



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN
Luis Guillermo Ibarra Ibarra

ESPECIALIDAD EN:
Genética Médica

**ANÁLISIS DE VARIANTES DE UN SOLO NUCLEÓTIDO (SNVs) EN
LOS GENES DE RECEPTOR DE VITAMINA D Y PROTEÍNA DE
UNIÓN A LA VITAMINA D GC EN MUJERES MEXICANAS
POSTMENOPÁUSICAS QUE PRESENTAN OSTEOPOROSIS EN
CADERA.**

T E S I S
PARA OBTENER EL GRADO DE
MÉDICO ESPECIALISTA EN:
GENÉTICA MÉDICA

P R E S E N T A:
Angelica Castañeda de la Fuente

PROFESOR TITULAR
Dra. María de la Luz Arenas Sordo

DIRECTOR DE TESIS
Dr. Alberto Hidalgo Bravo



Ciudad de México

30 Junio 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Comité académico.

Análisis de variantes de un solo nucleótido (SNVs) en los genes de receptor de vitamina D y proteína de unión a la vitamina D GC en mujeres mexicanas posmenopáusicas que presentan osteoporosis en cadera.

**DRA. EN C. MARÍA DE LA LUZ ARENAS SORDO
PROFESOR TITULAR**

**DR. EN C. ALBERTO HIDALGO BRAVO
DIRECTOR DE TESIS**

**DR. EN C. ALBERTO HIDALGO BRAVO
ASESOR DE TESIS**

Firmas de las autoridades de la Dirección en Educación en Salud.

Análisis de variantes de un solo nucleótido (SNVs) en los genes de receptor de vitamina D y proteína de unión a la vitamina D GC en mujeres mexicanas posmenopáusicas que presentan osteoporosis en cadera.

**DRA. MATILDE L. ENRÍQUEZ SANDOVAL
DIRECTORA DE EDUCACIÓN EN SALUD**

**DR. HUMBERTO VARGAS FLORES
SUBDIRECCIÓN DE EDUCACIÓN MÉDICA**

**DR. ROGELIO SANDOVAL VEGA GIL
JEFE DEL SERVICIO DE EDUCACIÓN MÉDICA DE POSGRADO**

Agradecimientos. –

Dr. Hidalgo, Dr. Miranda y Dra. Arenas
por su paciencia, guía de este proyecto, por
transmitirme los conocimientos necesarios para hoy
poder estar aquí

A mi familia, por su apoyo incondicional para
poder cumplir todos mis objetivos personales y
académicos. Ellos son los que con su cariño me han
impulsado siempre a perseguir mis metas y nunca
abandonarlas, brindándome el soporte para poder
concentrarme en los estudios.

A mi compañero cómplice, gracias por las horas
compartidas y las historias vividas

Índice

Resumen	7
Introducción	8
Embriología y desarrollo óseo.....	8
Desarrollo de los huesos largos.....	11
Factores de transcripción asociados a la osificación.....	14
Vías de señalización en el desarrollo óseo.....	19
Desregulación y relevancia clínica.....	22
Objetivos	24
General.....	24
Específicos.....	25
Hipótesis	25
Marco Teórico	26
Definición	26
Epidemiología.....	27
Diagnóstico.....	30
FRAX.....	30
Osteoporosis secundaria.....	32
Etiología y bases moleculares de la osteoporosis	33
Remodelación y Desequilibrio Óseo.....	33
Vía de señalización de WNT/ β -catenina	34
Eje RANKL/RANK/OPG.....	34
Vitamina D.....	35
Desequilibrios hormonales y pérdida ósea	36

Citoquinas Inflamatorias y Remodelación Ósea.....	37
MicroRNAs y Modificaciones Epigenéticas	37
Genética y Osteoporosis	38
GWAS.	39
VDR	42
GC.....	44
Justificación.	47
Planteamiento del problema.	48
Material y Métodos.	49
Población del estudio y tamaño de muestra.....	49
Criterios de inclusión:.....	50
Criterios de exclusión.	50
Criterios de Eliminación.	51
Metodología	51
Genotipificación.	51
Sondas TaqMan.....	52
Componentes de la reacción de PCR.	54
Resultados.	56
Discusión.	70
Conclusiones.	80
Bibliografía	81
Anexos	95
Lista de Tablas.	95
Lista de Figuras.....	97

Resumen

En la actualidad existen pocos estudios de asociación de SNVs y osteoporosis en la población mexicana. El presente proyecto se enfoca en determinar la asociación de una variante de un solo nucleótido (SNV) del gen de receptor de vitamina D (*VDR*) rs4516035 y del gen de proteína de unión a la vitamina D (*GC*) (rs2282679), con la osteoporosis, ya sea determinando el riesgo incrementado o incluso identificando el SNV como factor protector, de acuerdo con su modelo de herencia. Se incluyeron un total de 306 pacientes posmenopáusicas, atendidas en el Instituto Nacional de Rehabilitación durante el periodo de 2008-2015, 144 pacientes diagnosticados con osteoporosis (casos) y 162 femeninas con T-score en densitometría ósea menor -2.0 (controles). Se realizó genotipificación con PCR tiempo real empleando sondas Taqman, con el software SPSS Statistics se realizó el análisis de datos, mediante estadística descriptiva, además con análisis de regresión se identificarán las asociaciones, en el cual se incluyeron las variables de edad, IMC, años de menopausia, observando una frecuencia alélica T:78%, G:22 para el SNV rs2282679

Palabras clave: osteoporosis, postmenopausia, SNVs, *VDR*, *GC*.

Introducción

El cuerpo humano está compuesto de diversos órganos y sistemas que en conjunto trabajan como una sola unidad. Existen diez sistemas de órganos principales del cuerpo: cardiovascular, circulatorio, esquelético, muscular, nervioso, respiratorio, digestivo, urinario, endocrino, inmunológico-linfático y reproductivo.(1) El sistema musculoesquelético proporciona el andamiaje físico para el cuerpo.(2) El esqueleto en una persona adulta está compuesto por aproximadamente 206 huesos; los huesos forman el esqueleto de la mayoría de los vertebrados, el hueso es un tejido mineralizado vivo, sirve como protección junto con los músculos, tendones y ligamentos permite una locomoción eficiente. (3)

Embriología y desarrollo óseo.

En el embrión, el desarrollo óseo comienza con la migración de células desde la cresta neural y el mesodermo a los sitios de los futuros huesos. Las células de la cresta neural forman el esqueleto craneofacial y las del mesodermo el apendicular y esqueleto axial. Habiendo logrado el sitio predeterminado, forman condensaciones

de alta densidad celular que se asemejan a la forma de los futuros elementos esqueléticos.

Dependiendo de la ubicación anatómica en el cuerpo, el tejido óseo se puede desarrollar de dos maneras; intramembranosa y endocondral. La osificación intramembranosa la realizan los huesos parietales, frontales, las escamas del occipital y temporal mandíbula, maxilar superior. Esta osificación se lleva a cabo directamente en la mesénquima, durante este proceso se expresa el factor de transcripción CBFA1, así como las proteínas morfogénicas BMP2, BMP4 y BMP7. El primer indicio de este proceso es el aumento de la vascularización en el tejido y la disposición de las células mesenquimáticas alrededor de los vasos sanguíneos, constituyendo el centro primario de osificación. (4)

Por otro lado, la mayoría de las partes del esqueleto axial, apendicular y huesos largos, se originan a través de la osteogénesis endocondral, donde se forma un modelo de cartílago como andamiaje, rodeado por un pericondrio, sirviendo como intermediario para formación de hueso. La morfología del tejido cartilaginoso difiere de la morfología ósea y comprende grupo de condrocitos, llamados condrones, incorporados en una matriz rica

en fibrillas de colágeno tipo II, formando una red tridimensional. La red proporciona un andamiaje para complejos proteoglicanos y hialuronato.(3)

La osteogénesis condral consta de dos procesos separados espacialmente: inicialmente, la membrana más interna del pericondrio se convierte directamente en osteoblastos que secretan matriz ósea, formando el manguito o collar óseo pericondral alrededor del modelo de cartílago. Posteriormente, se inicia la osificación endocondrala dentro del modelo del cartílago, comenzando con la migración de la mesénquima vascularizada hacia el esbozo del cartílago, lo que, en pocas palabras, conduce al reemplazo del cartílago por hueso.(3,5)

Desde el periostio, los vasos sanguíneos, los condroblastos y los osteoblastos tempranos invaden el cartílago. Los condroblastos degradan la matriz del cartílago, lo que provoca la formación de la cavidad medular y un andamiaje de cartílago mineralizado. Los osteoblastos recubren el andamio, sintetizan osteoide y, después de su mineralización, quedan atrapados en la matriz ósea, instaurando el centro de osificación primario (POC) diafisario. Los osteoblastos se originan a partir de células osteoprogenitoras, y los

factores de transcripción como *RUNX2* y *SOX*, los cuales son esenciales para su diferenciación.(2,3)

Desarrollo de los huesos largos.

Una vez que se forma el manguito óseo alrededor de la región media del eje (diáfisis), se desarrolla el centro de osificación primario (POC) en la diáfisis, seguido por el centro de osificación secundario (SOC) en la epífisis proximal y distal. Entre la epífisis y la diáfisis se ubica la metáfisis que contiene el cartílago de crecimiento. Su actividad gobierna el crecimiento longitudinal del hueso.

Formación del centro primario de osificación (POC)

Antes del inicio de la formación ósea, se produce la desintegración de la matriz del cartílago, inducida por la diferenciación de los condrocitos que se dividen, maduran y finalmente experimentan una hipertrofia. Los condrocitos hipertróficos son células activas y tienen la capacidad de expresar colágeno tipo X, un sello distintivo de la calcificación o mineralización de la matriz extracelular adyacente. Luego liberan el factor de crecimiento del endotelio vascular (*VEGF*) para atraer células endoteliales, lo que

desencadena el crecimiento de vasos desde el periostio (cubre el manguito óseo) hacia el centro de la diáfisis. La invasión vascular también depende de un reordenamiento proteolítico local de la matriz del cartílago, y las metaloproteinasas (MMP) como MMP 9 y 13, así como MT1-MMP, una MMP unida a la membrana, participan en este proceso debido a su capacidad para dividir el cartílago. (3)

Los condroblastos una vez adheridos a la superficie del cartílago mineralizado a través de la zona de sellado, se activan y liberan fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP), también conocida como fosfatasa ácida5 resistente al tartrato (Acp5). En los sitios de unión, la membrana celular de los condroblastos está muy plegada (borde ondulado) y crea un medio ácido (pH ~4.5) para desmineralizar y luego reabsorber la matriz del cartílago. Este proceso, al mismo tiempo, hace más accesible la red orgánica, y la catepsina K parece ser la responsable de la degradación de las fibrillas de colágeno tipo II.(3)

La erosión continua del cartílago diafisario hace que la cavidad medular se llene de vasos sanguíneos y células hematopoyéticas, además de un andamiaje de cartílago mineralizado sobre el cual los

osteoblastos depositan osteoide. Los osteoblastos se originan a partir de células osteoprogenitoras, y los factores de transcripción como SOX9, RUNX2, SP7 son esenciales para su diferenciación. El osteoide se mineraliza a través de la actividad del fosfato alcalino y forma trabéculas de tejido óseo, lo que conduce al establecimiento del POC.(3)

Una vez que el POC se establece, la formación del centro de osificación secundaria (SOC) se inicia en la epífisis, mediante la invasión de los canales del cartílago vascularizado, seguido de la mineralización del cartílago hipertrófico. (3) Los canales de cartílago forman una red compleja en la epífisis y las células osteogénicas de los canales contribuyen al establecimiento del SOC, el modelo de cartílago original se reemplaza por hueso, estos eventos ocurren en la unión condro-ósea de la placa de crecimiento epifisiario. Esta zona de transición está compuesta por cartílago mineralizado y matriz ósea temprana, la cual se caracteriza por la presencia de condrocitos hipertróficos, condroblastos, osteoblastos y vasos sanguíneos.(3)

Una vez que se completa el crecimiento óseo longitudinal, quedan capas de cartílago hialino en los extremos del hueso, formando el

cartílago articular, este No tiene pericondrio y solo presenta una capacidad limitada para la autorregeneración. El cartílago articular, además, no contiene vasos sanguíneos y la endostatina, actúa como factor antiangiogénico, el cual es el responsable de preservar la avascularidad. (3)

La mayor parte de los centros de osificación secundaria aparecen en etapa postnatal, sin embargo, en el fémur, tibia y húmero aparecen antes del nacimiento. Primero ocurre en la epífisis distal del fémur a las 33 semanas y luego en la epífisis proximal de la tibia y el húmero; estos centros son indicadores de la madurez fetal.(3)

El cartílago articular adulto muestra una organización compleja con una estructura en capas. Comprende una zona superficial con condrocitos aplanados, su eje mayor paralelo a la superficie, seguido de una zona mineralizada medial y profunda con una organización columnar y vertical de los condrocitos. La zona mineralizada se fusiona con el hueso subcondral de soporte. (3)

Factores de transcripción asociados a la osificación.

La activación de factores de transcripción en momentos específicos durante la diferenciación proporciona fases fundamentales para la

formación de hueso.(2) Se han descrito diversos genes involucrados en este proceso, sin embargo, solo se mencionan los que interactúan en la diferenciación de los osteoblastos.

SOX9. Es un miembro de la familia de factores de transcripción que contienen cajas de grupo de alta movilidad (SOX) relacionado con *SRY*, la proteína codificada por este gen reconoce la secuencia CCTTGAG junto con otros miembros de las proteínas de unión al ADN de la clase HMG-box. controla el desarrollo esquelético durante la osificación endocondral. Algunos estudios en ratones han recalado la importancia de *SOX9* como factor de transcripción integral para el compromiso condrogénico, el cual es esencial para establecer el primordio intermedio para la osificación de los osteoblastos. Por otro lado, *SOX9* impulsa la diferenciación del cartílago al activar genes condrogénicos como *COL2A1*.(2,6)

El gen *RUNX2*, es miembro de la familia *RUNX* de factores de transcripción y codifica una proteína nuclear con un dominio de unión a DNA Runt. *RUNX2* se une a la subunidad β del factor de unión central para formar un heterodímero que regula la expresión de genes osteoblásticos, como los que codifican la osteopontina (*SPPP1*), la sialoproteína ósea 2 (*IBSP*) y la osteocalcina 2 (*BGLAP2*).

La actividad de RUNX2 es esencial para la diferenciación osteoblástica y la morfogénesis esquelética ya que actúa como andamio para los ácidos nucleicos y los factores reguladores implicados en la expresión génica del esqueleto (2,7)

El gen SP7, también conocido como *OSX*, codifica un miembro de la subfamilia Sp de factores de transcripción Sp/XKLF. Las proteínas de la familia Sp son proteínas de unión a ADN específicas de secuencia caracterizadas por un dominio de transactivación amino-terminal y tres motivos de dedos de zinc carboxi-terminales. (8) *SP7* se expresa en osteoblastos, osteocitos e incluso en niveles bajos en condrocitos. Presenta un papel importante en la diferenciación, maduración y función de las células óseas, ya que desencadena la diferenciación de osteoblastos a osteocitos. Sin la presencia de *OSX* no se invade la matriz primordial del cartílago. (2,9)

ATF4, es un factor de transcripción que pertenece a una familia de proteínas de unión a ADN que incluye la familia de factores de transcripción AP-1, proteínas de unión a elementos de respuesta a AMPc (*CREB*) y proteínas similares a *CRE*.(10) Los efectos reguladores de *ATF4* en la homeostasis ósea se producen a través de dos mecanismos. Primero, *ATF4* regula la diferenciación de los

osteoblastos a través de la modificación postranscripcional, lo que permite la síntesis de colágeno tipo I, un papel esencial del osteoblasto. En segundo lugar, *ATF4* interactúa de manera cooperativa con *RUNX2* formando un complejo con *SATB2*, mejorando la actividad de ambos factores de transcripción y promoviendo la osteogénesis. Además, la actividad de *ATF4* es suprimida por el factor que inhibe la transcripción mediada por *ATF4* (*FIAT*). *ATF4* y *FIAT* (también conocido como *TXLNG*) se expresan en osteoblastos. (2)

Genes asociados al desarrollo óseo

	EFEECTO	MECANISMO DE ACCIÓN
FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN		
<i>AP-1</i>	Regula la homeostasis de los osteoblastos	Mejora la expresión <i>RUNX2</i>
<i>FIAT</i>	Reduce la actividad de osteoblastos	Antagoniza la función de <i>ATF4</i>
<i>FOXO</i>	Incrementa el número de osteoblastos	Interactúa con <i>ATF4</i>
<i>GLI1</i>	Estimula la diferenciación de osteoblastos	Mejora la actividad <i>RUNX2</i>
<i>GLI2</i>	Estimula la diferenciación de osteoblastos	Mejora la actividad <i>RUNX2</i>
<i>GLI3</i>	Estimula la diferenciación de osteoblastos	Inhibe la unión al ADN de <i>RUNX2</i>
<i>HAND2</i>	Inhibe el osteoblasto intramembranoso diferenciación en la mandíbula	Inhibe <i>RUNX2</i>

	EFEECTO	Mecanismo de acción
<i>HOX11</i>	Modela el esqueleto apendicular	Mejora la actividad <i>RUNX2</i>
<i>OSX</i>	Estimula la diferenciación de osteoblastos	Interactúa con <i>MSX2</i>
<i>RUNX2</i>	Estimula la diferenciación de osteoblastos	Actúa como un factor regulador del andamio involucrado en la expresión de genes esqueléticos.
<i>TAZ</i>	Estimula la diferenciación de osteoblastos	Co-activa <i>RUNX2</i>
<i>TWIST</i>	Inhibe la diferenciación de osteoblastos	Inhibe <i>RUNX2</i>
GEN		
<i>BGLAP</i>	Regula la remodelación ósea	Se une a la apatita y al calcio.
<i>COL1A1</i>	Se une a la apatita y al calcio.	Se une al calcio
<i>DKK1</i>	Regulador negativo del crecimiento óseo.	Inhibe la interacción <i>LRP5</i> o <i>LRP6</i>
<i>PTK2</i>	Estimula la diferenciación de osteoblastos	Regulador negativo del crecimiento óseo.
<i>SOST</i>	Regulador negativo del crecimiento óseo.	Estimula la diferenciación de osteoblastos

Tabla 1. Genes asociados al desarrollo óseo. Tomado de (2)

Vías de señalización en el desarrollo óseo.

Vías de señalización en el desarrollo óseo.

La diferenciación de los osteoblastos es regulada por diversas vías de señalización, estas funcionan de una manera coordinada para el desarrollo adecuado de la osificación y a su vez la reparación de este. Se mencionarán las principales vías de señalización involucradas, en este proceso. (19)

Vía Hedgehog.

Hedgehog (*HH*) es una proteína secretada que funciona como morfógeno a través de un mecanismo de señalización paracrino. La vía consta de tres homólogos: sonic hedgehog (*SHH*), Indian hedgehog (*IHH*) y desert hedgehog (*DHH*). La vía *HH* tiene un papel vital en la formación de hueso durante la osificación endocondral, ya que la diferenciación de osteoblastos requiere de la regulación de *GLI1* o *GLI2* a través de la señalización *HH*. Además, la diferenciación de osteoblastos se pierde en ausencia de señalización *IHH*, lo que da como resultado una incompleta osificación endocondral. (10,19)

Vía de *NOTCH*

Esta vía requiere de un contacto directo de célula con célula. Los receptores Notch (*NOTCH1*, *NOTCH2*, *NOTCH3* y *NOTCH4*) expresados en las células interactúan con las familias Jagged (*JAG1* y *JAG2*) y tipo Delta (*DLL1*, *DLL3* y *DLL4*) para iniciar la señalización intracelular. La inactivación de *PSI*, *NOTCH1* y *NOTCH2*, resulta en un aumento de condrocitos hipertróficos en la placa de crecimiento, lo que llevo a una mayor masa del hueso trabecular. Es decir, NOTCH mejora la replicación de los osteoblastos y suprime la diferenciación de osteoblastos. (19)

WNT.

WNT es un regulador complejo del desarrollo esquelético. Se han identificado 3 diferentes vías: una vía canónica, la *WNT*/ β -catenina, y dos vías no canónicas. (19) La vía canónica de *WNT* permite que las células ostoprogenitoras progresen a osteoblastos. La activación de la vía Notch inhibe la vía *WNT* canónica, provocando una detención en la diferenciación de osteoblastos. (10)

BMP

Las proteínas morfogenéticas óseas son factores de crecimiento multifuncionales que pertenecen a la superfamilia del factor de

crecimiento transformante beta ($TGF\ \beta$).⁽¹¹⁾ $TGF\beta$ es un péptido multifuncional que regula procesos celulares como proliferación y diferenciación. Estas proteínas forman complejos $TGF\beta$, que interactúan con los receptores de proteína quinasa específicos de serina/treonina de la superficie celular. En la osteoblastogénesis, el $TGF-\beta$ promueve la expansión y proliferación de osteoprogenitores, la diferenciación temprana y el compromiso con el linaje osteoblástico a través de las vías $MAPK$ y $SMAD\ 2/3$. ⁽¹²⁾

Factor de crecimiento de fibroblastos. FGF

Los factores de crecimiento de fibroblastos (FGF) son una gran familia de 18 o más proteínas que se unen principalmente a cuatro receptores de FGF de tirosina quinasa de la superficie celular ($FGFR\ 1-4$). Esta unión induce la dimerización de los dominios tirosina quinasa del receptor y su transfosforilación secuencial. La señalización de FGF es fundamental también en la osificación intramembranosa y en la regulación de todos los pasos de la osteoblastogénesis. En particular, $FGFR1$ se expresa en el tejido mesenquimal del cráneo y más tarde en los osteoblastos.⁽¹²⁾

Desregulación y relevancia clínica

Los huesos son continuamente reabsorbidos por osteoclastos y reemplazados por nuevos huesos formados por osteoblastos. Esta actividad de remodelación ósea puede proporcionar resistencia mecánica al hueso y repararlo, El equilibrio entre la resorción y la formación óseas y la regulación de estos procesos son fundamentales para mantener la densidad ósea y la homeostasis mineral. (13) La desregulación de la biología ósea en el contexto de la reparación ósea se produce en un espectro que va desde la falta de hueso hasta el hueso excesivo. A lo largo de la vida, el hueso alcanza un pico de densidad mineral ósea (DMO) en la edad adulta temprana y a partir de los 30-40 años, se inicia una disminución gradual de la masa ósea.(2,14)

Hay varias condiciones que pueden causar un desequilibrio en el proceso de remodelación que conduce a la osteoporosis. Mientras que el período posmenopáusico y la vejez son las principales causas de la osteoporosis, otros factores de riesgo, incluidos los medicamentos, trastorno en el sistema endocrino, inmovilización, artropatía inflamatoria, trastornos hematopoyéticos y trastornos de la nutrición. (13)

El proceso de envejecimiento en las mujeres se asocia con un aumento en la tasa de remodelación ósea tanto en el hueso esponjoso como en el hueso cortical, combinado con un equilibrio negativo de remodelación, lo que resulta en pérdida ósea y alteración de la microarquitectura ósea. El adelgazamiento trabecular y la pérdida de trabéculas se pueden observar en hueso esponjoso, mientras en el hueso cortical, se presenta una pérdida ósea endocortical e intracortical que disminuyen el grosor cortical y un aumento de la corteza cortical porosidad. Los cambios en la matriz y la composición mineral del hueso también pueden contribuir a una mayor fragilidad ósea. (15)

La osteoporosis se define como una enfermedad esquelética sistémica con las características baja masa ósea y deterioro de la microarquitectura del tejido óseo, con el consiguiente desbalance entre la resorción y la formación ósea como resultado, la degradación ósea supera la formación de esta, aumentando la fragilidad ósea y susceptibilidad a la fractura. (13,16)

La osteoporosis no presenta signos ni síntomas, sin embargo, esta afecta a todos huesos del cuerpo, no obstante, las fracturas secundarias por osteoporosis ocurren con mayor frecuencia a nivel

de muñecas, cadera y columna vertebral.(17) Solo un tercio de los pacientes con fractura regresan a su nivel de funcionalidad anterior y un tercio de estos pacientes requieren hospitalización, además de las fracturas, la osteoporosis puede aumentar las tasas de hospitalización por complicaciones secundarias asociadas. (18) Las fracturas en cadera y columna se asocian con un mayor riesgo de muerte. (17) Por lo anterior, estas complicaciones condicionan la calidad y esperanza de vida.

El conocimiento de polimorfismos de susceptibilidad o de protección, ayudaran al diseño de estrategias que tengan un impacto en la reducción de la prevalencia de este padecimiento con sus inherentes beneficios para el paciente y la consecuente reducción de costos en la atención medica global.

Objetivos

General.

Determinar si existe asociación de los de SNVs en los genes *GC* (rs2282679) y *VDR* (rs4516035) con la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas mexicanas del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra.

Específicos.

Identificar las frecuencias alélicas y genotípicas de los SNVs rs2282679 en el gen *GC* y rs4516035 en el gen *VDR*, en un grupo de pacientes posmenopáusicas con diagnóstico de osteoporosis y en un grupo de mujeres posmenopáusicas sin osteoporosis.

Analizar los modelos de herencia autosómico dominante, autosómico recesivo y aditivo para determinar la asociación de los SNVs con osteoporosis.

Hipótesis.

Es posible que las SNVs rs2282679 en el gen *GC* y rs4516035 en el gen *VDR* sean de utilidad clínica para identificar a la población con mayor riesgo de padecer osteoporosis en población mexicana.

Marco Teórico.

Definición

La osteoporosis se define como una enfermedad esquelética progresiva caracterizada por una densidad mineral ósea disminuida y el deterioro de la microarquitectura del tejido óseo, con el consiguiente desbalance entre la resorción y la formación ósea(16,19). Por su raíz del griego (*ὀστέον*) hueso y (*πόρος*), paso, poro, etimológicamente significa “huesos porosos”, refiriéndose a la formación de poros en los huesos, los poros se refieren a los orificios que aparecen en el entramado trabecular causando pérdida de masa ósea y alteración de la microarquitectura. (20) La osteoporosis se produce como resultado de un desequilibrio en el proceso de remodelación en el que la reabsorción ósea supera la formación ósea.(13)

De acuerdo con la densidad mineral ósea (DMO), la osteoporosis se define con una puntuación T de ≤ -2.5 según los criterios de diagnóstico producidos por la OMS utilizando puntajes de desviación estándar de DMO relacionados con la masa ósea máxima en mujeres jóvenes sanas. Las puntuaciones T de DMO entre -1 y -2.5 se consideran como osteopenia y baja densidad mineral ósea. (15). La

osteoporosis posmenopáusica (PMOP) es una enfermedad degenerativa ósea sistémica femenina. Las características patológicas de la PMOP incluyen baja densidad mineral ósea (DMO) y daño de la microestructura, lo que resulta en una alta incidencia de fracturas sin estrés.(21)

Epidemiología

Se estima que en todo el mundo hay 200 millones de personas con osteoporosis, siendo más común en mujeres posmenopáusicas y se calcula su prevalencia en un 22%, mientras que en hombres de la misma edad es del 5%. (18,22) Debido al rápido aumento de la edad media de la población, se puede predecir un incremento del número de personas con osteoporosis, como se puede apreciar en la figura y en consecuencia, acrecentamiento del número de fracturas por osteoporosis.(18) Presentando un importante problema de salud pública a nivel global.

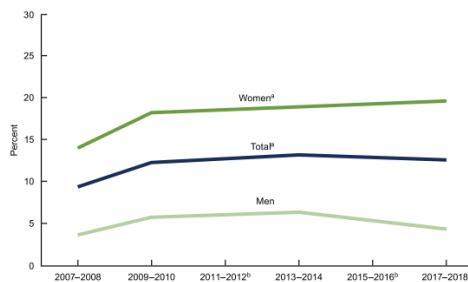


Figura 1. Tendencias en la prevalencia de osteoporosis ajustada por edad entre adultos de 50 años o más, por sexo(19)

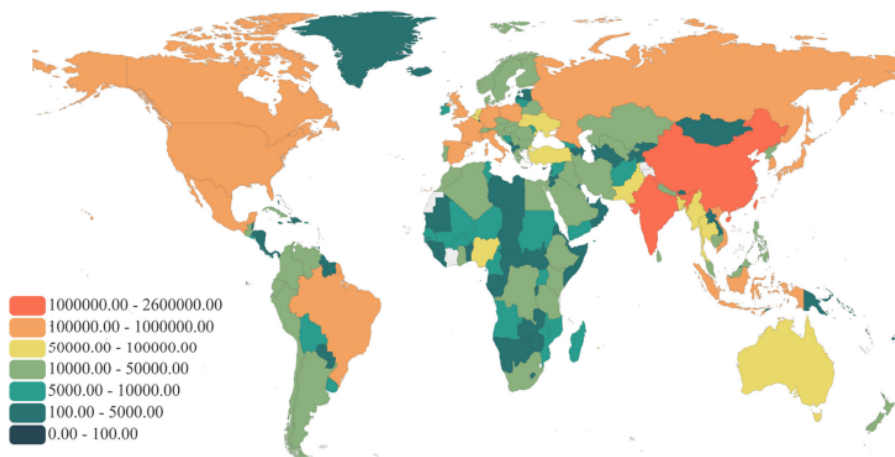


Figura 2. Mapa global de la carga de salud de las fracturas relacionadas con baja densidad mineral ósea en 2019. (23)

En México, no se reporta de manera anual las prevalencias de la osteoporosis, sin embargo, en 2018 la prevalencia se estimó en un 18% y en el 2013 se describe que el 15.6% de mujeres presentaban osteoporosis en cadera y 16.8 % en columna. (17,24) De acuerdo con la ENSANUT 2018-19, la prevalencia de fragilidad observada es 10.6%, cifra que es menor a las que han sido reportadas en otros estudios. (25) Por otro lado, la PMOP afecta a más del 40% de las mujeres posmenopáusicas.(21)

Se estima que 1 de cada 12 mujeres mexicanas y 1 de cada 20 hombres mexicanos tendrán una fractura de cadera después de los 50 años (probabilidad de riesgo de por vida de 8.5 y 3.8%, respectivamente). Se estima que 1 de cada 12 mujeres mexicanas y 1 de cada 20 hombres mexicanos tendrán una fractura de cadera después de los 50 años (probabilidad de riesgo de por vida de 8.5 y 3.8%, respectivamente). (26) En 2019, el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) reportó que se presentaron 11,615 fracturas de cadera en mayores de 65 años, lo que representa una tasa de 176 fracturas por cada 100 000 habitantes en toda la población.(27) Por otro lado, los cambios demográficos estimados para México indican que el número anual de fracturas de cadera aumentará a 155,874 en 2050, como se muestra en la figura 3.(28)

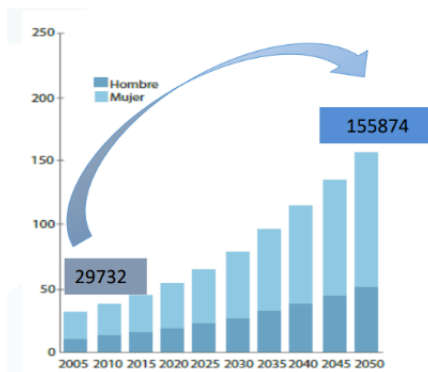


Figura 3. Fx de cadera en hombres y mujeres mexicanas 2005 y 2050. Tomado de panorama de Clark P. La osteoporosis postmenopáusica en México: Retos Y Oportunidades

El 20% de las personas que sufren una fractura de cadera mueren dentro de los 6 meses posteriores a la fractura. Además, se producen alrededor de 8,9 millones de fracturas osteoporóticas cada año en todo el mundo, lo que equivale a una fractura cada 3 segundos. (18,29).

Diagnóstico

Tradicionalmente el diagnóstico se basa en la disminución de la densidad mineral ósea, en la ausencia de fracturas, sin embargo en 2016 y 2020 la Asociación Americana de Endocrinología clínica (AAACE), el colegio americano de endocrinología (ACE) y las guías de práctica clínica para el diagnóstico y el tratamiento de la osteoporosis en paciente menopáusicas recomiendan que la osteoporosis también se puede diagnosticar en pacientes con osteopenia y mayor riesgo de fractura utilizando la herramienta de evaluación del riesgo de fracturas (FRAX).(30)

FRAX

La herramienta de evaluación del riesgo de fractura conocida como FRAX, presentada en 2008, es un algoritmo informático que calcula la probabilidad de desarrollar a 10 años una fractura osteoporótica

mayor (cadera, columna, húmero o muñeca. El riesgo de fractura se calcula a partir de la edad, el índice de masa corporal y factores de riesgo(31). Dentro de los factores de riesgo incluidos en la herramienta se encuentra sexo, peso, IMC, talla, fractura previa, tabaquismo entre otros, los cuales se mencionan en la tabla 2.

Factores de Riesgo incluidos en FRAX		
Edad	AHF con fractura previa	Osteoporosis secundaria**
Peso	Tabaquismo	Alcoholismo*
Talla	Glucocorticoides	DMO
Sexo	Artritis Reumatoide	Fractura previa

Tabla 2. Factores de Riesgo incluidos en FRAX. * Alcoholismo activo (Se coloca positivo el paciente beba 3 o más dosis de alcohol por día. Una dosis de alcohol varía ligeramente entre países de 8-10g de alcohol. ** Osteoporosis secundaria: trastorno asociado a osteoporosis secundaria diabetes tipo I, osteogénesis imperfecta del adulto, hipertiroidismo. (30,31)

Cuando se utiliza la herramienta FRAX, se recomienda la intervención farmacológica para pacientes con una probabilidad mayor o igual al 20 % de fractura osteoporótica mayor o una probabilidad mayor o igual al 3 % de fractura de cadera en los próximos 10 años. (14,19)

Criterios diagnósticos.		
Criterios de OMS para la clasificación de osteopenia y osteoporosis		Diagnóstico AACE 2016 y 2020 de Osteoporosis en mujeres posmenopáusicas
Categorías	T-score	
Normal	-1.0 o por debajo	1. T score -2,5 o menos en la columna lumbar, el cuello femoral, el fémur proximal total o 1/3 del radio
Osteopenia	Entre -1.0 y -2.5	2. Fractura de columna o cadera por traumatismo bajo
Osteoporosis	-2.5 o menos	(independientemente de la DMO)
Osteoporosis severa	-2.5 o menos con fractura por fragilidad	3. Puntuación T entre -1,0 y -2,5 + una fractura por fragilidad del húmero proximal, la pelvis o el antebrazo distal
		4. Puntuación T entre -1,0 y -2,5 y alta probabilidad de fractura en FRAX

Tabla 3. Criterios diagnósticos de acuerdo con las diversas asociaciones.(30)

Osteoporosis secundaria

Las causas secundarias se encuentran en aproximadamente el 30% de las mujeres posmenopáusicas y entre el 50% y el 80% de los hombres, dentro de las causas secundarias se asocian osteomalacia, síndrome de mala absorción, hiperparatiroidismo primario,

enfermedad renal crónica, osteogénesis imperfecta, hipercalciuria, mieloma múltiple, beta talasemia, espondilitis anquilosante, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, VIH, síndrome de Ehlers Danlos, alcoholismo, deficiencia de vitamina D, hipogonadismo, hiperprolactinemia, hiperparatiroidismo, acromegalia, Cushing, LES, acidosis tubular renal entre otros factores externos como medicamentos, antiepilépticos, inhibidores de la aromataasa, medroxiprogesterona incluso glucocorticoides. (14)

Etiología y bases moleculares de la osteoporosis

La patogenia de la osteoporosis implica una interacción compleja de varios mecanismos moleculares, incluidas alteraciones en la remodelación ósea, actividades celulares y vías de señalización. Durante la última década, se han realizado avances significativos en la comprensión de los mecanismos moleculares subyacentes a la osteoporosis.(13,19,32)

Remodelación y Desequilibrio Óseo.

La remodelación ósea, un proceso que involucra la formación y reabsorción ósea, juega un papel crucial en el mantenimiento de la salud esquelética. (33) La alteración del equilibrio entre la reabsorción y la formación ósea conduce a la osteoporosis. Varias

moléculas clave han sido identificadas como contribuyentes a este desequilibrio. El activador del receptor del factor nuclear kappa B (*RANK*)/ligando RANK (*RANKL*)/osteoprotegerina (*OPG*) es uno de esos reguladores de la remodelación ósea. Estudios recientes han proporcionado información sobre la modulación de esta vía, destacando su importancia en la progresión de la osteoporosis.(2,34)

Vía de señalización de WNT/ β -catenina

La vía de señalización WNT/ β -catenina, anteriormente descrita, es un regulador crítico de la formación y remodelación ósea. Las alteraciones en esta vía como una mayor expresión de inhibidores de WNT o variantes en genes relacionados con WNT, pueden alterar la homeostasis ósea normal y contribuir al desarrollo de osteoporosis.(13,32)

Eje RANKL/RANK/OPG

El activador del receptor del ligando del factor nuclear kappa B (*RANKL*)/RANK/osteoprotegerina (*OPG*) es un sistema regulador crucial involucrado en la diferenciación y función de los osteoclastos. Los desequilibrios en esta vía, con un aumento de RANKL y una disminución de los niveles de OPG, conducen a una actividad

excesiva de los osteoclastos, lo que contribuye a la pérdida ósea y la osteoporosis.(13)

Vitamina D.

La vitamina D es una hormona esteroidea que aumenta el calcio sérico, el fosfato sérico y promueve la mineralización de la matriz ósea y la placa de crecimiento. Estas acciones requieren la unión del metabolito activo calcitriol al receptor nuclear de vitamina D (VDR). (35). En las células diana, el calcitriol muestra una alta afinidad por el VDR, cuando este último está asociado al receptor de ácido retinoico (*RXR*). (36)La unión del ligando al VDR desencadena la transcripción del gen.

El VDR se expresa en la mayoría de los tejidos del cuerpo, incluidos el intestino, los riñones, los huesos y los queratinocitos de los folículos pilosos. En las células intestinales, el 1,25(OH) 2D promueve la expresión del transportador de canales de calcio *TRPV6* (transient receptor potential cation channel subfamily V member 6), por lo tanto, favorece la absorción de calcio y la hormona paratiroidea (PTH)(35,36) Se ha descrito diversos genes están involucrados en el metabolismo de VD como GC, CYP2R1, CYP27A1, CYP27B1, CYP24A1 y VDR(37)

Desequilibrios hormonales y pérdida ósea

Las hormonas juegan un papel importante en la remodelación ósea y el mantenimiento de la densidad ósea. Las hormonas sexuales, particularmente el estrógeno y la testosterona, tienen un impacto sustancial en la salud ósea.(33)

Los receptores de estrógeno (RE) están altamente expresados en osteoblastos, osteoclastos y osteocitos, lo que ofrece efectos protectores en el hueso. El estrógeno se une a los ER, que regulan la expresión de proteínas codificantes de genes diana de estrógeno como *IL-1*, *IGF1* y *TGFβ*. Además, los RE también pueden RANKL, lo que inhibe la formación de osteoclastos y la actividad de reabsorción ósea. (38)

Las mujeres posmenopáusicas experimentan una disminución en los niveles de estrógeno, lo que resulta en una pérdida ósea acelerada. La deficiencia de estrógeno conduce a un aumento de la actividad de los osteoclastos y a una disminución de la función de los osteoblastos. Del mismo modo, los niveles bajos de testosterona en los hombres que envejecen contribuyen a la pérdida ósea.(39)

Otros desequilibrios hormonales, como niveles reducidos de testosterona en los hombres o niveles elevados de hormona paratiroidea (PTH), también pueden contribuir a la pérdida ósea.(35,38)

Citoquinas Inflamatorias y Remodelación Ósea

La inflamación crónica, comúnmente observada en condiciones como la artritis reumatoide o la enfermedad inflamatoria intestinal, contribuye a la pérdida ósea acelerada. Las citocinas proinflamatorias, incluidas la IL-1, IL6 y TNF- α , mejoran la osteoclastogénesis y suprimen la función de los osteoblastos, lo que conduce a una remodelación ósea desequilibrada. Estas citoquinas ejercen sus efectos a través de varias vías de señalización, incluida la vía del factor nuclear kappa B (NF- κ B), que influye en la supervivencia, diferenciación y activación de las células óseas.(40,41)

MicroRNAs y Modificaciones Epigenéticas

Los microRNA son pequeñas moléculas de RNA no codificante que regulan la expresión génica. Se sugiere que los miRNA desempeñan un papel vital en la osteoporosis al modular las actividades de los

osteoblastos y los osteoclastos, así como la desregulación de los miRNA en el hueso osteoporótico. (39,42)

Genética y Osteoporosis

La DMO es un rasgo complejo con múltiples alelos que dictan la proporción genética de la densidad mineral ósea máxima en cualquier persona. Se ha relacionado que, al existir un antecedente de fractura osteoporótica en padres, se predice un riesgo aumentado de presentar una fractura en su descendencia, destacando la existencia de una contribución genética a esta enfermedad.(43) Hay una gran cantidad de enfermedades monogénicas que pueden afectar la masa y la fuerza ósea, pero estos alelos de enfermedades contribuyen muy poco a la variación observada en la DMO en el conjunto de la población. (44)

Se ha estimado que la proporción de la influencia genética hereditaria en la DMO se estima de un 85 %, y se han observado heredabilidades igualmente altas para los fenotipos de la arquitectura ósea que predicen fracturas, sin embargo, la evidencia actual ha revelado que DMO tiene una heredabilidad de 45-78% dependiendo de la población estudiada(43,45) Por lo tanto, la

osteoporosis es una enfermedad multifactorial influenciada por factores genéticos, hormonales y ambientales.

GWAS.

Los estudios de asociación del genoma completo (GWAS) por sus siglas en inglés, se usan con mucha más frecuencia para el mapeo genético, el cual examina todo el genoma para detectar asociaciones entre variantes genéticas y rasgos en muestras de poblaciones. Los GWAS también se han implementado con éxito para definir mejor el papel relativo de los genes y el medio ambiente en el riesgo de enfermedades, ayudando en la predicción del riesgo.(46)

Se han realizado diversos GWAS, de acuerdo con el catálogo de estudios de asociación de todo el genoma, casi 400 variantes de un solo nucleótido (SNV) están asociados con DMO baja y osteoporosis(45). En la figura 4 se muestran los loci que están significativa y sólidamente asociados con la osteoporosis y rasgos relacionados.(47)

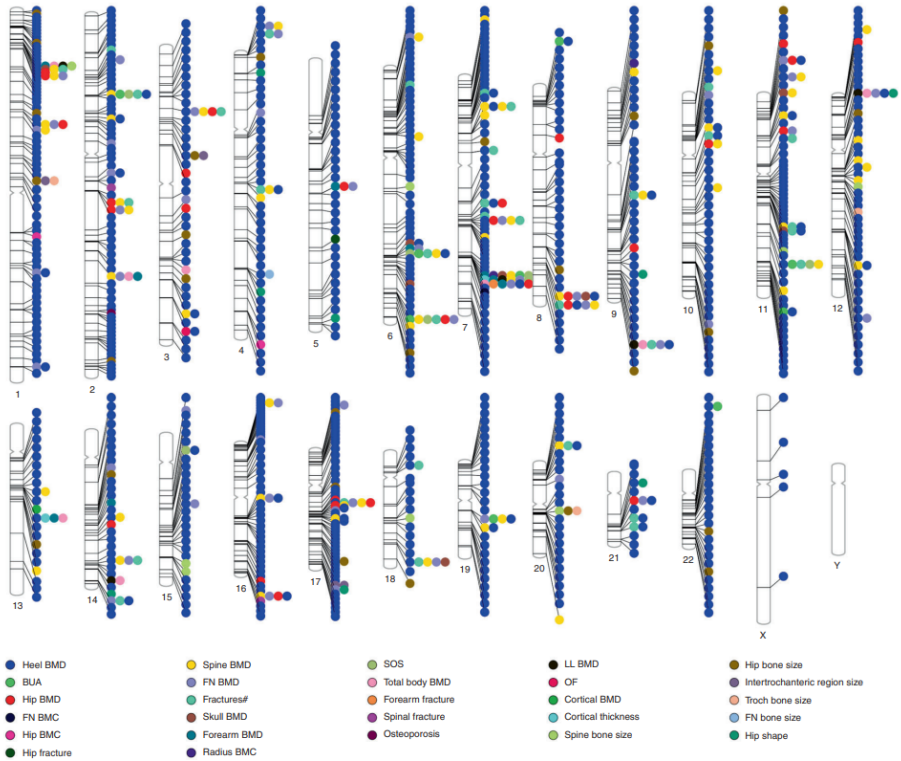


Figura 4. Loci genéticos informados por el catálogo GWAS para osteoporosis y rasgos relacionados. Fractura que ocurre en cualquier sitio, excepto en los dedos de las manos y los pies y el cráneo, después de los 18 años. BMC contenido mineral óseo, BMD densidad mineral ósea, BUA atenuación de ultrasonido de banda ancha, FN cuello femoral, LL extremidades inferiores, OF fracturas osteoporóticas, SOS velocidad del sonido. (48)

Los SNV es un lugar en la secuencia de ADN donde existe una variación, y la variante menos común está presente en al menos el

uno por ciento de la población analizada. Los SNV contribuyen a la variación fenotípica entre los individuos. (48)

Estos SNV asociados a OP están involucradas en varios procesos biológicos, incluida la formación ósea, la síntesis de colágeno, el metabolismo del calcio y la regulación hormonal. (49,50) Estos polimorfismos pueden contribuir a causar un desequilibrio, principalmente relacionado con las vías del metabolismo óseo, como los sistemas *RANK/RANKL/OPG* y *WNT/β-catenina*. Además, otros polimorfismos pueden influir en la expresión y regulación de moléculas asociadas al aumento de la resorción ósea, como IL-1, IL-6, TNF y PTH. (51) Dentro de las vías involucradas existen múltiples genes asociados, por mencionar *ZBTB40*, *GPR177*, *FGFRL1*, *MEPE*, *MEF2C*, *ESR1*, *SHFM1*, *WNT16*, *OPG*, *SOX6*, *LRP5*, *AKAP11* y *FOXL1*, *VDR*, *GC*.(48)

En el presente estudio se analizaron 2 SNVs localizados en los genes de receptor de vitamina D (*VDR*) y proteína de unión a la vitamina D (*GC*), estos genes están asociados en la regulación del metabolismo óseo y remodelamiento óseo.

VDR

El gen del receptor de vitamina D (*VDR*) codifica el receptor de vitamina D3, el cual se localiza en 12q13.11. Es un miembro de la superfamilia de receptores de hormonas nucleares de factores de transcripción inducibles por ligandos. Este receptor también funciona como receptor del ácido biliar secundario. Los objetivos río abajo están principalmente involucrados en el metabolismo mineral, aunque este receptor regula una variedad de otras vías metabólicas(52). En 1994, se mostró la relación entre el genotipo *VDR* y la masa ósea., se han realizado muchos estudios sobre la asociación entre los polimorfismos del *VDR* y la densidad mineral ósea (DMO), sin embargo, durante 2012 algunos resultados habían sido inconsistentes en algunas poblaciones, incluida población mexicana.(53)

El SNP más ampliamente investigado en este gen es el rs1544410, que se ha asociado con la DMO y el riesgo de fractura osteoporótica en ciertas poblaciones. (54–56) Por otro lado, se han estudiado, diferentes polimorfismos *Apal* (rs7975232), *BsmI* (rs1544410), *EcoRV* (rs4516035), *FokI* (rs2228570) y *TaqI* (rs731236) alteran la actividad del receptor. (55)

rs4516035

Ubicado en gen *VDR* receptor de vitamina D.

Existen diversos estudios enfocados a este polimorfismo los cuales se han relacionado con un número grande de enfermedades, condiciones y fenómenos fisiológicos, lo que sugiere un alto grado de pleiotropismo,(56–59) dentro de los cuales se describe una asociación con la disminución de vitamina D.(60)

Cabe resaltar al estudio de Rivera y colaboradores quienes observaron una significativa asociación con la deficiencia de vitamina D en posmenopáusicas mexicanas. (37)

Describiendo dentro de su estudio la frecuencia alélica encontrada en población mexicana y en grupos amerindios, la cual se muestra en la figura 5.

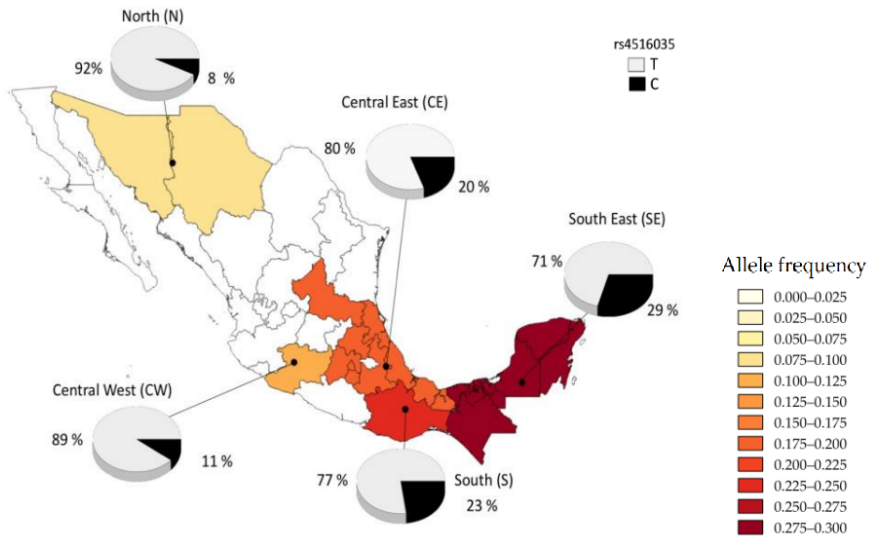


Figura 5. Distribución geográfica de las frecuencias alélicas T/C para el polimorfismo rs4516035 en grupos amerindios mexicanos. Imagen obtenida y modificada de(60)

GC

Proteína de unión a la vitamina D de GC, con locus en 4q13, pertenece a la familia de genes de la albúmina. Es una proteína multifuncional que se encuentra en el plasma, líquido ascítico, líquido cefalorraquídeo y en la superficie de muchos tipos de células. Se une a la vitamina D y sus metabolitos plasmáticos y los transporta a los tejidos diana y participa en el transporte y almacenamiento de vitamina D, eliminación de actina G extracelular, mejora de la

actividad quimiotáctica de C5 alfa para neutrófilos en inflamación y activación de macrófagos (37,61)

Los SNV en GC que se han estudiado ampliamente son rs7041 y rs4588, incluso se ha descrito una cohorte de mujeres posmenopáusicas mestizas mexicanas y otra integrada por mujeres indígenas, en la figura 4, se observa la distribución geográfica de las frecuencias alélicas para los SNVs descritos.(37)

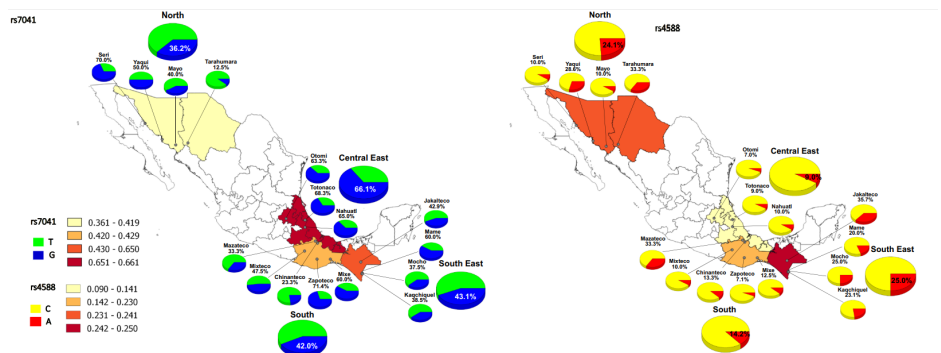


Figura 6. Distribución geográfica de las frecuencias alélicas de los polimorfismos rs4588 y rs7041 en grupos amerindios mexicanos. Imagen modificada. (37)

rs2282679

El rs2282679, ubicado en el gen *GC* del componente específico del grupo (proteína de unión a la vitamina D) en el cromosoma , se ha relacionado en varios estudios con las concentraciones séricas de vitamina D, la cual conduce a múltiples consecuencias adversas para la salud, como retraso en el crecimiento y deformidades esqueléticas en los niños, osteoporosis precipitada, debilidad muscular y riesgo de fractura en la edad avanzada.(61,62) En el trabajo de Rivera y colaboradores evaluaron la asociación de la deficiencia de vitamina D 689 mujeres posmenopáusicas mexicanas no emparentadas. (37)

En relación con la asociación de deficiencia de vitamina D y una baja densidad mineral ósea, se sugiere que estos polimorfismos podrían tener relación con osteoporosis, sin embargo, por el momento ningún trabajo se ha enfocado en analizar los modelos de herencia autosómico dominante, autosómico recesivo y aditivo y determinar la asociación de los SNVs con osteoporosis.

Justificación.

La osteoporosis es un problema de salud pública, debido a que presenta una alta prevalencia en la población mexicana. Esta enfermedad se asocia con un alto grado de morbilidad y complicaciones, como lo es una susceptibilidad aumentada a padecer fracturas que condicionen tanto la calidad, como la esperanza de vida, en quienes la padecen.

Actualmente, existen pocos estudios de asociación de SNVs y osteoporosis en la población mexicana. El propósito de este estudio se enfocará en identificar alelos protectores o de riesgo para desarrollar osteoporosis de acuerdo con los SNVs evaluados en nuestra población.

Por lo anterior, el conocimiento de polimorfismos de susceptibilidad o de protección, ayudaran al diseño de estrategias que tengan un impacto en la reducción de la prevalencia de este padecimiento con sus inherentes beneficios para el paciente y la consecuente reducción de costos en la atención medica global.

Planteamiento del problema.

La osteoporosis es una enfermedad crónico-degenerativa caracterizada por una densidad mineral ósea reducida aumentando el riesgo de fracturas por fragilidad, lo que resulta en una mayor morbilidad, mortalidad y en consecuencia una mayor carga económica, convirtiendo un problema de salud pública creciente.(22)

En México, la osteoporosis es un problema de salud pública, sin embargo, existe poca evidencia que haya evaluado la prevalencia de osteoporosis en mujeres posmenopáusicas, en 2018 la prevalencia de osteoporosis fue del 18%.(17,24) Se ha estimado los costos generados por fracturas secundarias a osteoporosis, los cuales alcanzan cifras aproximadamente en \$ 97millones de dólares. (63)

Se han descrito diversas variantes genéticas que se asocian a la presencia de osteoporosis y fracturas de cadera en diferentes poblaciones. Estas variantes ayudan a identificar poblaciones en riesgo y permite implementar estrategias de adecuadas. Existen pocos estudios de asociación de SNVs y osteoporosis en la población mexicana.

Esta investigación se centra en encontrar una asociación entre los polimorfismos estudiados y la osteoporosis para obtener herramientas adicionales que ayuden a prevenir la enfermedad.

El estudio de los SNVs combinado con el diagnóstico precoz de la enfermedad ayudará a determinar mejor el pronóstico y orientar el tratamiento preventivo de los pacientes de alto riesgo. La detección oportuna brinda la oportunidad de actuar tempranamente en la enfermedad, reduciendo complicaciones y costos, mejorando así la calidad de vida de los pacientes

Material y Métodos.

Población del estudio y tamaño de muestra.

Se incluyeron 306 mujeres mexicanas posmenopáusicas atendidas en el Instituto Nacional de Rehabilitación que cursaron con fractura de cadera entre los años 2008-2015, de las cuales se tomaron como control a 162 pacientes femeninas de edades entre 48-82 años. Se incluyeron como muestra a 144 pacientes femeninas posmenopáusicas diagnosticadas con osteoporosis con edades entre 48-89 años.

Criterios de inclusión:

Pacientes: Mujeres mexicanas posmenopáusicas que recibieron atención en el Instituto Nacional de Rehabilitación con diagnóstico de osteoporosis en cadera mediante densitometría ósea y que cuenten con ancestría mexicana de 2 generaciones.

Controles: Mujeres mexicanas posmenopáusicas atendidas en el INR, con ancestría mexicana de al menos 2 generaciones, que mediante densitometría se descarte osteoporosis.

Criterios de exclusión.

Mujeres cuya menopausia quirúrgica sea menor a los 48 años, que cuenten con antecedente de consumo de medicamentos que alteren el metabolismo óseo ya sea tamoxifeno, hormonas tiroideas, vitamina B12, inhibidores de receptor de estrógenos, antiepilépticos, entre otros. Pacientes o controles que tengan diagnóstico de alguna neoplasia concomitante. Mujeres quienes cursen con osteoporosis secundaria. Mujeres que cursaron con menarca antes de los 9 años, con duración de menopausia menor a 1 año.

Criterios de Eliminación.

Individuos cuya muestra de DNA no sea útil para el análisis. Se eliminarán de los controles a las pacientes que presenten un T score de cadera de -2.0 a -2.4.

Metodología

Se recolectaron las muestras del banco de DNA del INR

Se analizaron para determinar la concentración y factor de pureza determinando la absorbancia a 250 y 280 nm utilizando equipo Biodrop.

Genotipificación.

Se realizó genotipificación mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa) en tiempo real empleando sondas TaqMan (fluoróforo FAM y otra con fluoróforo VIC), en un equipo Step One Real Time PCR System de 96 pozos.

El proceso de PCR en sí implica tres pasos esenciales: desnaturalización, alineamiento y extensión. Durante la

desnaturalización, se eleva la temperatura a $>94^{\circ}\text{C}$ permitiendo que el DNA de doble cadena se separe en 2 cadenas sencillas.

En el paso de alineación, la temperatura es variable entre $52-63^{\circ}\text{C}$ de acuerdo con los cebadores específicos, que son secuencias de DNA cortas que flanquean la región objetivo, se unen a sus secuencias complementarias en la cadena de DNA. Estos cebadores actúan como puntos de partida para la síntesis de ADN.

Durante la extensión la temperatura aumenta a 72°C para realizar la síntesis de las cadenas nuevas agregando nucleótidos a los cebadores, creando copias de la región de ADN objetivo.

Sondas TaqMan

La Taq polimerasa se deriva de bacterias que toleran temperaturas altas. Esta enzima funciona a una temperatura óptima de 75 a 80°C . La capacidad de la Taq polimerasa para resistir el calor es fundamental para la PCR, que requiere altas temperaturas para separar las dos hebras de ADN antes de la copia.

En el genotipado por PCR con TaqMan, incluye un paso adicional para detectar y analizar el DNA amplificado durante el mismo proceso de amplificación. Este paso implica el uso de sondas

TaqMan, las cuales son moléculas cortas de DNA monocatenario marcadas con dos moléculas fluorescentes diferentes en este estudio se utilizaron 2 sondas TaqMan (una con fluoróforo FAM y otra fluoróforo VIC) en el extremo 5' y aglutinantes de surco menor (MGB) y extintores no fluorescentes (NFQ) en el extremo 3'. Estas sondas están diseñadas para unirse específicamente a una región dentro de la secuencia de DNA amplificada.

Durante el proceso de amplificación, las sondas TaqMan se hibridan con sus secuencias complementarias dentro de la región de DNA diana. Cuando la DNA Taqpolimerasa llega a la sonda, divide la sonda entre el colorante informador y la molécula extintora. Esta escisión separa el colorante informador del extintor, lo que da como resultado un aumento en la señal de fluorescencia.

La fluorescencia emitida por el colorante indicador se detecta mediante un instrumento de PCR en tiempo real, que mide la intensidad de la fluorescencia después de cada ciclo de amplificación. El instrumento traza la intensidad de la fluorescencia frente al número de ciclos de amplificación, generando una curva de amplificación en tiempo real. Al analizar la curva de amplificación, se puede determinar el genotipo de la muestra de DNA.

El análisis del genotipo se basa en la presencia o ausencia de señal de fluorescencia. Si la señal de fluorescencia alcanza un umbral predefinido dentro de un cierto número de ciclos, indica la presencia de la secuencia de DNA objetivo y corresponde a un genotipo. Las señales de cada alelo corresponden a VIC o FAM, detectando de esta manera el estado homocigoto o heterocigoto de las muestras.

La genotipificación por PCR con TaqMan ofrece varias ventajas. Proporciona alta especificidad y sensibilidad, ya que las sondas están diseñadas para unirse específicamente a la secuencia de ADN objetivo. La detección en tiempo real permite el análisis cuantitativo, lo que permite una determinación precisa de los genotipos.

Componentes de la reacción de PCR.

Los elementos que se necesitan para la reacción en cadena de polimerasa son: el DNA molde, una solución amortiguadora, H₂O, cloruro de magnesio como cofactor enzimático, una DNA polimerasa dependiente de DNA termoestable en este caso usando (Taq polimerasa), una mezcla equimolar de los desoxinucleósidos trifosfato (dNTPs: de adenina, guanina, citosina y timina), así como dos cebadores de 16 a 24 nucleótidos de longitud.

Reactivos: se utilizaron 5 μ l en total, de los cuales se distribuyeron 2 μ l de DNA de cada paciente, 3 μ l de los reactivos restantes, las cuales se muestran a continuación:

Reactivo	Volumen μ l	x-101
H ₂ O	0.38 μ l	38.38 μ l
Sonda	0.12 μ l	12.12 μ l
Master Mix	2.5 μ l	252.5 μ l

Se utilizaron placas de 96 pozos, 3 pozos fueron controles negativos (NTC) los cuales no contenían DNA y 3 pozos con genotipo previamente conocido, siendo el control positivo. Se repitió la reacción al mostrar resultado como no concluyente.

Se evaluó el equilibrio de Hardy-Weinberg para cada SNP, el cual se comprobó mediante una prueba de chi-cuadrado.

La asociación entre SNVs y osteoporosis se evaluó mediante modelos de regresión logística ajustados por covariables de interés para obtener una razón de momios (OR) e intervalos de confianza del 95% (IC 95%). Las variables de interés utilizadas fueron: edad, IMC, años de menopausia.

Para realizar el análisis, se utilizó el software SPSS Statistics (Statistical Package for the Social Sciences) versión 26.0.0 de IBM Corporation.

Resultados.

Se incluyeron en el estudio 306 mujeres atendidas en el Instituto Nacional de Rehabilitación, de la población total, la media correspondiente de las variables estudiadas fue :para la edad 64 años (rango de entre 45 años a 89 años), una media de IMC 26.76, teniendo rango de 20-41, edad de menarca 13 años (rango de 9-18 años), edad de inicio de menopausia 48 años con un rango de entre 45 a 60 años, en la variable de años de menopausia se obtuvo una media de 16 años, obtenido desde 1 año a 46 años. En la figura 7 se observa un gráfico de barras con la frecuencia de las edades de las mujeres incluidas en el estudio.

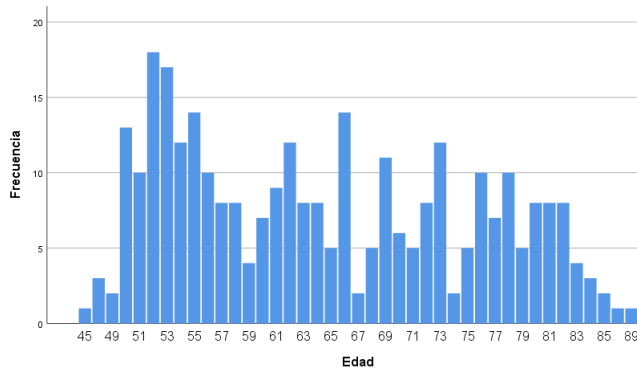


Figura 7. Frecuencia de edades de las 306 mujeres, incluidas en el estudio.

En la tabla 4 se describen la media, mediana y moda de las variables demográficas recolectadas de la población incluida en este estudio

Tabla 4. Datos demográficos de las 306 mujeres mexicanas incluidas en el estudio

	Edad	Menarca	Años Menopausia	Edad de inicio de Menopausia	IMC
Media	64.46	13.13	16.12	48.35	26.76
Mediana	63.00	13.00	15.00	50.00	26.67
Moda	52	13	1	50	21

IMC: Índice de Masa Corporal.

Con respecto a la población de los controles se seleccionaron 162 mujeres, con una media de edad de 59 años, siendo el mínimo 45 años y máximo 82 años, con una media de IMC 28.32 (20-39), en cuanto a la media de edad de inicio de la menopausia dentro de este grupo, ésta fue de 49 años, con un máximo de inicio de 58 años y un mínimo de 40 años, a su vez con una media de 9 años de menopausia, con un mínimo de 1 año y una máxima de 44 años.

En la figura 8 se demuestran los datos obtenidos por densitometría, de los cuales se encuentra en -1.13, con una moda -1.6, teniendo como mínimo 1.70 y un máximo de -2.48.

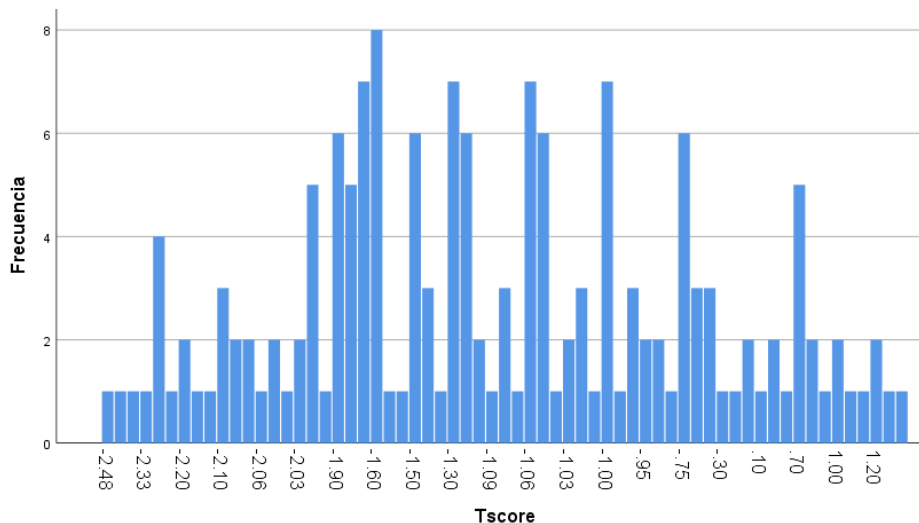


Figura 8. T- score de las pacientes controles incluidas en este estudio.

La población total de 144 mujeres con diagnóstico de osteoporosis de edades entre 48-89 años, presentan una media de edad de 70 años, con edad de inicio de menopausia entre 40-60 años, con una media de 47 años, a su vez un IMC entre 16-41 obteniendo una media 25.02. Por otro lado, de acuerdo con los criterios de osteoporosis, la media de T-score en los casos fue de -2.88 con un mínimo de -2.5 y un máximo de -3.88, sin embargo, la moda de la t-score se encuentra en -2.56. Se grafican en la figura 9 los datos de la densitometría.

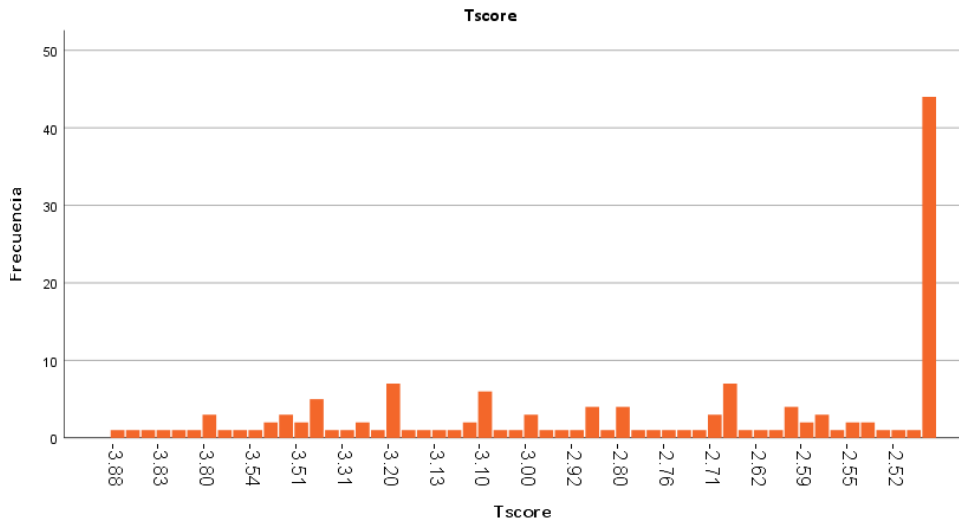


Figura 9. T-score de mujeres con osteoporosis. En el eje de la X se observa la T-score, en el eje de las Y se observa la frecuencia.

En la tabla 5 se incluyen los datos demográficos de los pacientes incluidos en este estudio, con las medias, medianas y modas de cada variable, así como las desviaciones, divididos por casos y controles.

Tabla 5. Datos demográficos de la población estudiada.

Datos demográficos de la población estudiada							
Caso/Control		Edad	Menarca	Años Menopausia	Edad Menopausia	IMC	Densitometría
Control	Media	59.	12.90	9.91	49.17	28.32	-1.13
	Mediana	55.	13.	6.50	50.00	28.51	-1.2
	Moda	52	13	1	50	25	-1.60
	Desv.	8.581	1.458	8.824	3.963	5.081	0.907
Casos	Media	70	13.	23.10	47.42	25.02	-2.88
	Mediana	72.	13	23.00	48.00	24.73	-2.71
	Moda	78	13	15	50	21	-2.56
	Desv.	9.544	1.528	10.674	4.734	4.044	.423

Se dividen en casos con un total de 144 mujeres y controles total de 162. IMC: Índice de Masa Corporal.

Se realizó la búsqueda de los posibles alelos para los SNVs estudiados. En el gen GC (rs2282679) se describe los alelos T y G, por lo tanto, es bialélico, siendo T el alelo ancestral o el de referencia y el alelo G como el alternativo. Por otro lado, para el SNV rs4516035

del gen *VDR*, éste presenta T y C como alelos, siendo T el alelo de referencia y C el alelo alternativo.

El análisis estadístico de un polimorfismo se basa en estimar la prevalencia poblacional de cada alelo, y al hacerlo para cada genotipo posible podemos estimar las frecuencias genotípicas y alélicas.

En la población total se observó una frecuencia alélica para rs2282679 de T:78% y G: 22%, así como en el grupo control T:76% y G:24%, en el grupo de casos T: 81% G:19% para rs2282679. Por otro lado, en rs4516035, se observa una frecuencia alélica de T:70% y C:30% tanto para la población total, como para el grupo control y el grupo de los casos. En las tablas 6 y 7 se describen las frecuencias alélicas.

Tabla 6. Frecuencias alélicas del polimorfismo rs2282679 de la población

Frecuencias Alélicas rs2282679						
	Población total		Controles		Casos	
Alelo	n	Proporción	n	Proporción	n	Proporción
T	479	0.78	246	0.76	233	0.81
G	133	0.22	78	0.24	55	0.19

. n: tamaño de muestra.

Tabla 7. Frecuencias alélicas del polimorfismo rs4516035.

Frecuencias Alélicas rs4516035						
	Población total		Casos		Casos	
Alelo	n	Proporción	n	Proporción	n	Proporción
T	430	0.70	203	0.70	227	0.7
C	182	0.30	85	0.30	97	0.3

n: tamaño de muestra.

Un genotipo, se puede decir que corresponde con un par de alelos observados y hay tres genotipos potenciales para rs2282679: T/T, G/T y G/G. En la población total se observa una frecuencia de genotipo G/G del 6%, G/T 32%, T/T 62%. En el grupo de los casos: G/G 2%, G/T:32% y T/T:64%. Por otro lado, en los controles se observa G/G:8%, G/T: 30% y T/T:60%. En las siguientes tablas se describen las frecuencias de genotipos observada.

Tabla 8. Tabla de frecuencias de genotipo para rs2282679 de la población total.

Frecuencias Genotipo rs2282679 (n=306)		
Genotipo	n	Proporción
G/G	18	0.06
G/T	97	0.32
T/T	191	0.62

Tabla 9. Tabla de frecuencias de genotipo de casos para rs2282679

Frecuencias Genotipo rs2282679 n= 144			
Casos	Genotipo	n	Proporción
	G/G	4	0.027777778
	G/T	47	0.326
	T/T	93	0.646

n. Tamaño de muestra

Tabla 10. Tabla de frecuencias de genotipo de controles para rs2282679

Frecuencias Genotipo rs2282679 n=162			
Controles	Genotipo	n	Proporción
	G/G	14	0.086419753
	G/T	50	0.309
	T/T	98	0.605

n. Tamaño de muestra

En el polimorfismo rs4516035 los genotipos potenciales son T/T, C/T y C/C, los cuales se muestran en la tabla 11. En la población total se observa una frecuencia de genotipo C/C:9%, C/T: 41% T/T:50%, en el grupo de controles la frecuencia observada es la siguiente: C/C:8%, C/T:44% y T/T 48%. En el grupo control C/C:10% C/T:38% y T/T: 51%

Tabla 11. Tabla de frecuencias de genotipo para rs2282679.

Frecuencias Genotipo rs4516035						
	Población total n=306		Casos n:144		Controles n:162	
Genotipo	n	Prop*	n	Prop*	n	Prop*
C/C	28	0.094	15	0.1	13	0.08
C/T	126	0.41	55	0.38	71	0.44
T/T	152	0.50	74	0.51	78	0.48

Prop* Proporción calculada. n: Tamaño de muestra

En las siguientes tablas se describen las frecuencias de genotipo para controles y casos de rs4516035, previamente ya mencionados.

Tabla 12. Tabla de frecuencias de genotipo del SNV rs4516035 de los 144 casos del estudio.

Frecuencias Genotipo rs4516035 n 144			
Casos	Genotipo	n	Proporción
	C/C	15	0.1111111
	C/T	55	0.375
	TT	74	0.514

n: Tamaño de muestra

Tabla 13. Tabla de frecuencias de genotipo del SNV rs4516035 de los 162 controles

Frecuencias Genotipo rs4516035 n 162			
Controles	Genotipo	n	Proporción
	C/C	13	0.080246914
	C/T	71	0.438
	TT	78	0.481

n: Tamaño de muestra

El equilibrio de Hardy-Weinberg es una prueba estadística que compara la frecuencia alélica observada con la esperada bajo el supuesto de independencia, y tiene una distribución chi-cuadrada con un grado de libertad. El cálculo de Chi-cuadrada se realiza por medio de la siguiente fórmula

$$\sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

O = valor Observado

E = valor Esperado

Aplicando dicha fórmula, se obtuvo de cada SNV la chi-cuadrada en la población total, siendo para rs4516035 de 0.6547 y para rs2282679 de 0.2331.

Para evaluar la asociación entre un polimorfismo y la enfermedad en estudio, se realiza una tabla de contingencia y posteriormente

aplicamos una prueba de chi-cuadrada. La estimación de la OR de cada genotipo respecto al genotipo de referencia nos dará una noción sobre la medida de la asociación. Se realizó un modelo de regresión logística, debido a que este permite evaluar la interacción entre el polimorfismo y los demás factores, dentro de las variables analizadas se incluyeron, edad, años de menopausia e IMC.

Se analizaron los 4 tipos de modelos de herencia, los cuales se observan en las siguientes tablas 14 y 15.

Tabla 14. Asociación de polimorfismos estudiados para el polimorfismo rs2282679, utilizando los 4 modelos de herencia separando casos y controles

Modelos de herencia rs2282679,							
		Controles	Casos	Valor p	OR	IC 95% MIN MAX	
Dominante	T/T	98 (60.5%)	93(64.6%)	0.46	0.84	0.53	1.34
	G/T-G/G	64 (39.5%)	51 (35.4%)				
Recesivo	T/T-G/T	148 (91.4%)	140 (97.2%)	0.039	0.302	0.097	0.940
	G/G	14 (8.6%)	4 (2.8%)				
Codominante	T/T	98 (60.5%)	93 (64.6%)	0.08			
	G/T	50(30.9%)	47 (32.6%)		0.99	0.61	1.62
	G/G	14 (8.6%)	4 (2.8%)		0.30	0.097	0.94
Aditivo				0.15	0.76	0.52	1.11

OR: razón de momios (siglas en inglés) IC: intervalo de confianza IMC: índice de masa corporal.

Tabla 15. Asociación de polimorfismos estudiados para el polimorfismo rs4516035, utilizando los 4 modelos de herencia separando casos y controles.

Modelos de herencia rs4516035							
		Controles	Casos	Valor p	OR	IC 95% MIN MAX	
Dominante	T/T	78(48.1%)	74 (51.1%)	0.57	0.79	0.50	1.25
	C/T-C/C	84 (51.9%)	70 (48.6%)				
Recesivo	T/T-C/T	149 (92%)	129 (89.6%)	0.47	1.33	0.61	2.91
	C/C	13 (8%)	15 (10.4%)				
Codominante	T/T	78 (48.1%)	74 (51.4%)	0.57			
	C/T	71 (43.8%)	55 (38.2%)		0.82	0.51	1.31
	C/C	13 (8%)	15 (10.4%)		1.22	0.54	2.73
Aditivo				0.91	0.98	0.69	1.38

OR: razón de momios (siglas en inglés) IC: intervalo de confianza IMC: índice de masa corporal.

En cuanto a los modelos de herencia se describe que, en el modelo dominante, con una sola copia del alelo es suficiente para modificar el riesgo, por lo que los genotipos heterocigotos y homocigotos tienen el mismo riesgo. En consecuencia, se compara una combinación de estos dos posibles genotipos T/C+C/C (Do) con el homocigoto T/T. Para el modelo recesivo, se necesitan dos copias del alelo para cambiar el riesgo, por lo tanto, los genotipos T/C y T/T tienen el mismo efecto. Una combinación de ambos T/T+T/C (Re) se compara con el genotipo homocigoto del alelo variante C/C. En el modelo aditivo, cada alelo alternativo modifica el riesgo de forma aditiva, es decir, el homocigoto

C/C tiene el doble de riesgo que el heterocigoto T/C. Por último, el modelo codominante, es el modelo más general y permite que cada genotipo dé un riesgo diferente y que este no sea aditivo. Este modelo compara los genotipos heterocigotos T/C (He) y homocigotos para el alelo variante C/C (Va) con los homocigotos para el alelo T/T más frecuente.

Por otro lado, el modelo de regresión logística está adaptado para modelos en los que la variable dependiente es dicotómica, a su vez los coeficientes de regresión logística pueden utilizarse para estimar la razón de probabilidad de cada variable independiente del modelo.

Se realizó una correlación de las variables analizadas, edad, años de menopausia e IMC, las cuales se muestran en las siguientes tablas 16 y 17.

Tabla 16. Modelos de herencia ajustados por las variables estudiadas en el SNV rs2282679

rs2282679				
	P	OR	95% C.I. para OR	
			Inferior	Superior
Modelo Dominante	0.463	0.811	0.443	1.484
Edad	.650	1.016	.949	1.088

Años de Menopausia	.001	1.116	1.044	1.193
IMC	.000	.856	.797	.921
Modelo recesivo	0.006	0.129	.030	.554
Edad	.472	1.026	.957	1.100
Años de Menopausia	.002	1.112	1.039	1.190
IMC	.000	.849	.790	.913
Modelo codominante	0.868	0.959	0.587	1.566
	0.083	2.485	0.887	6.958
Edad	0.494	1.025	.955	1.099
Años de Menopausia	0.002	1.113	1.040	1.192
IMC	0.000	0.849	0.789	0.913

P: Valor de p. OR: Razón de momios por sus siglas en ingles. IMC: índice de masa corporal.

Tabla 17. Modelos de herencia ajustados por las variables estudiadas, en el SNV rs4516035

rs4516035				
	P	OR	95% C.I. para OR	
			Inferior	Superior
Modelo Dominante	0.653	1.141	.643	2.022
Edad	0.746	1.011	0.945	1.082
Años de Menopausia	.001	1.121	1.049	1.198
IMC	.000	0.56	0.796	0.920
Modelo recesivo	0.066	2.522	0.941	6.761

Edad	0.858	1.006	0.940	1.078
Años de Menopausia	0.000	1.130	1.055	1.078
IMC	0.000	0.859	0.799	0.923
Modelo codominante	0.435	.828	.515	1.331
	0.501	1.315	0.592	2.922
Edad	0.856	1.006	0.940	1.078
Años de Menopausia	0.00	1.130	1.055	1.210
IMC	0.00	0.859	0.799	0.923

P: Valor de p. OR: Razón de momios por sus siglas en ingles. IMC: índice de masa corporal.

Se observa un valor de p significativo con respecto a los años de menopausia, incrementando el riesgo de desarrollar osteoporosis con dicha variable.

Discusión.

La osteoporosis es una enfermedad caracterizada por una masa ósea baja y una alteración de la microarquitectura ósea, lo que da como resultado una resistencia ósea comprometida y un mayor riesgo de fracturas. Ésta se considera una enfermedad silenciosa, ya que normalmente no presenta síntomas hasta que se produce la primera fractura.(64) La variación mundial en cuanto a la incidencia y la prevalencia de la osteoporosis es difícil de determinar debido a que se trata de una enfermedad infradiagnosticada. De acuerdo con los

diversos estudios epidemiológicos que se realizan en México, se ha observado un incremento en la prevalencia de osteoporosis, ya que previamente se reportaba en 15.6% de las mujeres con osteoporosis en cadera en 2013, sin embargo, en 2018 se estimó una prevalencia de 18%. (17,24)

Durante las últimas décadas, se han estudiado múltiples variantes de un solo nucleótido como biomarcadores potenciales para desarrollar osteoporosis.

Una SNV ocurre cuando diferentes individuos tienen diversas variantes genéticas en un mismo loci. Estrictamente la definición se describe como una localización en la secuencia de DNA donde existe una variación y la variante menos común está presente en al menos el uno por ciento de la población analizada.

Los SNV relacionados con OP están involucrados en múltiples procesos biológicos como la osteogénesis, la síntesis de colágeno, el metabolismo del calcio y la regulación hormonal. Estos polimorfismos pueden causar desequilibrios principalmente relacionados con las vías de recambio óseo, como los son los sistemas RANK/RANKL/OPG y WNT/ β -catenina, sin embargo, los datos obtenidos no siempre son

extrapolables a otras poblaciones. Por lo tanto, es importante saber cómo se representan estos biomarcadores potenciales en otros grupos étnicos.(45)

Se han realizado pocos estudios relacionando polimorfismos con osteoporosis en población mexicana, dentro de ellos se encuentra el estudio de Hidalgo y colaboradores, el cual analiza la asociación de polimorfismos rs6904364, rs17081341, rs1708134, rs624442751 de los genes *RMND1/CCDC170-ESR1*, las cuales sugieren asociación a osteopenia, osteoporosis o fractura por fragilidad. (45)

En este trabajo se estudiaron las variantes de un solo nucleótido en los genes de receptor de vitamina D (rs4516035) y proteína de unión a la vitamina D *GC* (rs2282679) en mujeres mexicanas posmenopáusicas que presentan osteoporosis en cadera.

La vitamina D media su función uniéndose al receptor de vitamina D, el cual es codificado por el gen *VDR* y éste participa en varios procesos biológicos, como lo son el metabolismo óseo, la regulación de la proliferación y diferenciación celular y la modulación de la respuesta inmune. Se han descrito diversas variantes polimórficas de este gen, observando afectación en la expresión de este, dentro de los cuales se

incluye rs4516035. La variabilidad en el locus *VDR* se ha asociado con cáncer, osteoporosis, enfermedades cardiovasculares y diabetes, destacando el estado de suficiencia de vitamina D.(65,66)

El gen *GC* codifica para la proteína de unión a la vitamina D, el principal transportador plasmático de la proteína de la vitamina D (VDBP) y sus metabolitos (incluyendo 25(OH)D y 1,25(OH)2D). El grupo de Rivera e Hidalgo *et al*, analizó los polimorfismos rs4588 y rs7041 en el gen *GC* (50) , examinando la asociación con los niveles de vitamina D, observando que las mujeres que portaban al menos una copia del alelo A de rs4588 mostraron una reducción significativa de la DMO en la cadera. Los alelos G y C, de rs7041 y rs4588 respectivamente, están asociados con altas concentraciones de VDBP y densidad mineral ósea baja en mujeres posmenopáusicas mexicanas.

Por otro lado, el único estudio que se ha realizado con los polimorfismos analizados en este trabajo rs2282679 y rs4516035 se enfocó en identificar la asociación de variantes con deficiencia de vitamina D en mujeres posmenopáusicas mexicanas, el cual reportó en rs4516035 bajo un modelo aditivo, que confiere un aumento del 40% en el riesgo de sufrir deficiencia de vitamina D para cada alelo de

riesgo. La presencia de dos alelos de riesgo del gen *GC* (rs2282679), estuvo altamente asociado con la deficiencia de Vitamina D. (60)

Por estos antecedentes previamente descritos, donde se presenta que los SNVs rs2282679 en el gen *GC* y rs4516035 en el gen *VDR* causan una deficiencia de vitamina D, a su vez apoyándonos con las guías internacionales, las mujeres posmenopáusicas que presentan osteoporosis pueden presentar signos bioquímicos de insuficiencia de vitamina D.(67) En vista de lo anterior, se plantea la hipótesis de que los polimorfismos de *GC* y *VDR* pueden predecir la susceptibilidad a desarrollar osteoporosis.

De acuerdo con la base de datos Ensemble, se describe la frecuencia de genotipos para rs2282679 a nivel mundial en T:80% G:20%. Específicamente en América la frecuencia se observa para T:79% y para G:21%. Para la población mexicana descrita por Ensemble, la cual toma en cuenta únicamente las personas ubicadas en los Ángeles, algunos estados de los Estados Unidos de América y Canadá, éste reporta una frecuencia de T:70%, G:30%(68). En el presente estudio se encontró una frecuencia alélica T:78% y G:22%, lo cual concuerda con lo descrito previamente; de acuerdo con el estudio de Rivera y

colaboradores en los grupos amerindios mexicanos, la frecuencia alélica se observa similar.(60)

Para el SNV rs4516035 a nivel global se reporta el alelo T como el más frecuente, representando el 82%, en comparación con el alelo C, el cual representa el 18%. En cuanto a la población mexicana, de acuerdo con Ensemble, se describe T:73% y C:27%, similar a lo descrito en el continente americano T:72% y C:28%.(69) Para este estudio la frecuencia alélica en la población estudiada del INR, se observa de T:70% y C:30%, lo cual es consistente con lo descrito previamente en un estudio de grupos mexicano-estadounidenses realizado por Rivera et al.(60)

A pesar de que se encuentran estos SNVs en equilibrio, se debe enfatizar, que el principio de Hardy-Weinberg establece que después de una generación de apareamiento aleatorio, las frecuencias de genotipos serán p^2 , $2pq$ y q^2 . Éste se basa en una serie de suposiciones: 1. apareamiento aleatorio, 2 la ausencia de selección natural, 3 una población muy grande (es decir, la deriva genética es insignificante), 4 no hay flujo o migración de genes, 5 no hay mutación y 6 el locus es autosómico. Cuando estos supuestos no se cumplen, pueden resultar desviaciones de las proporciones de Hardy-Weinberg. En ausencia de

otras fuerzas evolutivas (selección natural), se espera que las frecuencias genóticas permanezcan constantes a lo largo del tiempo, y es entonces cuando se dice que la población se encuentra en el equilibrio.

Los resultados del estudio demostraron que en el SNV rs4516035, del gen del receptor de la vitamina D (*VDR*), al presentarse en homocigosis del alelo C en el modelo de herencia recesiva, se observa un riesgo incrementado a desarrollar osteoporosis. La OR obtenida fue de 1.33, con un intervalo de confianza de 95% (0.61-2.91); al igual que en el modelo codominante C/C presenta una OR de 1.22 (0.54-2.73), sin embargo, ninguna de las asociaciones fue estadísticamente significativa. En el estudio de Zhao y colaboradores del 2022, (66) se observaron resultados similares a los del presente estudio, demostrando que rs4516035 con el genotipo C/T podría aumentar la susceptibilidad a fracturas, aunque en su caso tampoco se obtuvo diferencia estadística significativa. (66) Por otro lado, este misma SNV, se estudió en el grupo de Ghosdi et al (55), encontrando la asociación positiva de DMO baja/osteopenia/osteoporosis en mujeres de Irán con diabetes tipo 2, sin embargo, nuevamente OR ajustado no fue significativo. (55)

En lo que concierne al SNV rs2282679 del gen *GC*, los resultados de este estudio evidenciaron que, en el modelo recesivo, puede aportar una protección con el genotipo G/G. Se obtuvo una OR de 0.302 con IC 95% (0.097-0.940), siendo estadísticamente significativo, obteniendo un p de 0.039.

Estos resultados, pueden ser controversiales comparándolos con los examinados en la literatura, ya que, en el estudio del grupo de Fernández y colaboradores, (70) se identificó la relación de rs2228570 con sarcopenia. Los resultados del análisis multivariado revelaron que los adultos mayores con homocigosis TT se asociaron con niveles más altos de 25-OH/D (>30 ng/mL) en comparación con los heterocigotos GT [OR 1,23, 95 % IC 0,78–1,76]. De igual forma, el genotipo GG se asoció inversamente con niveles más altos de 25-OH/D (<30 ng/ml) (menores que para el genotipo TT), en comparación con el genotipo GT [OR 0,88, IC del 95 %: 0,56–1,25].

Por lo tanto, los pacientes con el genotipo GG, el cual en nuestro estudio se encontró como factor protector, presentaban significativamente más probabilidades de tener niveles inadecuados de 25-OH/D. Adicionalmente en el mismo estudio se encontró una

correlación negativa entre el grado de sarcopenia y los niveles de 25-OH/D.(70)

A su vez Zhang et al, en la población china, demostró que, bajo el modelo dominante, la SNV rs2282679 está asociada de manera significativa con raquitismo ($P = 0,005$), así como en el modelo aditivo. (71)

Nuevamente se observa que estos resultados contrastan con lo obtenido en nuestro estudio, ya que, bajo el modelo dominante, en el cual se obtuvo una OR de 0.84, no se encontró alguna asociación estadísticamente significativa.

El resto de los modelos estudiados para rs2282679, de igual forma no presentaron alguna asociación estadísticamente significativa en el presente estudio.

En cuanto al resto de las variables analizadas en este estudio, se incluyeron los factores que, de acuerdo con las guías de manejo y de revisión de osteoporosis, se describen como factores de riesgo: edad, IMC y número de años de post menopausia (14,19,67). Se obtuvo una media de edad de 59 años en los controles y una media de 70 años en los casos, la edad de menarca es la misma en ambos grupos. La media

de los años postmenopausia en el grupo control fue de 9 años, a diferencia de los 23 años observados en el grupo de los casos. En cuanto al IMC, a diferencia de lo esperado por la asociación conocida entre un IMC alto y el riesgo incrementado de osteoporosis, se observa con una media superior en el grupo de los controles con 28.32 contra el 25.02 observado en los casos. A su vez, por el OR obtenido de 1.1 IC 95% (1.040-1.192), se observa que los años de menopausia pueden ser un factor que influya en tener un riesgo incrementado para desarrollar osteoporosis.

Dentro de las limitantes de este estudio, se puede mencionar de manera destacada el pequeño número de pacientes incluidos en el mismo, sin embargo, ante la escasez de estudios enfocados en la identificación de polimorfismos que puedan estar asociados a la osteoporosis, cobra importancia este estudio al contribuir a la dilucidación de factores que puedan participar como protectores o de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad con alta impacto en la salud pública.

En consecuencia, puede servir como plataforma, proporcionando datos preliminares, para futuros estudios de seguimiento que logren

establecer una relevancia clínica de estos factores con sus inherentes aplicaciones.

Conclusiones.

Como se puede observar en los resultados reportados en este estudio, el presentar un genotipo G/G del SNV rs2282679 contribuye como factor protector contra el desarrollo de osteoporosis, esto último, bajo el modelo recesivo, con una significancia estadística de 0.039 y una OR de 0.302 (IC 0.097-0.940).

Adicionalmente, a partir de los resultados, confirmamos que el número de años desde la última menstruación participa como un factor de riesgo para el desarrollo de osteoporosis.

Dicho lo anterior, resulta evidente la importancia de saber cómo se encuentran representados estos potenciales biomarcadores en otros grupos étnicos, ya que, ante la patente variabilidad genotípica y fenotípica, no siempre los datos obtenidos de estudios en poblaciones específicas son extrapolables a otras.

Comprender la base genética de la osteoporosis resulta indispensable, ya que puede ayudar a identificar a los individuos que se encuentran

en riesgo de desarrollar esta enfermedad en una población específica, generar estrategias de prevención, aportar información sobre los mecanismos moleculares subyacentes involucrados en la enfermedad y ulteriormente que esta información permita el desarrollo de terapias que disminuyan o incluso eviten el impacto clínico de la osteoporosis y sus complicaciones.

Bibliografía

1. Ćurić M, Zafirovski O, Spiridonov V. The Basic Medicine of the Human Anatomy. En: Essentials of Medical Meteorology. 2022.
2. Salhotra A, Shah HN, Levi B, Longaker MT. Mechanisms of bone development and repair HHS Public Access. Nat Rev Mol Cell Biol. 2020;21(11).
3. Blumer MJF. Bone tissue and histological and molecular events during development of the long bones. Annals of Anatomy. 2021;235.
4. Serna NL. Osteogénesis. En: Biología del desarrollo Cuaderno de trabajo [Internet]. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2015. Disponible en:

accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?aid=11150
13782

5. Yahara Y, Nguyen T, Ishikawa K, Kamei K, Alman BA. The origins and roles of osteoclasts in bone development, homeostasis and repair. Vol. 149, Development (Cambridge). 2022.
6. SOX9 Gene - GeneCards | SOX9 Protein | SOX9 Antibody [Internet]. [citado el 17 de abril de 2023]. Disponible en: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SOX9>
7. RUNX2 Gene - GeneCards | RUNX2 Protein | RUNX2 Antibody [Internet]. [citado el 17 de abril de 2023]. Disponible en: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=RUNX2&keywords=Osx>
8. SP7 Gene - GeneCards | SP7 Protein | SP7 Antibody [Internet]. [citado el 17 de abril de 2023]. Disponible en: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SP7&keywords=Osx>
9. Liu Q, Li M, Wang S, Xiao Z, Xiong Y, Wang G. Recent Advances of Osterix Transcription Factor in Osteoblast

Differentiation and Bone Formation. Vol. 8, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2020.

10. ATF4 Gene - GeneCards | ATF4 Protein | ATF4 Antibody [Internet]. [citado el 17 de abril de 2023]. Disponible en: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ATF4&keywords=ATF4>
11. Chen D, Zhao M, Mundy GR. Bone morphogenetic proteins. *Growth Factors*. diciembre de 2004;22(4):233–41.
12. Guasto A, Cormier-Daire V. Signaling pathways in bone development and their related skeletal dysplasia. Vol. 22, *International Journal of Molecular Sciences*. 2021.
13. Noh JY, Yang Y, Jung H. Molecular mechanisms and emerging therapeutics for osteoporosis. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2020. p. 1–22.
14. Sabri SA, Chavarria JC, Ackert-Bicknell C, Swanson C, Burger E. Osteoporosis: An Update on Screening, Diagnosis, Evaluation, and Treatment. Vol. 46, *Orthopedics*. Slack Incorporated; 2023. p. E20–6.
15. Compston JE, McClung MR, Leslie WD. Osteoporosis. Vol. 393, *The Lancet*. Lancet Publishing Group; 2019. p. 364–76.

16. Li G, Thabane L, Papaioannou A, Ioannidis G, Levine MAH, Adachi JD. An overview of osteoporosis and frailty in the elderly. Vol. 18, BMC Musculoskeletal Disorders. BioMed Central Ltd.; 2017.
17. Kristina Åkesson- Paul Mitchell. Capture The Fracture A Global Campaign To Break The Fragility Fracture Cycle. International Osteoporosis Foundation. International Osteoporosis Foundation [Internet]. 2012;1–28. Disponible en: www.iofbonehealth.org
18. Salari N, Darvishi N, Bartina Y, Larti M, Kiaei A, Hemmati M, et al. Global prevalence of osteoporosis among the world older adults: a comprehensive systematic review and meta-analysis. Vol. 16, Journal of Orthopaedic Surgery and Research. BioMed Central Ltd; 2021.
19. Khandelwal S, Lane NE. Osteoporosis: Review of Etiology, Mechanisms, and Approach to Management in the Aging Population. Endocrinol Metab Clin North Am. el 1 de junio de 2023;52(2):259–75.
20. Definición de Osteoporosis. [Internet]. [citado el 1 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://conceptodefinicion.de/osteoporosis/>

21. Cai X, Yi X, Zhang Y, Zhang D, Zhi L, Liu H. Genetic susceptibility of postmenopausal osteoporosis on sulfide quinone reductase-like gene. *Osteoporosis International*. 2018;29(9).
22. (IOF). International Osteoporosis Foundation | IOF [Internet]. <https://www.osteoporosis.foundation/>. 2021 [citado el 10 de abril de 2023]. Disponible en: <https://www.osteoporosis.foundation/>
23. Shen Y, Huang X, Wu J, Lin X, Zhou X, Zhu Z, et al. The Global Burden of Osteoporosis, Low Bone Mass, and Its Related Fracture in 204 Countries and Territories, 1990-2019. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13.
24. CENETEC. Diagnóstico y Tratamiento de Osteoporosis En Mujeres Posmenopáusicas. Evidencias y Recomendaciones. 2018;(GPC-IMSS-673-18).
25. Secretaria de Salud. Programa de acción en atención al envejecimiento 2020-2024. Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades. 2021;1-78.
26. Clark P, Carlos F, Martínez JL V. Epidemiología, costos y carga de la osteoporosis en México. *Revista metabolismo óseo y mineral Volumen*. 2010;8(5).

27. International Osteoporosis Foundation. National Coalition for Secondary Fracture Prevention moves forward in Mexico. 2023 [citado el 10 de abril de 2023]. International Osteoporosis Foundation. Disponible en: <https://www.osteoporosis.foundation/news/national-coalition-secondary-fracture-prevention-moves-forward-mexico-20230323-1707>
28. Johansson H, Clark P, Carlos F, Oden A, McCloskey E V., Kanis JA. Increasing age- and sex-specific rates of hip fracture in Mexico: A survey of the Mexican institute of social security. Vol. 22, Osteoporosis International. 2011.
29. Clynes MA, Harvey NC, Curtis EM, Fuggle NR, Dennison EM, Cooper C. The epidemiology of osteoporosis. Vol. 133, British Medical Bulletin. Oxford University Press; 2020. p. 105–17.
30. Arceo-Mendoza RM, Camacho PM. Postmenopausal Osteoporosis: Latest Guidelines. Vol. 50, Endocrinology and Metabolism Clinics of North America. W.B. Saunders; 2021. p. 167–78.
31. Centre for Metabolic Bone Diseases. FRAX ®Fracture Risk Assessment Tool [Internet]. 2010 [citado el 30 de mayo de

- 2023]. Disponible en:
<https://frax.shef.ac.uk/FRAX/tool.aspx?country=24>
32. Gao Y, Patil S, Jia J. The development of molecular biology of osteoporosis. *Int J Mol Sci.* el 1 de agosto de 2021;22(15).
 33. De Paula FJA, Black DM, Rosen CJ. Osteoporosis and Bone Biology. En: *Williams Textbook of Endocrinology.* 2016.
 34. Khosla S, Hofbauer LC. Osteoporosis treatment: recent developments and ongoing challenges. Vol. 5, *The Lancet Diabetes and Endocrinology.* 2017.
 35. Bikle D. Vitamin D: Production, Metabolism, and Mechanisms of Action. Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR et al, editores. *Endotext.* 2021.
 36. Malloy PJ, Feldman D. Genetic Disorders and Defects in Vitamin D Action. Vol. 38, *Rheumatic Disease Clinics of North America.* 2012.
 37. Rivera-Paredes B, Hidalgo-Bravo A, de la Cruz-Montoya A, Martínez-Aguilar MM, Ramírez-Salazar EG, Flores M, et al. Association between vitamin D deficiency and common variants of Vitamin D binding protein gene among Mexican Mestizo and indigenous postmenopausal women. *J Endocrinol Invest.* 2020;43(7).

38. Cheng CH, Chen LR, Chen KH. Osteoporosis Due to Hormone Imbalance: An Overview of the Effects of Estrogen Deficiency and Glucocorticoid Overuse on Bone Turnover. Vol. 23, International Journal of Molecular Sciences. 2022.
39. Shi H, Jiang X, Xu C, Cheng Q. MicroRNAs in Serum Exosomes as Circulating Biomarkers for Postmenopausal Osteoporosis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13.
40. Ono T, Hayashi M, Sasaki F, Nakashima T. RANKL biology: Bone metabolism, the immune system, and beyond. Vol. 40, *Inflammation and Regeneration*. 2020.
41. Weitzmann MN. Session: Bone As an Endocrine Organ Bone and the Immune System. *Toxicologic Pathology* . 2017;47(7):911–24.
42. Chen Y, Sun Y, Xue X, Ma H. Comprehensive analysis of epigenetics mechanisms in osteoporosis. Vol. 14, *Frontiers in Genetics*. Frontiers Media S.A.; 2023.
43. Karasik D, Demissie S, Zhou Y, Lu D, Broe KE, Bouxsein ML, et al. Heritability and Genetic Correlations for Bone Microarchitecture: The Framingham Study Families. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2017;32(1).

44. Formosa MM, Bergen DJM, Gregson CL, Maurizi A, Kämpe A, Garcia-Giralt N, et al. A Roadmap to Gene Discoveries and Novel Therapies in Monogenic Low and High Bone Mass Disorders. Vol. 12, *Frontiers in Endocrinology*. 2021.
45. Hidalgo-Bravo A, Parra-Torres AY, Casas-Avila L, Jimenez-Ortega RF, Ramírez-Salazar EG, Patiño N, et al. Association of RMND1/CCDC170–ESR1 single nucleotide polymorphisms with hip fracture and osteoporosis in postmenopausal women. *Climacteric*. el 2 de enero de 2019;22(1):97–104.
46. Visscher PM, Wray NR, Zhang Q, Sklar P, McCarthy MI, Brown MA, et al. 10 Years of GWAS Discovery: Biology, Function, and Translation. Vol. 101, *American Journal of Human Genetics*. 2017.
47. Velázquez-Cruz R, Jiménez-Ortega RF, Parra-Torres AY, Castillejos-López M, Patiño N, Quiterio M, et al. Analysis of association of MEF2C, SOST and JAG1 genes with bone mineral density in Mexican-Mestizo postmenopausal women. *BMC Musculoskelet Disord*. 2014;15(1).
48. Zhu X, Bai W, Zheng H. Twelve years of GWAS discoveries for osteoporosis and related traits: advances, challenges

and applications. Vol. 9, Bone Research. Springer Nature; 2021.

49. Estrada K, Styrkarsdottir U, Evangelou E, Hsu YH, Duncan EL, Ntzani EE, et al. Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture. *Nat Genet.* 2012;44(5).
50. Rivera-paredes B, Hidalgo-bravo A, León-reyes G, Antuna-puente B, Flores YN, Salmerón J, et al. Association of gc variants with bone mineral density and serum vdbp concentrations in mexican population. *Genes (Basel).* el 1 de agosto de 2021;12(8).
51. Villagómez Vega A, Gámez Nava JI, Ruiz González F, Pérez Romero M, Trujillo Rangel WÁ, Nuño Arana I. Influence of the Osteogenomic Profile in Response to Alendronate Therapy in Postmenopausal Women with Osteoporosis: A Retrospective Cohort Study. *Genes (Basel).* 2023;14(2).
52. Wu J, Shao B, Xin X, Luo W, Mo M, Jiang W, et al. Association of vitamin D pathway gene polymorphisms with vitamin D level during pregnancy was modified by season and vitamin D supplement. *Clinical Nutrition.* el 1 de mayo de 2021;40(5):3650–60.

53. Castelán-Martínez OD, Vivanco-Muñoz N, Falcón-Ramírez E, Valdés-Flores M, Clark P. Papel del polimorfismo Apa1 del gen VDR en el riesgo de osteoporosis en mujeres mexicanas posmenopáusicas. *Gac Med Mex.* 2015;151(4).
54. Calcium plus vitamin D supplementation during pregnancy interacts with polymorphisms in the promoter region of the VDR gene to affect postpartum bone mass of Brazilian adolescent mothers_ A randomized controlled trial _ Elsevier Enhanced Reader.
55. Ghodsi M, Keshtkar AA, Razi F, Mohammad Amoli M, Nasli-Esfahani E, Zarrabi F, et al. Association of vitamin D receptor gene polymorphism with the occurrence of low bone density, osteopenia, and osteoporosis in patients with type 2 diabetes. *J Diabetes Metab Disord.* el 1 de diciembre de 2021;20(2):1375–83.
56. Cooper GS, Umbach DM. Are Vitamin D Receptor Polymorphisms Associated with Bone Mineral Density? A Meta-Analysis. Vol. 11, *Journal Of Bone And Mineral Research.* Blackwell Science, Inc; 1996.
57. Balta B, Gumus H, Bayramov R, Korkmaz Bayramov K, Erdogan M, Oztop DB, et al. Increased vitamin D receptor

gene expression and rs11568820 and rs4516035 promoter polymorphisms in autistic disorder. *Mol Biol Rep.* el 1 de agosto de 2018;45(4):541–6.

58. Angelin TC, Bardosono S, Shinta D, Fahmida U. Growth, dietary intake, and vitamin D receptor (VDR) promoter genotype in Indonesian school-age children. *Nutrients.* el 1 de septiembre de 2021;13(9).
59. Morrison NA, George PM, Vaughan T, Tilyard MW, Frampton CM, Gilchrist NL. Vitamin D receptor genotypes influence the success of calcitriol therapy for recurrent vertebral fracture in osteoporosis. Vol. 15, *Pharmacogenetics and Genomics.* 2005.
60. Rivera-Paredes B, Macías N, Martínez-Aguilar MM, Hidalgo-Bravo A, Flores M, Quezada-Sánchez AD, et al. Association between vitamin D deficiency and single nucleotide polymorphisms in the vitamin D receptor and GC genes and analysis of their distribution in Mexican postmenopausal women. *Nutrients.* el 1 de septiembre de 2018;10(9).
61. Cheung CL, Lau KS, Sham PC, Tan KC, Kung AW. Genetic variant in vitamin D binding protein is associated with

serum 25-hydroxyvitamin D and vitamin D insufficiency in southern Chinese. *J Hum Genet.* noviembre de 2013;58(11):749–51.

62. Kiel DP, Cheung C I, Karasik D, Wang TJ, Florez JC, Vasan DM RS, et al. Articles Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet* [Internet]. 2010;376:180–8. Disponible en: www.thelancet.com
63. Osteoporosis, enfermedad silenciosa que afecta 10 millones de mexicanos. [Internet]. [citado el 20 de abril de 2023]. Disponible en: <https://www.amgen.com.mx/media/news-release-listing/2020/10/osteoporosis-enfermedad-silenciosa>
64. Johnston CB, Dagar M. Osteoporosis in Older Adults. Vol. 104, *Medical Clinics of North America*. W.B. Saunders; 2020. p. 873–84.
65. Laplana M, Sánchez-de-la-Torre M, Aguiló A, Casado I, Flores M, Sánchez-Pellicer R, et al. Tagging long-lived individuals through vitamin-D receptor (VDR) haplotypes. *Biogerontology*. 2010;11(4).

66. Zhao XQ, Chen K, Wan HY, He SY, Qin HJ, Yu B, et al. Vitamin D Receptor Genetic Variations May Associate with the Risk of Developing Late Fracture-Related Infection in the Chinese Han Population. *J Immunol Res.* 2022;2022.
67. Gregson CL, Armstrong DJ, Bowden J, Cooper C, Edwards J, Gittoes NJL, et al. UK clinical guideline for the prevention and treatment of osteoporosis. *Arch Osteoporos.* 2022;17(1).
68. EMBL-EBI. Feb 2023. 2023 [citado el 6 de junio de 2023]. Ensembl. Disponible en: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=4:71742166-71743166;v=rs2282679;vdb=variation;vf=91615954
69. EMBL-EBI. Feb. 2023 [citado el 6 de junio de 2023]. Ensembl. Disponible en: https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Explore?r=12:47905543-47906543;v=rs4516035;vdb=variation;vf=730151747
70. Fernández-Lázaro D, Hernández JLG, Lumbreras E, Mielgo-Ayuso J, Seco-Calvo J. 25-Hydroxyvitamin D Serum Levels Linked to Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)

(rs2228570, rs2282679, rs10741657) in Skeletal Muscle Aging in Institutionalized Elderly Men Not Supplemented with Vitamin D. *Int J Mol Sci.* 2022;23(19).

71. Zhang Y, Yang S, Liu Y, Ren L. Relationship between polymorphisms in vitamin D metabolism-related genes and the risk of rickets in Han Chinese children. *BMC Med Genet.* 2013;14(1).

Anexos

Lista de Tablas.

Tabla 1. Genes asociados al desarrollo óseo.

Tabla 2. Factores de Riesgo incluidos en FRAX.

Tabla 3. Criterios diagnósticos de acuerdo con las diversas asociaciones.

Tabla 4. Datos demográficos de las 306 mujeres mexicanas incluidas en el estudio.

Tabla 5. Datos demográficos de la población estudiada. Se dividen en casos n:144 y controles n:162.

Tabla 6. Frecuencias alélicas del polimorfismo rs2282679.

Tabla 8. Tabla de frecuencias de genotipo para rs2282679.

Tabla 9. Tabla de frecuencias de genotipo de casos para rs2282679

Tabla 10. Tabla de frecuencias de genotipo de controles para rs2282679

Tabla 11. Tabla de frecuencias de genotipo para rs2282679. Prop*
Proporción calculada.

Tabla 12. Tabla de frecuencias de genotipo del SNV rs4516035 de los 144 casos del estudio.

Tabla 13. Tabla de frecuencias de genotipo del SNV rs4516035 de los 162 controles.

Tabla 14. Asociación de polimorfismos estudiados para el polimorfismo rs2282679, utilizando los 4 modelos de herencia separando casos y controles.

Tabla 15. Asociación de polimorfismos estudiados para el polimorfismo rs4516035, utilizando los 4 modelos de herencia separando casos y controles.

Tabla 16. Modelos de herencia ajustados por las variables estudiadas en el SNV rs2282679

Tabla 17. Modelos de herencia ajustados por las variables estudiadas en el SNV rs4516035.

Lista de Figuras

Figura 1. Tendencias en la prevalencia de osteoporosis ajustada por edad entre adultos de 50 años o más, por sexo(19)

Figura 2. Mapa global de la carga de salud de las fracturas relacionadas con baja densidad mineral ósea en 2019. (23)

Figura 3. Fx de cadera en hombres y mujeres mexicanas 2005 y 2050. Tomado de panorama de Clark P. La osteoporosis postmenopáusica en México: Retos Y Oportunidades.

Figura 4. Loci genéticos informados por el catálogo GWAS para osteoporosis y rasgos relacionados. Fractura que ocurre en cualquier sitio, excepto en los dedos de las manos y los pies y el cráneo, después de los 18 años. BMC contenido mineral óseo, BMD densidad mineral ósea, BUA atenuación de ultrasonido de banda ancha, FN cuello femoral, LL extremidades inferiores, OF fracturas osteoporóticas, SOS velocidad del sonido. (48)

Figura 5. Distribución geográfica de las frecuencias alélicas T/C para el polimorfismo rs4516035 en grupos amerindios mexicanos. Imagen obtenida y modificada (60)

Figura 6. Distribución geográfica de las frecuencias alélicas de los polimorfismos rs4588 y rs7041 en grupos amerindios mexicanos. Imagen modificada (37)

Figura 7. Frecuencia de edades de las 306 mujeres, incluidas en el estudio.

Figura 8. T- score de las pacientes controles incluidas en este estudio.

Figura 9. T-score de mujeres con osteoporosis. En el eje de la X se observa la T-score, en el eje de las Y se observa la frecuencia.