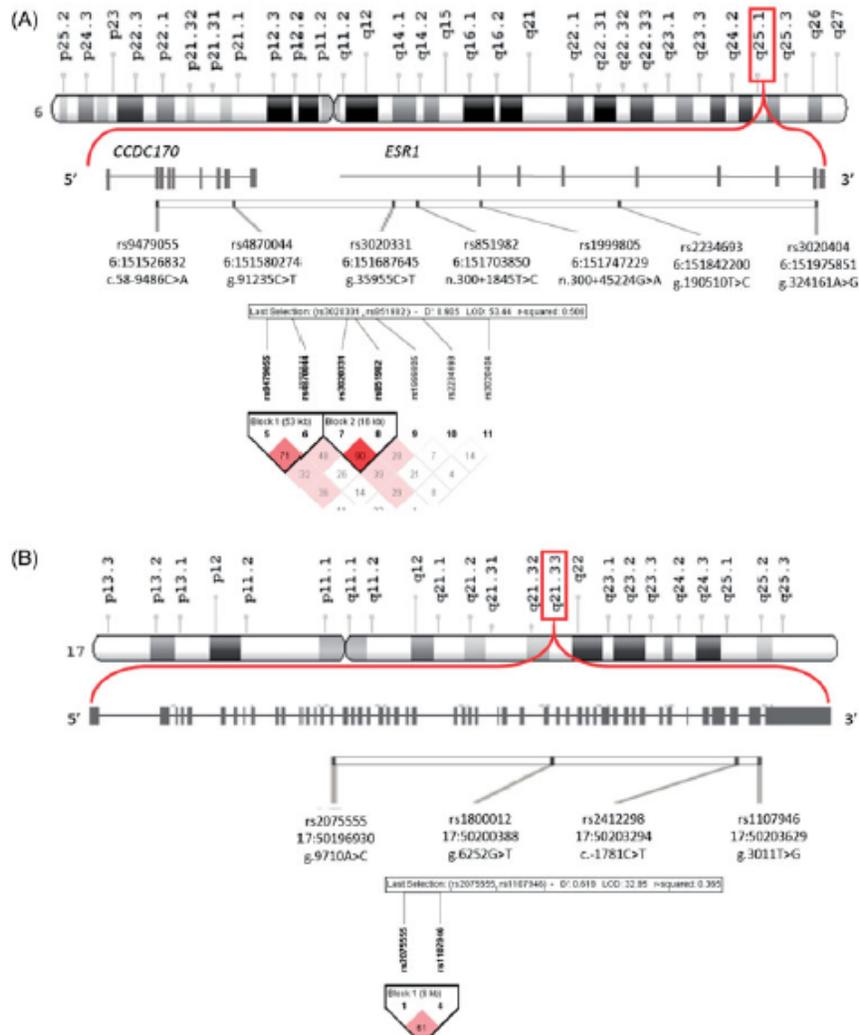


Figure 1. (A) Map of the human chromosome 6 showing both the *ESR1* and *CCDC170* syntenic genes. These genes are located at the 6q25.1 locus. The two *CCDC170* SNPs and the five *ESR1* single nucleotide polymorphisms (SNPs) studied are shown on a scheme magnifying the loci. (B) Map of the human chromosome 17 showing the *COL1A1* gene location at 17q21.33 and the four SNPs studied. A chromosome magnification of the locus containing the SNPs is depicted. At the bottom, the block charts show the  $D'$  values of the SNPs considered for the linkage disequilibrium analysis.

phenotype, BMD, and fracture risk. However, association analysis between these genes and bone fractures are controversial, with some results reporting association and others failing to demonstrate any meaningful relationship. Despite the controversial results, it is acknowledged that genetic variants, especially SNPs, might influence the presence of OP and fracture. Furthermore, current evidence suggests that additive action of several variants may have a more important influence for the occurrence of fragility fractures.

SNPs and haplotypes of *COL1A1* have demonstrated association with BMD and OP, but direct association with fragility fracture has been less reported, sometimes due to study design. For instance, the risk T allele of the polymorphism rs1800012 has been found associated with low BMD<sup>34</sup>. In addition, association has been observed in different skeletal regions, including the lumbar spine<sup>17,35,36</sup> and distal

forearm<sup>20</sup>. Respective to the forearm, the finding was lower BMD in elderly men with the rs1800012G allele. In our study, the major allele had a risk OR for DRF, while the minor allele was associated with protection. However, the control group was not in HWE. Possible explanations for this are population stratification, *de novo* mutations, or genetic drift. Genotyping was manually reviewed by two of the authors and therefore we did not consider these results for further analysis. The second *COL1A1* polymorphism analyzed (rs2075555) was signaled in the Framingham cohort as a candidate locus associated with femoral neck width in women and shaft width in men<sup>37</sup>. In this study, we did not find association of rs2075555 with DRF. For the rs1107946 on *COL1A1*, in a study of Polish women with osteopenia and OP<sup>34</sup>, the genotype *TT* was associated with low BMD. However, no OR was reported. In northwest Indian women,

an allele dose-dependent effect with lower BMD of the lumbar spine was observed in allele G carriers. The haplotype GT (with rs1800012) has been associated with higher risk of postmenopausal OP<sup>17</sup>. In Spanish women, rs1107946 was associated with lumbar spine BMD ( $p=0.015$ ) when tested in a cohort of 256 postmenopausal women after adjusting for age, body weight, and years since menopause<sup>38</sup>. In Japanese women, the GT genotype affected BMD at various sites with a variance of 0.46–0.62% for all women and 0.61–1.01% for postmenopausal women<sup>39</sup>. In a study performed on Mexican women, there was no association with OP, but haplotype GG (with rs1800012) was found to be associated with higher lumbar BMD (no OR reported)<sup>35</sup>.

Interestingly, both *CCDC170* SNPs analyzed in this study presented association with DRF, differing from a previous study on a Mexican population showing no association of rs94479055 with femoral and lumbar spine BMD<sup>40</sup>. This result can be interpreted as BMD (at the hip or spine) and DRF being independent traits. Also, BMD is site specific, thus having different values in distinct anatomic regions. This same SNP was studied in Han Chinese women and allele C showed association with osteoporotic fracture, as well as lumbar spine BMD, replicating previous results in a European population<sup>41</sup>. rs4870044 showed association with lumbar spine BMD in the whole population of the Icelandic deCODE genome-wide association study and the replication sample<sup>42</sup>. In a Norwegian population, rs4870044 was associated with forearm and total hip BMD in 1674 women and 1276 men when adjusted for body mass index and height<sup>23</sup>. Finally, in Chinese women, CC homozygotes showed association with total hip BMD under a dominant model ( $p=0.034$ ), but not with fracture<sup>43</sup>. In our study, this rs4870044 SNP was found to be associated with DRF in Mexican mestizo women, independently of BMD.

The *ESR1* polymorphism rs3020331 under the additive model showed protective association for DRF. A previous study of Mexican women found no association with BMD under any model<sup>40</sup>. On the other hand, in a previous study carried out on Mexican women, the rs851982 SNP was found in association with total hip, femoral neck, and lumbar spine BMD<sup>40</sup>. In our sample, this SNP showed strong association with DRF under the dominant model. These results can be used in further studies to investigate the value as a biological marker of this SNP for BMD and DRF in a Mexican population. In postmenopausal Chinese women, the rs1999805 polymorphism was associated with fracture risk under the recessive model<sup>43</sup>, but we failed to replicate this result.

We included rs2234693 on *ESR1* because it has been reported as a common marker of low BMD in different populations. For instance, in a Bulgarian population it was found that higher BMD on the distal forearm (cortical bone) and ultradistal forearm (trabecular bone) was associated with the TT genotype. The same study states a relative risk (RR) for low BMD of 1.35<sup>44</sup>. In a study of Scottish women, a common haplotype (TG) defined by *ESR1* SNPs rs2234693–rs9340799 was associated with femoral neck bone loss in postmenopausal women without hormone replacement therapy

( $p=0.009$ ) and less BMD in the femoral neck ( $p=0.02$ )<sup>45</sup>. On the other hand, a meta-analysis including 8467 women and 2032 men from 27 studies found rs2234693 to be associated with lumbar spine BMD. Homozygote CC has a protective effect when compared to carriers of T alleles. The more significant effect is present in premenopausal western women. Also, the CC genotype was found to be a risk factor for femoral neck BMD in eastern women and men<sup>46</sup>. For the rs3020404 SNP we found association with DRF independent of BMD, but a previous study in Mexican population failed to show association with BMD in menopausal women<sup>40</sup>.

Interestingly, the six haplotypes associated with DRF share the C alleles for both rs3020331 and rs851982 SNPs. These two SNPs are in strong linkage disequilibrium, with a LOD score near to 1.0, which means these SNPs are likely to be inherited together more frequently than expected. This finding indicates the importance of this region as a potential biomarker for the population at risk.

Haplotype studies, gene–gene interaction, and genetic risk score studies may become an important future direction of study to further elucidate whether and how various gene polymorphisms affect bone health, OP, and fracture<sup>47</sup>.

Study limitations include a relatively small sample size. However, we believe that replication studies in other populations will be more useful than only increasing the sample size. It will be more useful to describe these variants with independent studies; a unique report of association is almost always insufficient to prove association. Second, Mexican population stratification is always a concern due to its mestizo origin. This study population is from central Mexico, which reduces the risk of geographical stratification. We also used a validated questionnaire to register ethnical variations, ancestry, and anthropometric variations.

In summary, our study has demonstrated an association between several gene variants and DRF, independent of BMD. Indeed, DRFs are associated with genetic variants on *ESR1* (rs3020331, rs851982, rs1999805, rs2234693, and rs3020404), *CCDC170* (rs9479055 and rs4870044), and *COL1A1* (rs2075555 and rs1107946). We also found that *ESR1* haplotypes sharing CC alleles of the rs3020331 and rs851982 SNPs are strongly associated with DRF, independently of BMD. In addition, the strong linkage disequilibrium found between these two SNPs reinforces the importance of this region as a potential biomarker. These findings need to be replicated in different populations. Given that reduced survival rates have been demonstrated among DRF patients<sup>6</sup> and that a history of DRF predicts future risk of a more severe fracture<sup>7,48</sup>, these findings may be important for identifying Mexican perimenopausal women at risk of fragility fractures. These results may also have a beneficial impact on preventing fractures in the fastest growing immigrant community in the USA. The potential to identify patients at risk allows a unique opportunity to intervene and decrease the future fracture burden.

## Acknowledgements

The authors want to thank the support from the staff of the Laboratory of Genetics – National Institute of Rehabilitation, specially Blanca Alicia Barredo-Prieto QFB, Edith Falcón-Ramírez PhD, and Valeria Ponce de

León-Suárez PhD. Also, staff from the Hand Surgery and Microsurgery Division, especially Head of Division Alejandro Espinosa-Gutiérrez, MD and Head Nurse Sandra Ramírez-Velázquez, RN.

**Potential conflict of interest** No potential conflict of interest was reported by the authors.

**Source of funding** This work received financial support from the National Institute of Rehabilitation. Dr Farias-Cisneros was supported by the National Council of Science and Technology – Mexico (CONACYT) [grant number 269915].

## ORCID

E. Farias-Cisneros  <http://orcid.org/0000-0002-9508-9065>  
 A. Hidalgo-Bravo  <http://orcid.org/0000-0003-2506-8784>  
 R. Velázquez-Cruz  <http://orcid.org/0000-0003-4515-0777>  
 M. Valdés-Flores  <http://orcid.org/0000-0001-5848-0607>

## References

1. Yoo J-H, Moon S-H, Ha Y-C, et al. Osteoporotic fracture: 2015 position statement of the Korean Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Metab* 2015;22:175–81
2. Carlos F, Clark P, Galindo-Suárez RM, Chico-Barba LG. Health care costs of osteopenia, osteoporosis, and fragility fractures in Mexico. *Arch Osteoporos* 2013;8:125
3. Padegimas EM, Ilyas AM. Distal radius fractures emergency department evaluation and management. *Orthop Clin NA* 2015;46:259–70
4. Øyen J, Diamantopoulos AP, Haugeberg G. Mortality after distal radius fracture in men and women aged 50 years and older in southern Norway. *PLoS One* 2014;9:9–12
5. Bogoch ER, Elliot-Gibson V, Escott BG, Beaton DE. The osteoporosis needs of patients with wrist fracture. *J Orthop Trauma* 2008;22:573–s78
6. Rozental TD, Branas CC, Bozentka DJ, Beredjikian PK. Survival among elderly patients after fractures of the distal radius. *J Hand Surg* 2002;27:948–52
7. Klotzbuecher CM, Ross PD, Landsman PB, Abbott TA, Berger M. Patients with prior fractures have an increased risk of future fractures: a summary of the literature and statistical synthesis. *J Bone Miner Res* 2000;15:721–39
8. Osterhoff G, Morgan EF, Shefelbine SJ, et al. Bone mechanical properties and changes with osteoporosis. *Inj Int J Care Inj* 2016;47:511–520
9. Ferrari S. Human genetics of osteoporosis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2008;22:723–35
10. Duncan EL, Brown MA. Genetic determinants of bone density and fracture risk — State of the art and future directions. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:2576–87
11. Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H, et al. Development and use of FRAX® in osteoporosis. *Osteoporos Int* 2010;21:407–13
12. Harvey NC, Glüer CC, Binkley N, et al. Trabecular bone score (TBS) as a new complementary approach for osteoporosis evaluation in clinical practice. *Bone* 2015;78:216–24
13. Ting BL, Walley KC, Trivison TG, Rozental TD. Elevated bone turnover markers are associated with distal radius fractures in premenopausal women. *J Hand Surg Am* 2017;42:71–7
14. Arden N, Baker J, Hogg C, Baan K, Spector T. The heritability of bone mineral density, ultrasound of the calcaneus and hip axis length: a study of postmenopausal twins. *J Bone Miner Res* 2009;11:530–4
15. Chesi A, Mitchell JA, Kalkwarf HJ, et al. A trans-ethnic genome-wide association study identifies gender-specific loci influencing pediatric aBMD and BMC at the distal radius. *Hum Mol Genet* 2015;24:5053–9
16. Falcón-Ramírez E, Hidalgo-Bravo A, Barredo-Prieto BA, Pineda-Gómez E, Valdés-Flores M. Association of the COL1A1 gene polymorphisms in Mexican postmenopausal women with fracture or with low bone mineral density at the hip. *Aging Clin Exp Res* 2016;28:567–71
17. Singh M, Singh P, Singh S, Juneja PK, Kaur T. A haplotype derived from the common variants at the -1997G/T and Sp1 binding site of the COL1A1 gene influences risk of postmenopausal osteoporosis in India. *Rheumatol Int* 2013;33:501–6
18. Jin H, Evangelou E, Ioannidis JPA, Ralston SH. Polymorphisms in the 5' flank of COL1A1 gene and osteoporosis: meta-analysis of published studies. *Osteoporos Int* 2011;22:911–21
19. Selezneva LI, Khusainova RI, Nurlygaianov RZ, et al. Association of polymorphisms and haplotypes in the 5' region of COL1A1 gene with the risk of osteoporotic fractures in Russian women from Volga-Ural region. *Genetika* 2008;44:219–25
20. Van Pottelbergh I, Goemaere S, Nuytinck L, De Paepe A, Kaufman J. Association of the Type I Collagen alpha1 Sp1 polymorphism, bone density and upper limb muscle strength in community-dwelling elderly men. *Osteoporos Int* 2001;12:895–901
21. Kini U, Nandeesh BN. Physiology of Bone Formation, Remodeling, and Metabolism. In: Fogelman I, Gnanasegaran G, Wall H, eds. *Radionuclide and Hybrid Bone Imaging*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012:29–57.
22. Jia M, Dahlman-Wright K, Gustafsson J-Å. Estrogen receptor alpha and beta in health and disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2015;29:557–68
23. Martinaityte I, Jorde R, Emaus N, Eggen AE, Joakimsen M, Kamycheva E. Bone mineral density is associated with vitamin D related rs6013897 and estrogen receptor polymorphism rs4870044: The Tromsø study. *PLoS One* 2017;12:e0173045
24. Jiang P, Li Y, Poleshko A, et al. The protein encoded by the CCDC170 breast cancer gene functions to organize the golgi-microtubule network. *EBioMedicine* 2017;22:28–43
25. Veeraghavan J, Tan Y, Cao X-X. Recurrent ESR1-CCDC170 rearrangements in an aggressive subset of estrogen-receptor positive breast cancers. *Nat Commun* 2014;5:4577
26. Villalobos-Comparán M, Jiménez-Ortega RF, Estrada K, et al. A pilot genome-wide association study in postmenopausal Mexican-Mestizo women implicates the RMND1/CCDC170 locus is associated with bone mineral density. *Int J Genomics* 2017;2017:1. 2017
27. Kim B, Ahn SH, Kim H, et al. Replication of caucasian loci associated with osteoporosis-related traits in East Asians. *J Bone Metab* 2016;23:233–42
28. Tamayo J, Díaz R, Lázcano-Ponce E, et al. Reference values for areal bone mineral density among a healthy Mexican population. *Salud Publica Mex* 2009;51:56–83
29. Setakis E, Stirnadel H, Balding DJ, Setakis E, Stimadel H, Balding DJ. Logistic regression protects against population structure in genetic association studies. *Genome Res* 2005;16:290–6
30. Hosmer DW, Lemeshow S. *Applied Logistic Regression*. 2nd ed. New York, NY: Wiley; 2000
31. Matzko ME, Bowen TR, Smith WR. Orthogenomics: An Update. *J Am Acad Orthop Surg* 2012;20:536–46
32. Patel SP, Rozental TD. Management of osteoporotic patients with distal radial fractures. *JBJS Rev* 2014;2:1 e1
33. Nandyala S, Giladi A, Parker A, Rozental TD. Comparison of direct perioperative costs in treatment of unstable distal radial fractures: open reduction and internal fixation versus closed reduction and percutaneous pinning. *J Bone Jt Surg Am* 2018;100:786–92
34. Majchrzycki M, Bartkowiak-Wieczorek J, Wolski H, et al. Polymorphisms of collagen 1A1 (COL1A1) gene and their relation to bone mineral density in postmenopausal women. *Ginekol Pol* 2015;86:907–14
35. Rojano-Mejía D, Coral-Vázquez RM, Espinosa LC, et al. JAG1 and COL1A1 polymorphisms and haplotypes in relation to bone mineral density variations in postmenopausal Mexican-Mestizo Women. *Age* 2013;35:471–8

36. Falcón-Ramírez E, Casas-Avila L, Miranda A, et al. Sp1 polymorphism in collagen I  $\alpha$  1 gene is associated with osteoporosis in lumbar spine of Mexican women. *Mol Biol Rep* 2011;38:2987–92
37. Kiel DP, Demissie S, Dupuis J, Lunetta KL, Murabito JM, Karasik D. Genome-wide association with bone mass and geometry in the framingham heart study. *BMC Med Genet* 2007;8:1–13
38. García-Giralt N, Nogués X, Enjuanes A, et al. Two new single-nucleotide polymorphisms in the COL1A1 upstream regulatory region and their relationship to bone mineral density. *J Bone Miner Res* 2002;17:384–93
39. Yamada Y, Ando F, Niino N, Shimokata H. Association of a -1997G->T polymorphism of the collagen I  $\alpha$ 1 gene with bone mineral density in postmenopausal Japanese women. *Hum Biol* 2005;77:27–36
40. Ávila-Rodríguez HG. Asociación de las variantes alélicas de los genes del receptor de estrógeno 1 (ESR1) y C6orf97 con densidad mineral ósea en mujeres de 40 a 80 años. 2014;1.
41. Liu J-m, Zhang M-j, Zhao L, et al. Analysis of Recently Identified Osteoporosis Susceptibility Genes in Han Chinese Women. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:E112–E120
42. Zhang Y-P, Deng F-Y, Chen Y, et al. Replication study of candidate genes/loci associated with osteoporosis based on genome-wide screening. *Osteoporos Int* 2010;21:785–95
43. Luo L, Xia W, Nie M, et al. Association of ESR1 and C6orf97 gene polymorphism with osteoporosis in postmenopausal women. *Mol Biol Rep* 2014;41:3235–43
44. Ivanova JT, Doukova PB, Boyanov MA, Popivanov PR. PvuII and XbaI polymorphisms of the estrogen receptor gene and bone mineral density in a Bulgarian population sample. *Hormones* 2007; 6:36–43
45. Albagha OME, Pettersson U, Stewart A, et al. Association of oestrogen receptor alpha gene polymorphisms with postmenopausal bone loss, bone mass, and quantitative ultrasound properties of bone. *J Med Genet* 2005;42:240–6
46. Wang K, Shi D, Sun L, et al. Association of estrogen receptor alpha gene polymorphisms with bone mineral density: a meta-analysis. *Chin. Med. J* 2012;125:2589–97
47. Xie P, Liu B, Zhang L, et al. Association of COL1A1 polymorphisms with osteoporosis: A meta-analysis of clinical studies. *Int J Clin Exp Med* 2015;8:14764–81
48. Gehlbach S, Saag KG, Adachi JD, et al. Previous fractures at multiple sites increase the risk for subsequent fractures: the Global Longitudinal Study of Osteoporosis in Women. *J Bone Miner Res* 2012;27:645–53

---

## Bibliografía

---

- Albagha, O M E, U Pettersson, A Stewart, F E a McGuigan, H M MacDonald, D M Reid, and S H Ralston. 2005. "Association of Oestrogen Receptor Alpha Gene Polymorphisms with Postmenopausal Bone Loss, Bone Mass, and Quantitative Ultrasound Properties of Bone." *J Med Genet* 42: 240–46. <https://doi.org/10.1136/jmg.2004.023895>.
- Arden, NK, J Baker, C Hogg, K Baan, and TD Spector. 1996. "The Heritability of Bone Mineral Density, Ultrasound of the Calcaneus and Hip Axis Length: A Study of Postmenopausal Twins." *J Bone Miner Res* 11 (4): 530–34. <https://doi.org/10.1002/jbmr.5650110414>.
- Arora, Rohit, Tobias Roth, Franz Kralinger, and Michael Blauth. 2008. "A Representative Case of Osteoporotic Distal Radius Fracture." *J Orthop Trauma* 22: S116–20.
- Arzac, P, and J Tamayo. 1996. "How Many Women Have Osteoporosis in Medica Sur Osteoporosis Clinic." *J Bone Miner Res* 11 (Suppl 1): s361.
- "Asociación Mexicana de Metabolismo Óseo y Mineral. Consenso Mexicano de Osteoporosis." 2001. *Rev Invest Clin* 53: 469–95.
- "Assessment of Fracture Risk and Its Application to Screening for Postmenopausal Osteoporosis. Report of a WHO Study Group." 1994. *World Health Organ Techn Rep Ser* 843: 1–129.
- Augat, Peter, and Jörg Goldhahn. 2016. "Osteoporotic Fracture Fixation - A Biomechanical Perspective." *Injury* 47 (S2): S1–2. [https://doi.org/10.1016/S0020-1383\(16\)47001-4](https://doi.org/10.1016/S0020-1383(16)47001-4).
- Ávila-Rodríguez, Hilda Guadalupe. 2014. "Asociación de Las Variantes Alélicas de Los Genes Del Receptor de Estrógeno 1 (ESR1) y C6orf97 Con Densidad Mineral Ósea En Mujeres de

40 a 80 Años.”

Bauer, Douglas C. 2013. “Calcium Supplements and Fracture Prevention.” *N Engl J Med* 369: 1537–43. <https://doi.org/10.1056/NEJMcp1210380>.

Bogoch, Earl R, Victoria Elliot-Gibson, Benjamin G Escott, and Dorcas E Beaton. 2008. “The Osteoporosis Needs of Patients With Wrist Fracture.” *J Orthop Trauma* 22 (8): s73–78.

Borgonio-Cuadra, VM, NC González-Huerta, EX Rojas-Toledo, E Morales-Hernández, N Pérez-Hernández, JM Rodríguez-Pérez, CA Tovilla-Zárate, et al. 2019. “Genetic Association Analysis of Osteopontin and Matrix Gla Protein Genes Polymorphisms with Primary Knee Osteoarthritis in Mexican Population.” *Clin Rheumatol* 38 (1): 223–28. <https://doi.org/10.1007/s10067-018-4146-7>.

Boulpaep, EL, and WF Boron. 2005. *Medical Physiology: A Cellular and Molecular Approach*. Philadelphia: Saunders.

Brodsky, B, and AV Persikov. 2005. “Molecular Structure of the Collagen Triple Helix.” *Adv Protein Chem*, no. 70: 301–39.

Burton, PR, MD Tobin, and JL Hopper. 2005. “Genetic Epidemiology 1. Key Concepts in Genetic Epidemiology.” *Lancet* 366: 941–51.

Carlos, Fernando, Patricia Clark, Rosa María Galindo-Suárez, and Laura Gabriela Chico-Barba. 2013. “Health Care Costs of Osteopenia, Osteoporosis, and Fragility Fractures in Mexico.” *Arch Osteoporos* 8: 125. <https://doi.org/10.1007/s11657-013-0125-4>.

Cauley, JA, J Robbins, Z Chen, and Et Al. 2003. “For the Women’s Health Initiative Investigators. Effects of Estrogen plus Progestin on Risk of Fracture and Bone Mineral

- Density: The Women's Health Initiative Randomized Trial." *JAMA* 290: 1729–38.
- CENETEC. 2013. "Rehabilitación de Fracturas Distales de Radio." Mexico.
- Chesi, Alessandra, Jonathan A. Mitchell, Heidi J. Kalkwarf, Jonathan P. Bradfield, Joan M. Lappe, Shana E. McCormack, Vicente Gilsanz, et al. 2015. "A Trans-Ethnic Genome-Wide Association Study Identifies Gender-Specific Loci Influencing Pediatric ABMD and BMC at the Distal Radius." *Human Molecular Genetics* 24 (17): 5053–59.  
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddv210>.
- Cheung, Wing Hoi, Theodore Miclau, Simon Kwoon-ho Chow, Frank F Yang, and Volker Alt. 2016. "Fracture Healing in Osteoporotic Bone." *Injury, Int. J. Care Injured* 47 (S2): S21–26. [https://doi.org/10.1016/S0020-1383\(16\)47004-X](https://doi.org/10.1016/S0020-1383(16)47004-X).
- Clark, P, F Carlos, and JLV Martínez. 2010. "Epidemiology, Costs and Burden of Osteoporosis in Mexico." *Arch Osteoporos*. <https://doi.org/10.1007/s11657-010-0042-8>.
- Colles, A. 1970. "Historical Paper on the Fracture of the Carpal Extremity of the Radius [1814]." *Injury* 2: 48–50.
- Cordell, HJ, and DG Clayton. 2005. "Genetic Association Studies." *Lancet* 366 (9491): 1121–31.
- Cranney, A, G Guyatt, L Griffith, and Et Al. 2002. "Meta-Analyses of Therapies for Postmenopausal Osteoporosis. IX: Summary of Meta-Analyses of Therapies for Postmenopausal Osteoporosis." *Endocr Rev* 23: 570–78.
- Delezé De Lona, M. 1998. "Osteoporosis. Magnitud Del Problema En México y a Nivel Mundial." *Climaterio* 1: 141–46.
- Delezé De Lona, M, A Aguirre, and F Calva. 1998. "The Prevalence of Osteoporosis and

Osteopenia in DEXA in an Apparently Healthy Mexican Population. A Multicenter Study.”  
*Arthritis Rheum* 40: s41-43.

Delezé De Lona, M, F Cons-Molina, and AR Villa. 2000. “Geographic Differences in Bone Mineral Density of Mexican Women.” *Osteoporos Int* 11: 562–69.

Díez Garcia, Maria del Pilar, Israel Salvador Macías Hernández, Esperanza Ramírez Pérez, Daniel D Chávez Arias, María de los Angeles Soria Bastida, Raúl Granados Rentería, and Fabiana Ballesteros Riverón. 2013. “Características Epidemiológicas de Pacientes Adultos Atendidos Por Fracturas En El Instituto Nacional de Rehabilitación.” *Investigación En Discapacidad* 2 (2): 51–54. <http://www.medigraphic.com/pdfs/invd/ir-2013/ir132a.pdf>.

Dole, Neha S, Kristina Kapinas, Catherine B Kessler, Siu-Pok Yee, Douglas J Adams, Renata C Pereira, and Anne M Delany. 2015. “A Single Nucleotide Polymorphism in Osteonectin 3’ Untranslated Region Regulates Bone Volume and Is Targeted by MiR-433.” *J Bone Miner Res* 30 (4): 723–32. <https://doi.org/10.1177/0963721414541462>.Self-Control.

Dunbier, Anita K, Helen Anderson, Zara Ghazoui, Elena Lopez-Knowles, Sunil Pancholi, Ricardo Ribas, Suzanne Drury, et al. 2011. “ESR1 Is Co-Expressed with Closely Adjacent Uncharacterised Genes Spanning a Breast Cancer Susceptibility Locus at 6q25 . 1.” *PLoS Genetics* 7 (4): s1001382. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001382>.

Dytfeld, Joanna, Michalina Marcinkowska, Natalia Drwêska-Matelska, Michal Michalak, Wanda Horst-Sikorska, and Ryszard Slomski. 2016. “Association Analysis of the COL1A1 Polymorphism with Bone Mineral Density and Prevalent Fractures in Polish Postmenopausal Women with Osteoporosis.” *Arch Med Sci* 12 (2): 288–94. <https://doi.org/10.5114/aoms.2016.59253>.

Elliot, V, ER Bogoch, SA Jamal, and DE Beaton. 2004. “Practice Patterns in the Diagnosis and Treatment of Osteoporosis after a Fragility Fracture: A Systematic Review.” *Osteoporos Int* 15: 767–78.

Espinosa Gutiérrez, Alejandro. 2012. “Fracturas de Radio Distal En Pacientes Con Osteoporosis.” In *Osteoporosis. Prevención, Diagnóstico, Tratamiento y Rehabilitación.*, edited by Luis G. Ibarra and M Valdés Flores, 1a., 154–62. México, D.F.: Trillas.

Falch, JA. 1983. “Epidemiology of Fractures of the Distal Forearm in Oslo, Norway.” *Acta Orthop Scand* 54 (2): 291–95. <https://doi.org/10.3109/17453678308996572>.

Falcón-Ramírez., Edith, Leonora Casas-Avila, Antonio Miranda, Pilar Díez, Clementina Castro, Julieta Rubio, Rocío Gómez, and Margarita Valdés-Flores. 2011. “Sp1 Polymorphism in Collagen I  $\alpha$  1 Gene Is Associated with Osteoporosis in Lumbar Spine of Mexican Women.” *Mol Biol Rep* 38 (5): 2987–92. <https://doi.org/10.1007/s11033-010-9963-y>.

Falcón-Ramírez, Edith, Leonora Casas-Ávila, Antonio Miranda, Pilar Díez, Clementina Castro, Julieta Rubio, Rocío Gómez, and Margarita Valdés-Flores. 2011. “Sp1 Polymorphism in Collagen I A1 Gene Is Associated with Osteoporosis in Lumbar Spine of Mexican Women.” *Mol Biol Rep* 38: 2987–92. <https://doi.org/10.1007/s11033-010-9963-y>.

Falcón-Ramírez, Edith, Alberto Hidalgo-Bravo, Blanca Alicia Barredo-Prieto, and Ernesto Pineda-Gómez. 2016. “Association of the COL1A1 Gene Polymorphisms in Mexican Postmenopausal Women with Fracture or with Low Bone Mineral Density at the Hip.” *Aging Clin Exp Res* 28: 567–71. <https://doi.org/10.1007/s40520-015-0449-6>.

Falcón-Ramírez, Edith, Alberto Hidalgo-Bravo, Blanca Alicia Barredo-Prieto, Ernesto Pineda-Gómez, and Margarita Valdés-Flores. 2016. “Association of the COL1A1 Gene

Polymorphisms in Mexican Postmenopausal Women with Fracture or with Low Bone Mineral Density at the Hip.” *Aging Clin Exp Res* 28 (3): 567–71.

<https://doi.org/10.1007/s40520-015-0449-6>.

Farias-Cisneros, Efrain, Félix Gil-Orbezo, Cesáreo Trueba-Davalillo, and Rodrigo Jaspeado-Reynoso. 2010. “Functional Result in Distal Radius Fractures. Comparison between the Severity of the Fracture, the Treatment of Choice and the Baseline X-Ray Parameters.” *Acta Ortop Mex* 24 (4): 220–29.

Ferrari, Serge. 2008. “Human Genetics of Osteoporosis.” *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism* 22 (5): 723–35. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2008.08.007>.

Garcia-Giralt, Natalia, Xavier Nogués, Anna Enjuanes, Jordi Puig, Leonardo Mellibovsky, Anne Bay-Jensen, Ramon Carreras, Susana Balcells, Adolfo Díez-Pérez, and Daniel Grinberg. 2002. “Two New Single-Nucleotide Polymorphisms in the COL1A1 Upstream Regulatory Region and Their Relationship to Bone Mineral Density.” *Journal of Bone and Mineral Research* 17 (3): 384–93. <https://doi.org/10.1359/jbmr.2002.17.3.384>.

Gehlbach, S, KG Saag, JD Adachi, FH Hooven, J Flahive, and Et Al. 2012. “Previous Fractures at Multiple Sites Increase the Risk for Subsequent Fractures: The Global Longitudinal Study of Osteoporosis in Women.” *J Bone Miner Res* 27: 645–53. <https://doi.org/10.1002/jbmr.1476>.

Gehrmann, Sebastian V, Joachim Windolf, and Robert A Kaufmann. 2008. “Distal Radius Fracture Management in Elderly Patients: A Literature Review.” *J Hand Surg* 33A: 421–29.

Gomez, R, JJ Magaña, B Cisneros, E Perez-Salazar, S Faugeron, D Veliz, C Castro, J Rubio, L Casas, and M Valdes-Flores. 2007. “Association of the Estrogen Receptor Alfa Gene

Polymorphisms with Osteoporosis in the Mexican Population.” *Clinical Genetics* 72: 574–81.

Guéguen, R, P Jouanny, F Guillemin, C Kuntz, J Pourel, and G Siest. 1995. “Segregation Analysis and Variance Components Analysis of Bone Mineral Density in Healthy Families.” *J Bone Miner Res* 10 (12): 2017–22. <https://doi.org/10.1002/jbmr.5650101223>.

Handoll, Helen HG, and Joanne Elliott. 2015. “Rehabilitation for Distal Radial Fractures in Adults.” *Cochrane Database of Systematic Reviews*, no. 9 (September). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003324.pub3>.

Harvey, N C, C C Glüer, N Binkley, E V Mccloskey, M Brandi, C Cooper, D Kendler, et al. 2015. “Trabecular Bone Score (TBS) as a New Complementary Approach for Osteoporosis Evaluation in Clinical Practice.” *Bone* 78: 216–24. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2015.05.016>.

Hofbauer, LC, S Khosla, and CR et al Dunstan. 1999. “Estrogen Stimulates Gene Expression and Protein Production of Osteoprotegerin in Human Osteoblastic Cells.” *Endocrinology*, no. 140: 4367–70.

Ikpeze, Tochukwu C, Heather C Smith, Daniel J Lee, and John C Elfar. 2016. “Distal Radius Fracture Outcomes and Rehabilitation.” *Geriatric Orthopaedic Surgery & Rehabilitation* 7 (4): 202–5.

INEGI. 2017a. “Población, Hogares y Vivienda.” Instituto Nacional de Geografía y Estadística. 2017. <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/temas/default.aspx?s=est&c=17484>.

———. 2017b. “Población.” Instituto Nacional de Geografía y Estadística. 2017.

<http://www.beta.inegi.org.mx/temas/estructura/>.

Ivanova, Jivka T, Polet B Doukova, Mihail A Boyanov, and Plamen R Popivanov. 2007. "PvuII and XbaI Polymorphisms of the Estrogen Receptor Gene and Bone Mineral Density in a Bulgarian Population Sample." *Hormones* 6 (1): 36–43.

Jia, Min, Karin Dalhman-Wright, and Jan-Ake Gustafsson. 2015. "Estrogen Receptor Alpha and Beta in Health and Disease." *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 29 (4): 557–68. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2015.04.008>.

Jiang, Pengtao, Yueran Li, Andrey Poleshko, Valentina Medvedeva, Natalia Baulina, Yongchao Zhang, Yan Zhou, et al. 2017. "The Protein Encoded by the CCDC170 Breast Cancer Gene Functions to Organize the Golgi-Microtubule Network." *EBioMedicine* 22: 28–43. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.06.024>.

Jin, H, E Evangelou, J P A Ioannidis, and S H Ralston. 2011. "Polymorphisms in the 5' Flank of COL1A1 Gene and Osteoporosis: Meta-Analysis of Published Studies." *Osteoporos Int* 22 (3): 911–21. <https://doi.org/10.1007/s00198-010-1364-5>.

Jin, H, TL Stewart, R Vant Hof, DM Reid, RM Aspden, and S Ralston. 2009. "A Rare Haplotype in the Upstream Regulatory Region of COL1A1 Is Associated with Reduced Bone Quality and Hip Fracture." *J Bone Miner Res* 24 (3): 448–54. <https://doi.org/10.1359/JBMR.081111>.

Jin, Huilin, Rob J van't Hof, Omar M Albagha, and Stuart H. Ralston. 2009. "Promoter and Intron 1 Polymorphisms of COL1A1 Interact to Regulate Transcription and Susceptibility to Osteoporosis." *Human Molecular Genetics* 18 (15): 2729–38.

- Johnell, O, and J Kannis. 2005. "Epidemiology of Osteoporotic Fractures." *Osteoporos Int* 16: S3-7.
- Kandemir, Utku, Amir Matityahu, Rohan Desai, and Christian Puttlitz. 2008. "Does a Volar Locking Plate Provide Equivalent Stability as a Dorsal Nonlocking Plate in a Dorsally Comminuted Distal Radius Fracture? A Biomechanical Study." *J Orthop Trauma* 22: 605–10.
- Kanis, JA, EV McCloskey, H Johansson, A Odén, O Strom, and F Borgström. 2010. "Development and Use of FRAX® in Osteoporosis." *Osteoporosis International* 21 (Suppl 2): S407-13.
- Karasik, David, and S. L. Ferrari. 2008. "Contribution of Gender-Specific Genetic Factors to Osteoporosis Risk." *Annals of Human Genetics* 72: 696–714.  
<https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.2008.00447.x>.
- Keita, I, and SM Perren. 2007. "Biology and Biomechanics in Bone Healing." In *AO Principles of Fracture Management, Volume 1*, edited by TP Rüedi, R Buckley, and C Moran, 2nd ed., 9–32. New York, N.Y.: AO Publishing. <https://doi.org/978-1-58890-556-7>.
- Kellam, JF, EG Meinberg, J Agel, MD Karam, and CS Roberts. 2018. "Fracture and Dislocation Classification Compendium—2018." *Journal of Orthopaedic Trauma* 32 (1): S28–32.
- Kettler, M, V Kuhn, M Schieker, and CP Melone. 2008. "Do We Need to Include Osteoporosis in Today's Classification of Distal Radius Fractures?" *J Orthop Trauma* 22 (8 Suppl): S79-82.
- Khoury, MJ. 1998. "Genetic and Epidemiologic Approaches to the Search for Gene-

Environment Interaction: The Case of Osteoporosis.” *American Journal of Epidemiology* 147 (1): 1–2.

Kiel, Douglas P., Serkalem Demissie, Josée Dupuis, Kathryn L. Lunetta, Joanne M. Murabito, and David Karasik. 2007. “Genome-Wide Association with Bone Mass and Geometry in the Framingham Heart Study.” *BMC Medical Genetics* 8 (SUPPL. 1): 1–13.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2350-8-S1-S14>.

Kiel, DP, S Demissie, J Dupuis, KL Lunetta, JM Murabito, and D Karasik. 2007. “Genome-Wide Association with Bone Mass and Geometry in the Framingham Heart Study.” *BMC Medical Genetics* 8 (Suppl): 1–14.

Kim, Beom-jun, Seong Hee Ahn, Hyeon-mok Kim, Shiro Ikegawa, Tie-lin Yang, Yan Guo, Hong-wen Deng, Jung-min Koh, and Seung Hun Lee. 2016. “Replication of Caucasian Loci Associated with Osteoporosis-Related Traits in East Asians.” *J Bone Metab* 23: 233–42.

Kini, Usha, and B N Nandeesh. 2012. “Physiology of Bone Formation, Remodeling, and Metabolism.” In *Radionuclide and Hybrid Bone Imaging*, edited by Ignac Fogelman, Gopinath Gnanasegaran, and Hans Wall, 29–57. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-02400-9>.

Klotzbuecher, Carolyn M, Philip D Ross, Pamela B Landsman, Thomas A Abbott, and Marc Berger. 2000. “Patients with Prior Fractures Have an Increased Risk of Future Fractures: A Summary of the Literature and Statistical Synthesis.” *J Bone Miner Res* 15 (4): 721–39.

Kobayashi, S, HE Takahashi, and A Ito. 2003. “Trabecular Minimodeling in Human Iliac Bone.” *Bone*, no. 32: 163–69.

- Kreder, HJ, DP Hanel, M McKee, J Jupiter, G McGillivray, and MF Swiontkowski. 1996. "Consistency of AO Fracture Classification for the Distal Radius." *J Bone Joint Surg Br* 78: 726–31.
- Lafontaine, M, D Hardy, and P Delince. 1989. "Stability Assessment of Distal Radius Fractures." *Injury* 20 (4): 208–10.
- Lago Acosta, Alberto de, Miguel Gerado Parada Tapia, and Joel Somera Iturbide. 2008. "Prevalencia de Osteoporosis En Población Abierta de La Ciudad de México." *Ginecol Obstet Mex* 76 (5): 261–66.
- Lane, JM, L Rusell, and SN Khan. 2000. "Osteoporosis." *Clin Orthop* 372: 139–50.
- Lax-Pérez, R, J Vicent-Vera, B Picazo-Gabaldón, MC Sánchez-Baeza, and JL Díaz-Almodóvar. 2008. "Factores Pronósticos En El Tratamiento de Las Fracturas de Radio Distal: Comparación Entre Placa Volar y Fijador Externo." *Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología* 52 (5): 300–305.
- Lewis, CM, and James Knight. 2012. "Introduction to Genetic Association Studies." *Cold Spring Harb Protoc*, no. 3: 297–306.
- Lindsay, R, and PJ Meunier. 1998. "Osteoporosis: Review of the Evidence for Prevention, Diagnosis and Treatment and Cost-Effectiveness Analysis." *Osteoporos Int* 8: S1-8.
- Link, Thomas M. 2016. "Radiology of Osteoporosis." *Can Assoc Radiol J* 67 (1): 28–40. <https://doi.org/10.1016/j.carj.2015.02.002>.
- Liu, Jian-min, Min-jia Zhang, Lin Zhao, Bin Cui, Zhi-bin Li, and Hong-yan Zhao. 2010. "Analysis of Recently Identified Osteoporosis Susceptibility Genes in Han Chinese

- Women.” *J Clin Endocrinol Metab* 95 (9): E112–20. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-2768>.
- Logan, CY, and R Nusse. 2004. “The Wnt Signaling Pathway in Development and Disease.” *Annu Rev Cell Dev Biol* 20: 781–810.
- Luo, L, W Xia, M Nie, Y Sun, Y Jiang, J Zhao, S He, and L Xu. 2014. “Association of ESR1 and C6orf97 Gene Polymorphism with Osteoporosis in Postmenopausal Women.” *Mol Biol Rep* 41 (5): 3235–43.
- Mach, DB, SD Rogers, MC Sabino, NM Luger, MJ Schwei, JD Pomonis, CP Keyser, et al. 2002. “Origins of Skeletal Pain: Sensory and Sympathetic Innervation of the Mouse Femur.” *Neuroscience* 113 (1): 155–56.
- MacKenney, PJ, MM McQueen, and Elton R. 2006. “Prediction of Instability in Distal Radius Fractures.” *J Bone Joint Surg Am* 88A: 1944–51.
- Mackie, EJ. 2003. “Osteoblasts: Novel Roles in Orchestration of Skeletal Architecture.” *Int J Biochem Cell Biol* 35: 1301–5.
- Magaña, JJ, MR Gómez, B Cisneros, L Casas, G Suastegui, MP Diez, and M Valdés. 2006. “Association of the Calcitonin Gene (CA) Polymorphism with Bone Mineral Density in Osteoporotic Mexican Women.” *Clinical Genetics* 70 (5): 402–8.
- Majchrzycki, Marian, Joanna Bartkowiak-Wieczorek, Hubert Wolski, Krzysztof Drews, Anna Bogacz, Bogusław Czerny, Edyta Zagrodnik-Ujan, and Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz. 2015. “Polymorphisms of Collagen 1A1 (COL1A1) Gene and Their Relation to Bone Mineral Density in Postmenopausal Women.” *Ginekologia Polska* 86 (12): 907–14. <https://doi.org/10.17772/gp/60550>.

- Manolagas, SC. 2000. "Birth and Death of Bone Cells: Basic Regulatory Mechanisms and Implications for the Pathogenesis and Treatment of Osteoporosis." *Endocr Rev* 21: 115–37.
- Manolio, TA, LD Brooks, and FS Collins. 2008. "A HapMap Harvest of Insights into the Genetics of Common Disease." *J Clin Invest* 118 (5): 1590–1605.  
<https://doi.org/10.1172/JCI34772>.
- Martinaityte, Ieva, Rolf Jorde, Nina Emaus, Anne Elise Eggen, Martin Joakimsen, and Elena Kamycheva. 2017. "Bone Mineral Density Is Associated with Vitamin D Related Rs6013897 and Estrogen Receptor Polymorphism Rs4870044: The Tromsø Study." *PLoS ONE* 12 (3): e0173045. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173045>.
- Matkovic, V, T Jelic, and GM Wardlaw. 1994. "Timing of Peak Bone Mass in Caucasian Females and Its Implication for the Prevention of Osteoporosis. Interference from a Cross-Sectional Model." *J Clin Invest* 93: 799–808.
- Matzko, Michelle Elizabeth, Thomas R Bowen, and Wade R Smith. 2012. "Orthogenomics: An Update." *J Am Acad Orthop Surg* 20: 536–46. [https://doi.org/10.5435/JAAOS-20\\_08-536](https://doi.org/10.5435/JAAOS-20_08-536).
- Melton, LJ, M Thamer, NF Ray, JK Chan, CH Chesnut, TA Einhorn, CC Johnston, LG Raisz, SL Silverman, and ES Siris. 1997. "Fractures Attributable to Osteoporosis: Report from the National Osteoporosis Foundation." *J Bone Miner Res* 12: 16–23.
- Mohammed, Maryam K., Connie Shao, Jing Wang, Qiang Wei, Xin Wang, Zachary Collier, Shengli Tang, et al. 2016. "Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling Plays an Ever-Expanding Role in Stem Cell Self-Renewal, Tumorigenesis and Cancer Chemoresistance." *Genes and Diseases* 3 (1): 11–40. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2015.12.004>.

- Mudgal, S, and J Jupiter. 2008. "Plate Fixation of Osteoporotic Fractures of the Distal Radius." *J Orthop Trauma* 22 (8).
- Mundy, GR. 1999. "Bone Remodeling." In *Primer on the Metabolic Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*, edited by MJ Favus, 30–37. Lippincott Williams & Wilkins.
- Nencini, Sara, and Jason J. Ivanusic. 2016. "The Physiology of Bone Pain. How Much Do We Really Know?" *Frontiers in Physiology* 7 (157): 1–15.  
<https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00157>.
- Nesbitt, KS, JM Failla, and C Les. 2004. "Assessment of Instability Factors in Adult Distal Radius Fractures." *J Hand Surg* 29A: 1128–38.
- Nevitt, MC. 2001. "Osteoporosis. A. Epidemiology, Pathology and Pathogenesis." In *Primer on the Rheumatic Diseases*, edited by JH Klippel, LJ Crofford, JH Stone, and CM Weyland, 12th ed., 511–18. Atlanta, GA: Arthritis Foundation.
- NIH. 2001. "Consensus Development Panel on Osteoporosis. Prevention, Diagnosis and Therapy." *JAMA* 205: 785–95.
- . 2018. "Bone Density MeSH Descriptor Data 2018." U.S. National Library of Medicine. 2018. [https://meshb.nlm.nih.gov/record/ui?name=Bone Density](https://meshb.nlm.nih.gov/record/ui?name=Bone%20Density).
- Nussbaum, Robert L, Roderick R McInnes, and Huntington F Willard. 2016. "Identifying the Genetic Basis for Human Disease." In *Thompson & Thompson Genetics in Medicine*, edited by RL Nussbaum, RR McInnes, and HF Willard, 8th ed., 560. Philadelphia, PA: Elsevier Inc.
- Oshige, T, A Sakai, Y Zenke, S Moritani, and T Nakamura. 2007. "A Comparative Study of

Clinical and Radiological Outcomes of Dorsally Angulated, Unstable Distal Radius Fractures in Elderly Patients: Intrafocal Pinning Versus Volar Locking Plating.” *J Hand Surg* 32 (A): 1385–92.

Osterhoff, Georg, Elise F Morgan, Sandra J Shefelbine, Lamyia Karim, Laoise M Mcnamara, and Peter Augat. 2016. “Bone Mechanical Properties and Changes with Osteoporosis.” *Injury, Int. J. Care Injured* 47 (S2): S11–20. [https://doi.org/10.1016/S0020-1383\(16\)47003-8](https://doi.org/10.1016/S0020-1383(16)47003-8).

Øyen, Jannike, Andreas P. Diamantopoulos, and Glenn Haugeberg. 2014. “Mortality after Distal Radius Fracture in Men and Women Aged 50 Years and Older in Southern Norway.” *PLoS ONE* 9 (11): 9–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112098>.

Padegimas, Eric M, and Asif M Ilyas. 2015. “Distal Radius Fractures Emergency Department Evaluation and Management.” *Orthopedic Clinics of NA* 46 (2): 259–70. <https://doi.org/10.1016/j.ocl.2014.11.010>.

Palaniswamy, Chandrasekar, Dhana Rekha Selvaraj, Varuni Rao, and Umesh Patel. 2010. “Newer Therapies for Osteoporosis.” *Am J Ther* 17: 197–200.

Patel, Shaun P, and Tamara D Rozental. 2014. “Management of Osteoporotic Patients with Distal Radial Fractures.” *JBJS REVIEWS* 2 (5): e1. <https://doi.org/10.2106/JBJS.RVW.M.00113>.

Pocock, NA, JA Eisman, and JL Hopper. 1987. “Genetic Determinants of Bone Mass in Adults: A Twin Study.” *J Clin Invest*, no. 80: 706–10.

Poole, KE, and J Reeve. 2005. “Parathyroid Hormone - a Bone Anabolic and Catabolic Agent.” *Curr Opin Pharmacol* 5 (6): 612–17.

- Pottelbergh, I Van, S Goemaere, L Nuytinck, A De Paepe, and JM Kaufman. 2001. "Association of the Type I Collagen Alpha 1 Sp1 Polymorphism , Bone Density and Upper Limb Muscle Strength in Community-Dwelling Elderly Men." *Osteoporosis International* 12: 895–901.
- Raabe, Tobias D.Ph.D., and Arno A.M.D. Roscher. 2012. "International Museum of Surgical Science." SURGICOGENOMICS. Genes and Stem Cells in Surgery. 2012.  
<https://www.imss.org/newexhibits.htm>.
- Ralston, Stuart H, and Benoit De Crombrughe. 2006. "Genetic Regulation of Bone Mass and Susceptibility to Osteoporosis." *Genes and Development* 20: 2492–2506.  
<https://doi.org/10.1101/gad.1449506.contribution>.
- Richards, JB, FK Kavvoura, F Rivadeneira, U Styrkársdóttir, K Estrada, BV Halldórsson, Yi-Hsiang Hsu, et al. 2009. "Collaborative Meta-Analysis: Associations of 150 Candidate Genes With Osteoporosis and Osteoporotic Fracture." *Ann Intern Med* 151 (8): 528–37.  
<https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2011.07.002.Identification>.
- Rizzoli, René. 2008. "Nutrition: Its Role in Bone Health." *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 22 (5): 813–29. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2008.08.005>.
- . 2014. "Nutritional Aspects of Bone Health." *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 28: 795–808. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2014.08.003>.
- Rodriguez, Santiago, Tom R. Gaunt, and Ian N. M. Day. 2009. "Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Biological Ascertainment for Mendelian Randomization Studies." *American Journal of Epidemiology* 6. <https://doi.org/10.1093/aje/kwn359>.
- Rojano-Mejía, David, Ramón M. Coral-Vázquez, Leticia Cortes Espinosa, Guillermo López-

- Medina, María C. Aguirre-García, Agustín Coronel, and Patricia Canto. 2013. "JAG1 and COL1A1 Polymorphisms and Haplotypes in Relation to Bone Mineral Density Variations in Postmenopausal Mexican-Mestizo Women." *Age* 35 (2): 471–78.  
<https://doi.org/10.1007/s11357-011-9363-9>.
- Rozental, Tamara D, Charles C Branas, David J Bozentka, and Pedro K Beredjikian. 2002. "Survival among Elderly Patients after Fractures of the Distal Radius." *J Hand Surg* 27A (6): 948–52. <https://doi.org/10.1053/jhsu.2002.36995>.
- Rozental, Tamara D, Michael A Vazquez, Aron T Chacko, Nworah Ayugu, and Mary L Bouxsein. 2009. "Comparison of Radiographic Fracture Healing in the Distal Radius for Patients on and off Bisphosphonate Therapy." *J Hand Surg* 34 (A): 595–602.
- Rubin, MR, DH Schussheim, CA Kulak, ES Kurland, CJ Rosen, JP Bilezikian, and E Shane. 2004. "Idiopathic Osteoporosis in Premenopausal Women." *Osteoporos Int* 6: 812–18.
- Sakai, A, T Oshige, Y Zenke, M Suzuki, Y Yamanaka, and T Nakamura. 2008. "Association of Bone Mineral Density With Deformity of the Distal Radius in Low-Energy Colles' Fractures in Japanese Women Above 50 Years of Age." *J Hand Surg* 33 (A): 820–26.
- Schlesselman, James J. 1982. *Case-Control Studies: Design, Conduct, Analysis*. New York: Oxford University Press.
- Selezneva, LI, RI Khusainova, RZ Nurlygaianov, EA Fazlyeva, KP Usenko, OM Lesniak, and EK. Khucnutdinova. 2008. "Association of Polymorphisms and Haplotypes in the 5' Region of COL1A1 Gene with the Risk of Osteoporotic Fractures in Russian Women from Volga-Ural Region." *Genetika* 44 (2): 219–25.

- Simic, Paul M, and Andrew J Weiland. 2003. "Fractures of the Distal Aspect of the Radius: Changes in Treatment over the Past Two Decades." *J Bone Joint Surg Am* 85-A (3): 552–64.
- Singh, Monica, Puneetpal Singh, Surinder Singh, Pawan Kumar Juneja, and Taranpal Kaur. 2013. "A Haplotype Derived from the Common Variants at the -1997G/T and Sp1 Binding Site of the COL1A1 Gene Influences Risk of Postmenopausal Osteoporosis in India." *Rheumatol* 33 (2): 501–6. <https://doi.org/10.1007/s00296-011-2192-4>.
- Sipos, Wolfgang, Peter Pietschmann, Martina Rauner, Katharina Kerschanschindl, and Janina Patsch. 2009. "Pathophysiology of Osteoporosis." *Wien Med Wochenschr* 159 (9–10): 230–34. <https://doi.org/10.1007/s10354-009-0647-y>.
- Stewart, TL, and SH Ralston. 2000. "Role of Genetic Factors in the Pathogenesis of Osteoporosis." *J. Endocrinol.* 166: 235–45.
- Suva, LJ, D Gaddy, DS Perrien, RL Thomas, and DM Findlay. 2005. "Regulation of Bone Mass by Mechanical Loading: Microarchitecture and Genetics." *Curr Osteoporos Rep* 3 (2): 46–51.
- Taichman, R S. 2005. "Blood and Bone: Two Tissues Whose Fates Are Intertwined to Create the Hematopoietic Stem Cell Niche." *Blood* 105: 2631–39.
- Tamayo, Juan, Rodrigo Díaz, Eduardo Lazcano-Ponce, Madeline Muñoz, Gerardo Huitrón, Elizabeth Halley, Juan Carlos Díaz-Montiel, Jyoti Mudgal, Mauricio Hernández-Ávila, and Jorge Salmerón. 2009. "Reference Values for Areal Bone Mineral Density among a Healthy Mexican Population." *Salud Publica de Mexico* 51 (SUPPL.1): 56–83. <https://doi.org/10.1590/S0036-36342009000700010>.

- Tejwani, Nirmal C, and Enrique Guerado. 2011. "Improving Fixation of the Osteoporotic Fracture: The Role of Locked Plating." *J Orthop Trauma* 25 (6 Supplement): S56–60.
- Templeton, K. 2005. "Secondary Osteoporosis." *J Am Acad Orthop Surg* 13 (17): 475–86.
- Tenesa, Albert, and Chris S Haley. 2013. "The Heritability of Human Disease: Estimation, Uses and Abuses." *Nature Reviews Genetics* 14 (2): 139–49.
- Ting, Beverlie L., Kempland C. Walley, Thomas G. Travison, and Tamara D. Rozental. 2017. "Elevated Bone Turnover Markers Are Associated With Distal Radius Fractures in Premenopausal Women." *Journal of Hand Surgery* 42 (2): 71–77.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhsa.2016.12.003>.
- Tulipan, Jacob, Christopher M. Jones, and Asif M. Ilyas. 2015. "The Effect of Osteoporosis on Healing of Distal Radius Fragility Fractures." *Orthopedic Clinics of North America* 46 (4): 541–49. <https://doi.org/10.1016/j.ocl.2015.06.012>.
- Tulipan, Jacob, Christopher M Jones, and Asif M Ilyas. 2016. "The Effect of Osteoporosis on Healing of Distal Radius Fragility Fractures." *Orthopedic Clinics of NA* 46 (4): 541–49. <https://doi.org/10.1016/j.ocl.2015.06.012>.
- Uchiyama, S, T Itsubo, K Nakamura, Y Fujinaga, N Sato, T Imaeda, M Kadoya, and H Kato. 2013. "Effect of Early Administration of Alendronate after Surgery for Distal Radial Fragility Fracture on Radiological Fracture Healing Time." *Bone Joint J* 95 (B): 1544–50.
- Valdés-Flores, Margarita, Leonora Casas-Ávila, Edith Falcón-Ramírez, and Valeria Ponce-de-León-Suárez. 2012. "Aspectos Genéticos de La Osteoporosis." *Rev Invest Clin* 64 (3): 294–307.

- Veeraraghavan, Jamunarani, Ying Tan, Xi-Xi Cao, Jin-Ah Kim, Xian Wang, Gary C Chamness, Sourindra N Maiti, et al. 2014. "Recurrent ESR1-CCDC170 Rearrangements in an Aggressive Subset of Estrogen-Receptor Positive Breast Cancers." *Nature Communications* 5 (6188): 4577. <https://doi.org/10.1038/ncomms5577>.
- Villalobos-Comparán, Marisela, Rogelio F. Jiménez-Ortega, Karol Estrada, Alma Y. Parra-Torres, Anahí González-Mercado, Nelly Patiño, Manuel Castillejos-López, et al. 2017. "A Pilot Genome-Wide Association Study in Postmenopausal Mexican-Mestizo Women Implicates the RMND1/CCDC170 Locus Is Associated with Bone Mineral Density." *International Journal of Genomics* 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/5831020>.
- Wang, Ke-jie, Dong-quan Shi, Li-sheng Sun, Xu Jiang, Yan-yun Lu, Jin Dai, Dong-yang Chen, Zhi-hong Xu, and Qing Jiang. 2012. "Association of Estrogen Receptor Alpha Gene Polymorphisms with Bone Mineral Density: A Meta-Analysis." *Chinese Medical Journal* 125 (14): 2589–97. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2012.14.034>.
- "World Health Organization. Assessment of Fracture Risk and Its Application to Screening for Postmenopausal Osteoporosis. Technical Report Series 843." 1994. Geneva.
- Xie, Peigen, Bin Liu, Liangming Zhang, Ruiqiang Chen, Bu Yang, Jianwen Dong, and Limin Rong. 2015. "Association of COL1A1 Polymorphisms with Osteoporosis: A Meta-Analysis of Clinical Studies." *Int J Clin Exp Med* 8 (9): 14764–81.
- Yamada, Y, F Ando, N Niino, and H Shimokata. 2005. "Association of a -1997G-->T Polymorphism of the Collagen Ialpha1 Gene with Bone Mineral Density in Postmenopausal Japanese Women." *Hum Biol* 77 (1): 27–36.
- Yoo, Je-hyun, Seong-hwan Moon, Yong-chan Ha, Dong Yeon Lee, Hyun Sik Gong, and Si

Young Park. 2015. "Osteoporotic Fracture: 2015 Position Statement of the Korean Society for Bone and Mineral Research." *J Bone Metab* 22 (4): 175–81.

Zhang, Y-P, F-Y Deng, Y Chen, Y-F Pei, Y Fang, Y-F Guo, X Guo, et al. 2010. "Replication Study of Candidate Genes/Loci Associated with Osteoporosis Based on Genome-Wide Screening." *Osteoporos Int* 21 (5): 785–95. <https://doi.org/10.1007/s00198-009-1014-y>.

Zintzaras, Elias, Chrysoula Doxani, Theocharis Koufakis, Alkibiadis Kastanis, Paraskevi Rodopoulou, and Theofilos Karachalios. 2011. "Synopsis and Meta-Analysis of Genetic Association Studies in Osteoporosis for the Focal Adhesion Family Genes: The CUMAGAS-OSTEOPOROSIS Information System." *BMC Medicine* 9 (1): 9. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-9>.