

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN



**ASOCIACIÓN DE LAS VARIANTES ALÉLICAS DE LOS GENES DEL
RECEPTOR DE ESTRÓGENO 1 (*ESR1*) Y *C6orf97* CON DENSIDAD
MINERAL ÓSEA EN MUJERES DE 40 A 80 AÑOS.**

POR

LIC. NUT. HILDA GUADALUPE ÁVILA RODRÍGUEZ

Como requisito para obtener el grado de

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN

DICIEMBRE, 2014

AGRADECIMIENTOS

Dios, agradezco infinitamente el haberme permitido vivir esta etapa importante de mi carrera profesional, por haberme dado la fortaleza y el temple para mantener el margen correcto a lo largo de estos dos años, gracias por darme la compañía indicada, las herramientas adecuadas, el entendimiento apropiado y la firmeza sólida para continuar mi camino y sobre todo, gracias por no soltarme de tú mano nunca.

A la Universidad Autónoma de Nuevo León, a la Facultad de Salud Pública y Nutrición, así como al comité de la Maestría en Ciencias en Nutrición por el apoyo recibido durante mi programa académico, gracias a su soporte económico pude realizar este trabajo.

Agradezco muy especialmente al Dr. Zacarías Jiménez Salas, que como director de esta tesis, me ha orientado, apoyado y corregido en mi labor científica con un interés y una entrega singular. Gracias por su confianza, y paciencia en todo momento.

Gracias a las personas que formaron parte del desarrollo de mi tesis, pasantes, becarios y amigos del laboratorio de Genética y Biología Molecular. Agradezco a Sandra González Peña por haber sido una gran amiga y compañera durante este transcurso profesional, gracias por haber tendido una mano y desvelo de aprendizaje, por nuestro esfuerzo y compromiso para nuestras tesis.

Extiendo mi gratitud al Dr. Rafael Velázquez Cruz, codirector de esta tesis, por darme la oportunidad de pertenecer a su equipo de trabajo y poder llevar acabo mi trabajo experimental, así como a mis compañeros del laboratorio de las Enfermedades Cardiovasculares y Óseas del INMEGEN por su ayuda y disposición de compartir su saber y conocimiento.

Al Dr. Erik Ramírez López por su disposición y colaboración para el desarrollo de la parte experimental de la investigación en el Laboratorio de Composición Corporal.

A mis profesores y compañeras de la generación por compartir su conocimiento y momentos importantes durante nuestra formación.

DEDICATORIA

A mis padres Jaime Ávila Loera e Hilda Rodríguez Zarazúa quienes siempre han sido el motor de mi vida y mi ejemplo a seguir, gracias por su presencia de cada día y su aliento de cada instante, por su amor y apoyo incondicional, son mi verdadero orgullo, me han dado lo necesario para llegar aquí, gracias por su fé y su amor hacia mí, los amo tanto.

A mis hermanos Jaime y Yazmín, porque han sido mis grandes compañeros de esta lucha profesional, por su amor y apoyo, por su tiempo y su espacio, porque ha sido difícil más no imposible, gracias a ustedes este camino ha estado lleno de momentos felices y gran entusiasmo. Los amo mis hermanitos.

A mi querido esposo, por estar siempre a mi lado, llenarme de palabras sabias siempre que las necesite, por su amor y sincera compañía, por su paciencia y sus acciones, por su aliento, gracias a ti, estoy aquí logrando un sueño que veía difícil alcanzar. Gracias por ser mi impulso y fortaleza siempre, me siento tan orgullosa de ti, porque eres lo más bueno de mi vida.

A mis abuelos, que aunque no lograron compartir esta felicidad, sé que desde el cielo están orgullosos de mí como yo lo estoy y estaré por siempre de ellos; estarán siempre en mi mente y en mi corazón.

A mis amigas, Sofia Torres, Jatziri Mota, Silvia Galaviz porque aunque lejos siempre me han motivo y han estado conmigo siempre, también a mis buenas y nuevas amigas Evelyn Sifuentes y Paulina Ríos porque su palabra ha llenado mi corazón de cariño puro y me han permitido ver con otros ojos lo mejor de la vida.

A mis seres queridos, familia y amigos por su apoyo, motivación y comprensión en cada situación que he vivido a lo largo de este proceso.

TABLA DE CONTENIDOS

	Pág
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
3. ANTECEDENTES	6
3.1 Fisiología ósea	6
3.2 Matriz extracelular ósea y matriz orgánica	6
3.3 Estructura ósea	7
3.4 Osificación	10
3.5 Remodelación ósea	11
3.6 Densidad mineral ósea	13
3.7 Epidemiología de la osteoporosis	15
3.8 Osteoporosis y factores de riesgo	19
3.9 Heredabilidad ósea	21
3.10 Polimorfismos genéticos	21
3.11 Genética de la osteoporosis	22
3.12 Estrógenos	25
3.13 Participación de estrógenos en la remodelación ósea	26
3.14 Vías de señalización de estrógenos	29
3.15 Receptor de estrógeno	30
3.16 Receptor de estrógeno 1 (<i>ESR1</i>)	31
3.17 <i>ESR1</i> y osteoporosis	33
3.18 Gen del cromosoma 6 marco de lectura abierto 97 (<i>C6orf97</i>)	35
3.19 Polimorfismos del receptor de estrógeno 1 (<i>ESR1</i>) y del gen del cromosoma 6 marco de lectura abierto 97 (<i>C6orf97</i>) asociados a densidad mineral ósea	36
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	40
5. JUSTIFICACIÓN	42
6. HIPÓTESIS	44
7. OBJETIVOS	44
7.1 Objetivos general	44
7.2 Objetivos específicos	44
8. MATERIALES Y MÉTODOS	45
8.1 Materiales	45
8.2 Métodos	45
8.2.1 Diseño del estudio	45
8.2.2 Estrategia general	46
8.2.3 Obtención de la información	49
8.2.4 Mediciones antropométricas	49
8.2.5 Determinaciones de la densitometría ósea	50

8.2.6	Determinaciones genéticas	52
8.2.6.1	Obtención y recolección de las muestras de sangre	52
8.2.6.2	Extracción de DNA genómico a partir de muestras de sangre con el método de buffer de lisis TSNT	53
8.2.6.3	Cuantificación de DNA	54
8.2.6.4	Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR TR)	55
8.2.7	Análisis estadístico	60
9.	RESULTADOS	61
9.1	Características generales de la población.	61
9.2	Determinación de la densidad mineral ósea	62
9.3	Análisis de las variantes alélicas de los genes <i>ESR1</i> y <i>C6orf97</i>	62
9.4	Determinación de las frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes de los genes <i>ESR1</i> y <i>C6orf97</i>	69
9.5	Determinación de la asociación de las variantes alélicas de los genes <i>ESR1</i> y <i>C6orf97</i> con la densidad mineral ósea.	71
10.	DISCUSIÓN	87
11.	CONCLUSIONES	97
12.	LITERATURA CITADA	99
13.	ANEXOS	108
13.1	Anexo 1 Difusión del proyecto.	108
13.2	Anexo 2 Consentimiento informado	109

LISTA DE TABLAS

	Pág
Tabla I. Clasificación de los valores de DMO de acuerdo a la OMS.	14
Tabla II. Factores de riesgo de osteoporosis	20
Tabla III. Genes Candidatos a densidad mineral ósea.	23
Tabla IV. Reactivos utilizados	45
Tabla V. Componentes de la reacción de PCR en tiempo real.	57
Tabla VI. Condiciones del termociclado de la PCR en tiempo real	57
Tabla VII. SNPs de interés de los genes <i>ESR1</i> y <i>C6orf97</i> .	59
Tabla VIII. Características generales de la población estudiada.	61
Tabla IX. Densidad mineral ósea (g/cm ²) en diferentes regiones anatómicas de la población de estudio.	62
Tabla X. Frecuencia alélica y genotípica de los genes <i>ESR1</i> y <i>C6orf97</i> en mujeres mexicanas.	69
Tabla XI. Asociación del polimorfismo rs1999805 del gen <i>ESR1</i> con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas.	73
Tabla XII. Asociación del polimorfismo rs3020404 del gen <i>ESR1</i> con densidad mineral ósea en mujeres	74
Tabla XIII. Asociación del polimorfismo rs2504063 gen <i>ESR1</i> con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas.	75 76
Tabla XIV. Asociación del polimorfismo rs2228480 gen <i>ESR1</i> con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas.	76 79
Tabla XV. Asociación del polimorfismo rs9479055 del gen <i>C6orf97</i> con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas.	80
Tabla XVI. Asociación del polimorfismo rs4870044 del gen <i>C6orf97</i> con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas.	81
Tabla XVII. Asociación del polimorfismo rs851982 del gen <i>C6orf97</i> con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas	82
Tabla XVIII. Asociación del polimorfismo rs3020331 del gen <i>C6orf97</i> con	84

densidad mineral ósea en mujeres mexicanas.	
Tabla XIX. Asociación del polimorfismo rs7753676 del gen <i>C6orf97</i> con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas	85
Tabla XX. Asociación del polimorfismo rs712219 del gen <i>C6orf97</i> con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas	86
Tabla XXI. Asociación del polimorfismo rs851993 del gen <i>C6orf97</i> con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas.	89
Tabla XXII. Densidad mineral ósea (g/cm ²) en diferentes poblaciones.	90
Tabla XXIII. Frecuencias alélicas de los polimorfismos de los genes <i>ESR1</i> y <i>C6orf97</i> en diferentes regiones del mundo.	94
Tabla XXIV. Resumen de resultados, asociación las variantes alélicas del gen <i>ESR1</i> con densidad mineral ósea.	

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Estructura del tejido óseo	8
Figura 2. Células óseas, osteoblastos, osteocitos y osteoclastos	10
Figura 3. Mecanismos de regulación de estrógenos en la resorción del hueso	28 29
Figura 4. Efectos "Genómicos" del Receptor del Estrógenos	30
Figura 5. Efectos "no genómicos" del Receptor de Estrógenos	31
Figura 6. Localización citogenética del gen ESR1	32
Figura 7. Estructura y localización de dominios del gen receptor de estrógeno	33
Figura 8. Localización de dominios del gen receptor de estrógeno 1	35
Figura 9. Localización citogenética del gen C6orf97	37
Figura 10. Sitios polimórficos de los genes ESR1 y C6orf97	48
Figura 11. Estrategia general del estudio de investigación	63
Figura 12. Gráficas de amplificación y discriminación alélica de los polimorfismos rs1999805 y rs3020404 del gen ESR1	64
Figura 13. Gráficas de amplificación y discriminación alélica de los polimorfismos rs2504063 y rs2228480 del gen ESR1	65
Figura 14. Gráficas de amplificación y discriminación alélica de los polimorfismos rs9479055 y rs4870044 del gen C6orf97	66
Figura 15. Gráficas de amplificación y discriminación alélicas de los polimorfismos rs851982 y rs3020331ndel del gen C6orf97	67
Figura 16. Gráficas de amplificación y discriminación alélica de los polimorfismos rs7753676 y rs712219 del gen C6orf97	68
Figura 17. Gráficas de amplificación y discriminación alélicas del polimorfismo rs851993 del gen C6orf97	

LISTA DE SIMBOLOS/ABREVIATURAS

NOMENCLATURA

DMO	Densidad mineral ósea
DNA	Ácido desoxirribonucleico
PCR	La reacción en cadena de la polimerasa
IMC	Índice de masa corporal
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
OP	Osteoporosis
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
ESR1	Receptor de estrógeno 1
GWAS	Genome-wide association studies
$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Hidroxiapatita
SER	Sociedad Española de Reumatología
CFU-f	Fibroblast colony forming unit
PTH	Hormona paratiroidea
VITAMINA D	1,24 dihidroxivitamina D
NOF	National Osteoporosis Foundation
DEXA	Densitometría dual de rayos X
OMS	Organización Mundial de la Salud
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
CDC	Consensus Development Center
IOF	International Osteoporosis Foundation
VDR	Receptor de la vitamina D
E1	Estrona
E2	Estradiol o 17 β -estradiol
E3	Estriol
TNF	Factor de necrosis tumoral
M-CSF	Macrophage colony-stimulating factor
OPG	Osteoprotegerina

ERE	Elemento de respuesta a estrógeno
RNA _m	Ácido ribonucleico mensajero
ESR	El receptor de estrógenos
NCBI	National Center for Biotechnology Information
Sp1	Promotor tipo 1
AP-1	La proteína activadora
NFκB	Factor nuclear kappa B
NRIP1	Proteínas de interacción con receptores nucleares
AF-1	Activador de la transcripción 1
SERms	Moduladores selectivos del ER
WIS	Weizmann Institute of Science
INMEGEN	Instituto Nacional de Medicina Genómica
UANL	Universidad Autónoma de Nuevo León
SS	Secretaría de Salud
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
CINSP	Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública
RPM	Revoluciones por minuto
PCR TR	Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real
PCR	Polymerase chain reaction
ng/μl	Nanogramos por microlitro
Kg/m ²	Kilogramos sobre metros cuadrados
Min	Minuto
AMF	Alelo de menor frecuencia
dbSNP	The Short Genetic Variations database
mg/dL	Miligramos por decilitro

1. RESUMEN

Introducción: La osteoporosis es una consecuencia derivada de la baja densidad mineral ósea (DMO) que conlleva al deterioro del tejido óseo, incrementa la fragilidad del hueso y el riesgo a fractura. En México se estima que el 52.5% de la población presenta alteraciones en la DMO, siendo la población femenina la de mayor prevalencia. Los factores genéticos participan en la etiología de la osteoporosis, los genes *ESR1* y *C6orf97* son candidatos que predisponen a esta condición y se le ha relacionado con la disminución de la DMO. **Objetivo:** Analizar la asociación de variantes alélicas de los genes *ESR1* y *C6orf97* con la densidad mineral ósea en mujeres de 40 a 80 años del norte del país. **Metodología:** Se realizó densitometría dual de rayos X en diferentes regiones de cadera total y columna lumbar anteroposterior, en 124 mujeres de 40 a 80 años de Monterrey, N.L., saludables, que aceptaron firmar el consentimiento informado. Se recolectó sangre periférica para extraer DNA genómico. Determinación de polimorfismos: PCR en tiempo real utilizando sondas TaqMan. Resultados analizados por estadística descriptiva, pruebas paramétricas ajustadas con edad, IMC y glucosa, software SPSS v.19.0. **Resultados:** Las participantes tuvieron edad promedio de 63.45 (± 9.02) años; un promedio de DMO-CT 1.058 (± 0.099) g/cm², DMO-C= 0.925 (± 0.127) g/cm², DMO-CF= 0.862 (± 0.120) g/cm², DMO-TW= 0.682 (± 0.137) g/cm², DMO-T=0.749 (± 0.115) g/cm², DMO-L1-L4=0.999 (0.154) g/cm², DMO-L2-L4= 1.018 (± 0.165) g/cm². Para el gen *ESR1* se observó diferencia significativa en el polimorfismo rs1999805 con baja DMO en cuerpo total y en columna anteroposterior de las lumbares L1-L4 y L2-L4 bajo el modelo aditivo y recesivo, en la DMO-L2-L4 bajo el modelo aditivo tiene una tendencia alta DMO, de igual manera, en la región de cuello femoral bajo el modelo dominante; para el rs2504063 se encontró asociación en cuerpo total y columna anteroposterior de las lumbares L1-L4 y L2-L4 con una tendencia a alta DMO bajo el modelo aditivo y con tendencia a baja DMO bajo el modelo dominante en las tres regiones respectivamente. En el gen *C6orf97* se observa asociación significativa en el rs4870044 con una tendencia a alta DMO en el modelo

recesivo en la región de cuello femoral; el rs851982 mostró tendencia a baja DMO en cuerpo total para el modelo dominante y en el rs851993 en cadera total, trocánter en el modelo dominante con tendencia a baja DMO y columna anteroposterior de las lumbares L1-L4 y L2-L4 en el modelo aditivo con tendencia a alta DMO y modelo dominante a baja DMO de estas regiones evaluadas. **Discusión y conclusión:** Estos resultados coinciden con reportes de otras poblaciones, observando relación entre variaciones polimórficas de *ESR1* y *C6orf97* con baja y alta DMO, ubicándolo como posible marcador osteoprotector y de riesgo a osteoporosis. Por lo que las variantes alélicas rs199805 y rs2504063 del gen *ESR1* y rs851982, rs4870044 y rs851993 del gen *C6orf97* participan como factores en la variación en la DMO para esta población mexicana manteniendo la asociación al ajustar por variables que afectan la DMO.

2. INTRODUCCIÓN

La osteoporosis (OP) es definida como una enfermedad sistémica caracterizada por la pérdida de masa ósea y el deterioro de la microarquitectura del hueso, originando el debilitamiento óseo que conlleva a mayor riesgo de fracturas (OMS, 1994). En México, la prevalencia de OP es cada vez mayor y se correlaciona con un aumento de la esperanza de vida; actualmente la cantidad de personas mayores de 50 años corresponde a un 17% de la población y se estima que para el 2050 sea de un 37%, lo que incrementa el riesgo al desarrollo de OP y fracturas en personas de este grupo (Clark, Carlos, & Vázquez-Martínez, 2010). De Lago-Acosta et al. (2008) estiman que el 52.5% de la población mexicana presenta alteraciones en la densidad mineral ósea (DMO) de los cuales el 34.5% tiene osteopenia y un 18% osteoporosis, teniendo un 80% de prevalencia la población femenina, posicionando la etapa de postmenopausia como la de mayor riesgo (Schurman et al., 2013).

En la población femenina, una DMO baja es consecuencia de la menopausia y la edad que conducen a un desbalance en el remodelado óseo, ya que la desmineralización se incrementa rápidamente y disminuye la actividad osteoblástica dando lugar a la OP (Massé, Dosy, Jogleux, Caissie, & Howell, 2005). Entre los factores de riesgo que determinan el origen de la OP están la edad, la genética, los cambios hormonales, estilo de vida, actividad física, uso de medicamentos, historia familiar y los hábitos de alimentación (Kanis, 2002) .

En las mujeres postmenopáusicas el riesgo a desarrollar osteoporosis es alto, puesto que se pierde la función ovárica e inicia el periodo de menopausia; la nula síntesis de estrógenos incrementa pérdida y recambio óseo, el cual ha sido identificado en estudios con ovariectomías en ratones. Cabe señalar que los estrógenos tienen una participación importante en la adquisición y mantenimiento de la masa ósea, la actividad nula de los estrógenos induce un efecto directo a las células del linaje osteoclasto, teniendo como consecuencia una mayor síntesis de osteoclastos e inhibición de la actividad osteoblástica y lo

que conduce a un alto recambio óseo y pérdida del hueso (Almeida et al., 2013).

Actualmente, la relación de los factores genéticos con la DMO se ha convertido en un predictor para el desarrollo de esta enfermedad. Para lograr comprender el papel que toma este elemento, se han considerado estudios de asociación que identifican la presencia de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) los cuales representan variaciones en la secuencia del DNA que pueden ejercer un efecto en la respuesta a ciertas enfermedades.

El gen del receptor de estrógenos 1 (*ESR1*) el cual es miembro de la súper familia de receptores nucleares que media la mayor parte de los efectos biológicos de los estrógenos es considerado un gen candidato que aumenta el riesgo de OP; aunque el gen *ESR1* es expresado en hueso, su papel molecular aún sigue siendo poco claro, en diversos artículos se sugiere que los estrógenos protegen la pérdida ósea porque inhiben la resorción del hueso al participar el receptor de estrógenos en las células osteoclasticas y osteoblasticas, por lo tanto, los niveles de estrógenos podrían alterar los mecanismos en los que interviene dentro del metabolismo óseo (Cui, Shen, & Li, 2013; Gennari, Becherini, Falchetti, Masi, Massart, & Brandi, 2002; Imai, Kondoh, Kouzmenko, & Kato, 2010).

Por otro lado, en varios estudios de asociación del genoma completo (en inglés Genome-wide association studies, GWAS) se ha encontrado al gen del cromosoma 6 marco abierto de lectura 97 (*C6orf97*) que se ubica rio arriba del gen *ESR1*, involucrado con la DMO; sin embargo, la función del gen y su proteína codificada es desconocida hasta la actualidad. Mientras que sus variantes alélicas continúen relacionadas a la DMO, las investigaciones tendrán mayor avance en el futuro (Weizmann Institute of Science, 2014) .

Tanto el factor genético y ambiental en conjunto contribuyen al rápido desarrollo de la enfermedad, por lo que en este trabajo se determinó la

densidad mineral ósea de las pacientes mediante la densitometría, así como la identificación de los 11 polimorfismos de los genes *ESR1* y *C6orf97* en las mujeres de estudio, su frecuencia alélica y genotípica para finalmente conocer la asociación de la densidad mineral ósea con los polimorfismos de estos genes, lo que permitió analizar SNP's relacionados a la variación de la DMO en esta población del norte de México y así contribuir a comprender el mecanismo y la predisposición que ejercen estas variantes genéticas sobre el fenotipo óseo.

3. ANTECEDENTES

3.1 Fisiología ósea

El tejido óseo es el componente principal del esqueleto humano caracterizado por brindar sostén y protección, da resguardo a los órganos internos del ser humano, ayuda a la función motora mediante la unión muscular a través de los tendones y contribuye a mantener una homeostasis sobre las reservas de calcio, fosforo, sodio y otros iones permitiendo su almacenamiento en el hueso (Ross & Pawlina, 2008). Las características óseas comprenden la resistencia del hueso al ser sometido a un esfuerzo interno y compresión, otorgando una estructura liviana y con flexibilidad. Su constitución estructural está sujeta a diversos cambios tanto hormonales, nutricios y sobre todo metabólicos. Los principales componentes, definen la estructura ósea, que es una matriz mineral constituida por fosfato de calcio en forma de cristales de hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ proporcionando dureza y firmeza al hueso, matriz orgánica y colágeno (Roos & Paulina, 2008; Welsch, 2010).

3.2 Matriz extracelular ósea y matriz orgánica.

La matriz ósea tiene gran extensión, su clasificación se basa en la matriz orgánica y sales minerales (favorecen la formación de hidroxiapatita) constituyentes para la formación de la estructura de la matriz ósea. Tiene una constitución de calcio principalmente dando al hueso resistencia y dureza. Esta porción ósea tiene como objetivo llevar a cabo reacciones metabólicas y así como la reserva de calcio. El óptimo funcionamiento mantiene su estructura adecuada. Su composición se divide en un 65% de sales minerales y el resto de colágeno, proteínas propias del hueso y proteoglicanos (Sociedad Española de Reumatología [SER], 2010).

Por otro lado la matriz orgánica tiene como constituyente principal al colágeno, el cual representa un 90% de las proteínas que dan al hueso solidez

estructural y a su vez fortaleza y resistencia ósea (Talbot, 2001). El colágeno es una proteína que se conforma por dos cadenas α_I y α_{II} que se clasifican como tipo I, estas cadenas se constituyen por elementos como la hidroxiprolina, glicina y prolina, su función principal es acoplarse, dirigir y entrelazar proteínas para su posterior calcificación ósea, es decir, da el soporte para depositar los cristales de apatita en un orden correcto, por otro lado, el tipo III y V están presentes en menor cantidad siendo responsables de la regulación de las fibras colágenas (SER, 2010).

Existen otras proteínas que no tienen composición colágena son proteínas exógenas y endógenas, las primeras siendo albúmina y glucoproteínas tiene un mecanismo regulador sobre el crecimiento óseo. Las endógenas están compuestas por proteoglicanos, proteínas γ -carboxilasa, proteínas glucosiladas (RGD arginina, glicina, aspártato) y éstas se generan a partir de las células propias del hueso (Talbot, 2001).

3.3 Estructura ósea

La principal clasificación de los huesos de acuerdo a su forma se basa en huesos largos, planos y cortos. Su composición ósea es ubicada en la parte interna del hueso en forma de diminutas hendiduras, que permiten a los vasos sanguíneos una circulación adecuada (SER, 2010).

De acuerdo a su consistencia, el tejido óseo se clasifica en dos: hueso compacto (denso) y esponjoso (trabecular). El primero compone la parte externa del hueso y abarca el 80% del volumen total óseo, forma la porción central de los huesos largos, organizada por la matriz ósea mineral que provee resistencia a la flexión, la torsión y la fractura. La mineralización es depositada en laminillas cercanas a los conductos de Harvest y osteoblastos que permiten la conexión por medio de conductos que favorecen una correcta nutrición ósea (Merí-Vived, 2005).

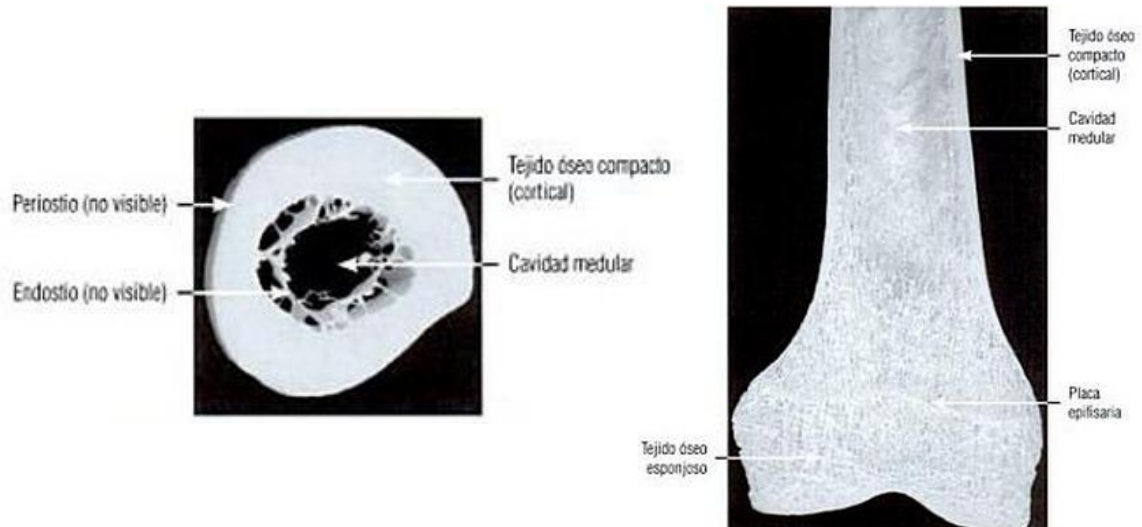


Figura 1. Estructura del tejido óseo. Tomado de Merí-Vived (2005).

Por otro lado, el hueso esponjoso o trabecular ocupa alrededor del 20% del esqueleto humano, se ubica en la parte interna del hueso y posee un aspecto esponjoso formado por trabéculas, redes de fibras delgadas con depósitos calcificados entrecruzados con ellas, tienen pequeños espacios en donde se ubica la médula ósea, aporta resistencia a la compresión y tensión del hueso (Ross y Pawlina, 2008; SER, 2010).

La composición ósea, además de la matriz del hueso, agua, proteínas y sales minerales también lo constituyen células que son importantes para la absorción y resorción de minerales.

Las *células osteoprogenitoras*, son células que se originan de las células madre mesenquimales llamadas CFU-f (fibroblast colony forming unit), se encuentran en el revestimiento del hueso conocido como periostio (compuesto por capa superficial de tejido fibroso y capa interna de células osteoprogenitoras), en su desarrollo las células periósticas sufren mitosis y culminan en el origen de células osteoblásticas (Ross & Pawlina, 2008).

Los *osteoblastos*, son células secretadas por la matriz extracelular del tejido óseo, participan en la síntesis de células colágenas y en la matriz orgánica forma proteínas del hueso que favorecen la formación de receptores hormonales, citosinas, etc. Su actividad metabólica es una de las características más importantes, los osteoblastos son ubicados en la matriz ósea formando capas de células unidas entre sí unidas mediante prolongaciones delgadas, presentan un núcleo definido y su composición celular incluye aparato de Golgi, ribosomas y retículo endoplásmico rugoso bien definido (Welsch & Sobotta, 2010).

El precursor de los osteoblastos son los osteoides los cuales son caracterizados por la falta de calcificación, están ubicados en la matriz ósea y cuando se calcifican, atraviesan la matriz ósea convirtiéndose en osteoblastos. Cuando el organismo requiere calcio los osteoblastos son los que aportan este mineral mediante la resorción ósea de los osteoclastos activados por la hormona paratiroidea. El ciclo de vida de los osteoblastos culmina en muerte celular o al convertirse en osteocitos (Welsch & Sobotta, 2010).

Los *osteocitos* se ubican junto a la matriz exenta de calcio, tienen una conexión que permite el paso de osteocitos y minerales, contiene orgánulos que se modifican hasta la formación de osteoblastos.

Las *células de revestimiento óseo*, se localizan en la superficie ósea cuando no hay crecimiento activo. Proceden de los osteoblastos restantes después de la detención del depósito óseo.

Los osteoclastos son células fagocíticas resultado de la unión de células progenitoras hematopoyéticas de la médula ósea, las cuales originan los linajes granulocíticos neutrófilos y monocíticos. Se localizan en la superficie ósea y se encargan de la resorción ósea cuando el hueso se está eliminando,

remodelando o cuando se ha lesionado (Ross & Pawlina, 2008; Welsch & Sobotta, 2010).

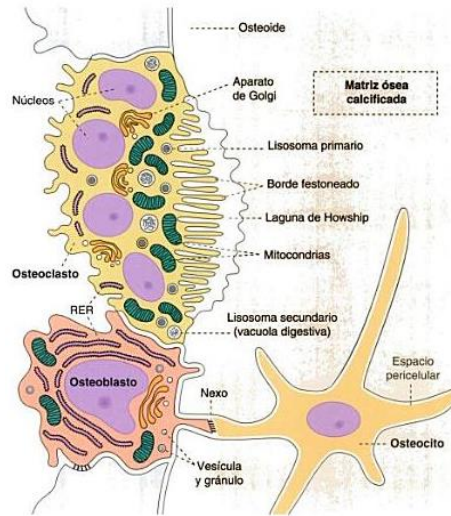


Figura 2. Células óseas, osteoblastos, osteocitos y osteoclastos. Tomado de Welsch & Sobotta (2010)

3.4 Osificación

Desde el desarrollo embrionario, el sistema esquelético comienza su formación por medio de tejido conectivo, otorgando una estructura para el crecimiento y formación del hueso en un proceso de osificación, el cual es la formación completa de la masa ósea que se va desarrollando a lo largo de la vida. En los niños la poca formación ósea se debe a que se encuentra mayor cantidad de agua y pocos minerales que constituyen el cartílago hasta la etapa de adulto joven donde el proceso de osificación de los huesos termina. En esta etapa aumenta la densidad mineral ósea (DMO) y alcanza un pico de masa ósea máximo el cual indica la cantidad de mineralización óptima responsable de la integración final del hueso, llegando a un periodo de culminación en la década de los 30 y 40 años; sin embargo, después de esta edad el proceso se revierte y comienza la pérdida del tejido, donde la densidad mineral ósea

disminuye incrementando su resorción con mayor proporción en mujeres (en la etapa de menopausia) que en hombres (Merí-Vived, 2005).

3.5 Remodelación ósea

La dinámica de las células óseas comprende una acción realizada en la superficie del hueso que permite su remodelación constante. El proceso inicia cuando los osteoclastos (principales células remodeladoras del hueso) participan en la resorción que permite mantener un equilibrio óseo, es decir, los osteoclastos inician una liberación de minerales de la matriz del hueso al torrente sanguíneo y cuando la función metabólica del cuerpo se lleva a cabo de manera normal, el hueso mantiene un equilibrio con la formación de osteoblastos (Riancho-Moral & González-Macías, 2004).

El papel principal lo tienen los osteoblastos y osteoclastos; cuando hay una alteración funcional de citoquinas, hormonas, factores de crecimiento para la regulación mineral del hueso, el desequilibrio afecta el mantenimiento óseo y las complicaciones se reflejan en dos formas, si la resorción es mayor conduce a osteoporosis u osteopenia; si es mayor la formación del hueso se origina la osteopetrosis (Castelo-Braco Flores & Haya-Palazuelos, 2009).

El recambio óseo representa anualmente un cambio total de masa esquelética, 25% de hueso trabecular y 3% de hueso cortical, la meta de este recambio es continuar con una adecuada composición ósea y una regulación adecuada de la homeostasis mineral que eviten complicaciones como fracturas pequeñas o bien lesiones o traumatismos; sin embargo el tener hueso nuevo cada año no es para siempre, este proceso llevado en todo el sistema esquelético continúa por unos 10 años. Cada ciclo de remodelación abarca 3 días para la resorción ósea, antes de la activación de osteoblastos se genera una etapa de inactivación que dura 14 días y finalmente 70 días que permiten

formar nuevamente el hueso en un periodo de mineralización, estas etapas se conocen como remodelado óseo (Fitzgerald, Kaufer, & Malkini, 2004).

La remodelación ósea está compuesta por etapas continuas, iniciando por la activación, fase mediante la cual surge una conversión de pre-osteoclastos a osteoclastos maduros, inicia la participación de las colagenasas y otras señales endocrinológicas y hormonales dan paso a la resorción. En la etapa de resorción, la actividad osteoclástica inicia cuando entra en contacto con el hueso y los osteoblastos permiten su paso hacia la matriz; cuando se unen, inicia su actividad de resorción originada por una desmineralización, desprendimiento de iones, degradación de colágeno, disolución de cristales de hidroxiapatita, con la colaboración de hidrógenos y enzimas que ayudan a digerir las proteínas; posteriormente ocurre apoptosis de osteoclastos e inicia la fase de inversión (Castelo-Braco Flores & Haya-Palazuelos, 2009).

Los precursores remodeladores del hueso son los osteoblastos que se instalan en la cavidad ósea como paquete celular rellena la cavidad y da origen a hueso cortical y trabecular. Cuando el proceso se completa los osteoblastos mueren o se convierten en células de revestimiento. Las células óseas tienen una función específica de remodelación llamado unidad multicelular básica que contribuyen a un balance óseo dado por un equilibrio entre el hueso destruido y formado, sin embargo, a partir de los 40 inicia un desbalance que perjudica la salud ósea e inicia un recambio óseo (cantidad de nuevo hueso) con un 3% menos de remodelación y este va en aumento al iniciar la etapa de envejecimiento y más acentuado en las mujeres con el periodo de menopausia teniendo como consecuencia final un desajuste óseo negativo e incrementa la remodelación y por el proceso que esta conlleva, la pérdida de hueso aumenta (Castelo-Braco Flores & Haya-Palazuelos, 2009).

En el recambio óseo la remodelación se limita, ya que las células que participan no tienen una actividad normal, disminuye la fase formativa y el

hueso comienza a ser poroso y frágil. Este procedimiento implica factores mecánicos y hormonales donde interviene la PTH y la regulación del Cbfa1 que activa Rank-I, también la participación de la vitamina D (1,24 dihidroxivitamina D), y los estrógenos que intervienen en el mantenimiento mineral óseo, aunque este último elemento tiene mayor actividad en etapa de menopausia y la calcitonina ejerce un efecto contrario manteniendo la integridad ósea (Bilbao, Sánchez-A, & Gil-Antuñano, 2011).

3.6 Densidad mineral ósea

El hueso, como parte esencial de la estructura esquelética de los seres vivos vertebrados, tiene una composición mineral especialmente de calcio, fósforo, sodio, magnesio y potasio. Esta constitución mineral forma la masa ósea de una persona, la cual tiene una participación metabólica ya explicada anteriormente, que permitirá desarrollar una estructura funcional en el organismo humano, su desarrollo es continuo durante las primeras etapas de la vida, alcanza un pico de masa ósea entre los 30 y 35 años, posteriormente inicia un proceso retrogrado que afecta seriamente la salud ósea al existir factores que favorecen la desmineralización del hueso (Harris, Jaffe, & Shocack, 2006; SER, 2010).

Es importante conocer que la densidad ósea o densidad mineral ósea DMO, hace referencia a la “cantidad de minerales por centímetro cuadrado de hueso...” definida así por la Biblioteca Nacional de Medicina, tiene el objetivo de valorar la masa ósea generada a partir de ganancia o pérdida de tejido mineral con la finalidad de diagnosticar de manera oportuna el riesgo que trae consigo la desmineralización de hueso, pero también es útil para evaluar la presencia de osteoporosis o el riesgo a fracturas (Schurman et al., 2013).

En la actualidad, la medición de la DMO es recomendada a mujeres de 65 años en adelante por manifestar un mayor riesgo de osteoporosis, también las mujeres en periodo de menopausia son consideradas susceptibles a

fractura, sin embargo cualquier edad es ideal para llevar a cabo esta prueba; de acuerdo a las directrices de la National Osteoporosis Foundation [NOF], existen diferentes métodos para determinar la DMO, entre ellos, el uso del equipo de densitometría dual de rayos X (DEXA), es una técnica ampliamente desarrollada y validada que permite el diagnóstico de osteoporosis y predice el riesgo a fractura así como una valoración general de la masa ósea. Las mediciones más comunes son columna lumbar, cadera, cuerpo completo y antebrazo, entre otros (NOF, 2008; WHO, 2003).

Para otorgar un diagnóstico sobre densidad mineral ósea, éste se obtiene a partir de puntos de corte establecidos por la OMS, el cual es un predictor que valora la osteoporosis y riesgo a fractura, el cual basa su medición en valores de T-score, tal medida representa el resultado de la población adulta joven respecto a la media normal de DMO medida por el número de desviaciones estándar, considerando características de sexo y raza en la población (Tabla I) (Cole, 2008). Se debe tomar en cuenta que la densidad ósea mantiene una estabilidad hasta los 50 y 65 años en mujeres y hombres, respectivamente (Hough et al., 2010).

Tabla XXIV. Clasificación de los valores de DMO de acuerdo a la OMS.

Clasificación	Valor T (T-score) (DS)	Densidad mineral ósea (g/cm ²)
Normal	Mayor de -1.0	≥1.07
Osteopenia	entre -1.0 y -2.5*	1.06 - 0.88
Osteoporosis	Inferior a -2.5*	≤0.87
Osteoporosis severa	Inferior a -2.5 más la presencia de fractura	

Fuente: Tomado de Hough et al. (2010) * Por debajo de la media de adulto joven.

De acuerdo al diagnóstico central de osteoporosis utilizando DEXA, se plantean indicadores para llevar a cabo la densitometría ósea, puesto que la medición no está indicada para toda la población a menos que se requiera un diagnóstico terapéutico, sin embargo, en la práctica clínica los factores de

riesgo que disminuyen la DMO provocan osteoporosis y fracturas, generalmente afectan a la mayoría de la población por lo que las personas en caso de requerir un diagnóstico de su densidad ósea éste no puede negarse (Ibáñez-Bosch, 2003).

3.7 Epidemiología de la Osteoporosis

La osteoporosis se describe como una condición patológica derivada de una baja densidad mineral ósea que provoca un deterioro en la calidad del hueso que consecuentemente deriva en un riesgo mayor a fractura (OMS, 1994). La prevalencia de esta enfermedad va en aumento en la población mundial alcanzando 200 millones de personas y se sabe que las mujeres posmenopáusicas serán las más afectadas (Schurman et al., 2013).

La creciente evolución epidemiológica de la población adulta y la consecuente necesidad de enfrentar las implicaciones propias de la transición demográfica como es el incremento de la población de adultos mayores, se han enfocado principalmente a problemas de salud como parte fundamental de la situación de enfermedades que prevalecen en estas etapas de la vida.

Conforme transcurre el tiempo, la dinámica social tiende a tornarse cada vez más compleja, afectando el comportamiento de las variables demográficas; en el censo realizado en 1910 México estaba conformado por una población de 15.2 millones de habitantes, siendo un 42% población joven (15 años o menos) y solo 2% era población de adultos mayores (>65 años) (Mendoza-García & Tapia-Colocía, 2010). En esta etapa, comenzó a aumentar la mortalidad y disminuir la esperanza de vida pues la escasa tecnología, las condiciones sanitarias que enfrentaba el país en aquellos días, la poca atención en el sector salud y el aumento de enfermedades infecciones y parasitarias sin tratamiento llevaron a este periodo a un decremento de la población y por lo tanto pocas posibilidades de presentar enfermedades crónicas en cada etapa de la vida

(Mendoza- García & Tapia-Colocia, 2010). A lo largo de los años el cambio demográfico fue inconsistente pero a finales de 1970 se alcanzó una estabilidad de la fecundidad y la mortalidad, reduciendo esta última y generando un creciente desarrollo de la población.

La situación actual del país refleja una gran transición de cambio, donde la población adulta mayor va en aumento alcanzando un valor máximo en el presente siglo; la situación del país en el rubro de tecnología-salud ha mejorado notablemente, dando oportunidad al aumento de la esperanza de vida que hoy en día se refleja en 76 años (INEGI, 2010) y alcanzando un 17% del total de la población en México con personas de más de 50 años y se estima que alcance un 37% para el año 2050 (Clark et al., 2010).

Esta etapa de la tercera edad constituye un desafío trascendental para el sector salud, pues el mencionado aumento del envejecimiento también creará un impacto en la demanda de atención al área de salud y el factor económico estará en aumento (Gutiérrez et al., 2012). Este suceso, mantendrá la atención en actuar eficientemente en la prevención, pues el incremento de las enfermedades crónicas será predominante y una de los padecimientos de mayor prevalencia es la osteoporosis.

En el año de 1990 se comenzó a indagar sobre los aspectos que contribuyen a conocer más acerca del tejido óseo (E-Lane, 2011). Desde los últimos 20 años, la investigación sobre la densidad mineral ósea, forma parte de uno de los rasgos complejos de la osteoporosis y es uno de los marcadores de fragilidad ósea más importantes que se han considerado durante el transcurso del tiempo y hoy en día sigue siendo una incógnita para los posibles tratamientos y avances en área de salud-enfermedad de la densidad mineral ósea (Hosoi, 2010).

La fragilidad de los huesos, la desmineralización, osteoporosis y la consecuencia más grave como las fracturas van formando parte de un proceso natural de envejecimiento del cuerpo en hombres en etapa senil y más fuertemente relacionado con mujeres después de la menopausia (E-Lane, 2011).

La evaluación de la DMO implica la medición de la cantidad de calcio y minerales que componen la microarquitectura presente en el área de los huesos (Zieve, 2011), el cual está en constante remodelación, pero en la etapa adulta, la tasa de resorción es más rápida que la formación del hueso, cuando el proceso de resorción y mineralización no acopla, se produce un desequilibrio que avanza a medida que el ciclo de recambio óseo es con mayor rapidez, así la remineralización es lenta y acelera la osteoporosis, disminuye la salud de la masa ósea e incrementa el riesgo a fracturas (Wood, 1988).

La osteoporosis tiene una relación directa con la densidad mineral ósea, desde la década de 1990 se define como “una enfermedad caracterizada por una masa ósea baja y el deterioro de la microarquitectura del tejido óseo, que conduce a fragilidad y un aumento del riesgo de fractura...” (Consensus Development Center, 1993). Para el 2011, la NOF la redefine como “Una enfermedad esquelética sistémica caracterizada por una baja masa ósea y deterioro de la microarquitectura del tejido óseo, por consiguiente aumenta la fragilidad ósea y la susceptibilidad a fractura, que por lo general implica la muñeca, columna vertebral, cadera, costillas, pelvis o el húmero...” (Van Schoor, 2011).

Dentro de las causas de mortalidad y morbilidad más importantes, la componen la osteoporosis y las fracturas a consecuencia de la debilidad ósea, postulándose como un problema de salud pública relevante. Cada 3 segundos se origina una fractura por osteoporosis y cada 22 segundos una fractura vertebral. Alrededor del 14% de las mujeres tienen la probabilidad de sufrir una

fractura de cadera y el 28% una fractura de columna vertebral, donde 1 de cada 2 mujeres son más susceptibles a las fracturas (IOF, 2012).

La población en el mundo alcanza actualmente 7,5 millones de personas con osteoporosis y se estima que para el año 2050 sean 10,5 millones, estas cifras son una alarma puesto que el aumento de la población de edad avanzada es un cambio demográfico que implica mayor riesgo y complicaciones de salud. Simplemente en América Latina se estima que para el 2050 incremente de 28 al 49% de la población de la tercera edad (Riera-Espinoza, 2009), alcanzando en México para el 2009 un estimado de 111 millones de personas y su aumento de 125 a 148 millones de personas en los próximos 38 años, los factores que intervienen en este cambio son factores demográfico, el aumento de la esperanza de vida, disminuye la mortalidad e incrementan las enfermedades crónicas degenerativas ocasionando una secuela económica al país (Clark et al., 2010).

Los costos sobre cuidado y tratamiento de la osteoporosis implican un gran gasto público en atención médica. En Estados Unidos de América el gasto dirigido a pacientes con osteoporosis y sus complicaciones fue de 6 100 billones de dólares para 1985, sin embargo, las cifras no permanecieron estables y en el año 2000 aumentó considerablemente a 10 000 billones de dólares (Jorna-Calixto & Véliz-Martínez, 2010).

No solo en EUA se tienen costos tan elevados, en Gran Bretaña las fracturas de cadera son la consecuencia más frecuente de una frágil densidad mineral ósea y genera un costo de 500 millones de libras esterlinas por año; También en Francia, se tuvo una inversión de 3.5 billones de francos para atender las fracturas de cadera y 455 millones de francos para fracturas de antebrazo (Jorna-Calixto & Véliz-Martínez, 2010).

Tan solo en México los datos sugieren costos de inversión donde las fracturas de cadera asociadas a una densidad mineral ósea baja son las que aumentan de manera rápida, para el 2006 se obtienen costos de más de 97 millones de dólares para las fracturas de cadera y las proyecciones para el 2050 son de 555 a 4088 millones dólares al año (Clark et al., 2010).

La osteoporosis es una enfermedad que se vuelve cada vez más frecuente en América Latina. Su prevalencia es muy parecida a la encontrada en Europa del sur y ligeramente más baja que en Europa del Norte y en la población blanca de los EUA. De acuerdo a las proyecciones de población de la OMS, el número de fracturas que se registrarán en la región de Latino América en los próximos 50 años casi igualará los números encontrados en EUA y Europa (Riera-Espinoza, 2009).

3.8 Osteoporosis y factores de riesgo.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) conceptualiza la osteoporosis como una enfermedad que se caracteriza por la disminución de la masa ósea, afectando directamente la estructura del hueso, se vuelve frágil y susceptible a fracturas (Hough et al., 2010). El desgaste óseo es asintomático y su evolución es gradual a través del tiempo, no se detecta sin un estudio de por medio, sin embargo la primer señal de osteoporosis es cuando ocurre una fractura principalmente en muñeca, cadera o columna, a tal grado de progreso, inicia un deterioro en la calidad de vida y como producto final, la muerte (Cossette-Díaz, Navarro-Despaigne, Santana-Pérez, Domínguez-Alonso, & Bacallao-Gallestey, 2013).

Los factores que fungen como participantes de este proceso son ambientales y genéticos (Tabla II) (Padierna-Luna, 2008). Son considerados elementos modificables, la delgadez y poca reserva muscular que limita la correcta utilización de nutrientes en el hueso y disminuyen la calidad de la masa

ósea; la deficiente actividad física la cual disminuye la estabilidad de la composición ósea; los hábitos frecuentes de ingesta de alcohol, tabaco, café intervienen en el proceso metabólico de formación, así como dietas deficientes en vitaminas y minerales (vitamina D, calcio) y tratamiento con corticoides, etc., (Cossette-Díaz et al, 2013).

Dentro de los factores que no son modificables e incrementan el riesgo de osteoporosis son: el origen étnico, principalmente caucásico, la edad avanzada, sexo (mayor prevalencia en mujeres que en hombres), menopausia precoz y deficiencia estrogénica que contribuye al deterioro de la estructura esquelética y finalmente la heredabilidad familiar (Cossette-Díaz et al., 2013; Schurman et al., 2013).

Es probable que cada factor involucrado pueda contribuir a un diagnóstico temprano y participar como marcador preventivo o de control en la enfermedad de osteoporosis que finalmente puede ser tratada para evitar su evolución (Romera, Carbonell, & Lafuente, 2002).

Tabla XXV. Factores de riesgo de osteoporosis

Factores de Riesgo de osteoporosis
<ul style="list-style-type: none">• Historia personal de fracturas• Antecedentes de fractura en familiares de 1er grado• Enfermedades asociadas• Menopausia precoz (< 40 años) o quirúrgica (<45 años)• Carencia de estrógenos en la premenopausia• Delgadez (IMC* < 20) o trastornos en la conducta alimentaria• Ingesta de corticoides u otros medicamentos• Tabaquismo (> 10 cigarrillos diarios)• Trasplante de órganos• Amenorrea primaria o secundaria• Inmovilización prolongada• Bajo consumo de calcio

Fuente: Tomado de Schurman et al., (2013)

3.9 Heredabilidad ósea

Las características óseas que contribuyen al desarrollo de una baja densidad mineral del hueso, tiene su origen multifactorial, sin embargo de un 60 a 80% de la población comprende una patogénesis hereditaria (Zofková, 2011). Las variaciones en el código genético señalan una mayor susceptibilidad sobre la pérdida ósea cuando estas se combinan con factores ambientales (Richards et al., 2008). La herencia de la osteoporosis se puede apreciar en investigaciones realizadas en gemelos. En un estudio de mujeres gemelas en Reino Unido mostraron que la DMO tenía un fuerte componente genético como predictor de osteoporosis y riesgo de fractura en columna lumbar (78%) y cuello femoral (84%) (Arden, Baker, Hogg, Baan, & Spector, 1996).

Krall & Dawson-Hughes (1993), estudió el comportamiento de la densidad mineral ósea en familias (madre postmenopáusica, hija sin menopausia, hijo y padre), estimó que la densidad mineral ósea es atribuida a la herencia genética; los resultados mostraron que se hereda a los hijos e hijas de un 42-62% de la densidad ósea, no obstante los estilos de vida pueden convertirse en factores de riesgo en cada individuo y el desarrollo óptimo de la densidad mineral ósea dependerá de ello.

3.10 Polimorfismos genéticos

No todos los seres humanos tienen una secuencia similar de nucleótidos en el DNA, en ocasiones surgen variaciones en los nucleótidos que los componen, es decir, cambia una base por otra, alterando la conformación de la cadena de DNA, a estas pequeñas variaciones se le conoce como SNP's (Single Nucleotide Polymorphism), siendo pequeñas mutaciones que alcanza al menos el 1% de la población, de no ser así, no se considera un SNP; regularmente aparecen cada 1200 pb, por lo que dos personas pueden diferenciarse entre

sus cadenas de DNA originando diferentes rasgos físicos (Törrönen, Kolehmainen, & Poutanen, 2006).

La humanidad tiene la particularidad de poseer ciertos polimorfismos y crear diferencias en el genoma, en ocasiones estos cambios modifica la respuesta de cada individuo respecto al aprovechamiento de nutrientes. La composición génica de una persona puede tener millones de SNPs, que muchas veces no afecta el estado de salud de un individuo (Coronado-H., Vega y León, Gutiérrez-T., Pérez-G., & Peláez-M., 2011), pero en situaciones particulares pueden tener una influencia directa que hasta hoy en día se ha estudiado.

3.11 Genética de la osteoporosis

Como parte de los factores que participan en el proceso de desarrollo de la osteoporosis, la susceptibilidad genética tiene un papel importante en la calidad de la masa ósea y la estructura del hueso, donde los polimorfismos genéticos son partícipes de esta transición (Peacock, Turner, Econs, & Foroud, 2002).

Diversos abordajes se han llevado a cabo para la determinación genética que involucra una baja densidad mineral ósea y las características que tienen relación con el origen y evolución de la osteoporosis (Picotto, Pérez, Díaz de Barboza, & Talosa de Talamoni, 2007). Tras el avance de las investigaciones genéticas se han emprendido diversos estudios de asociación entre polimorfismos de genes candidatos y DMO como predictor de osteoporosis (Tabla III) (Castelo-Braco Flores & Haya-Palazuelos, 2009).

Tabla XXVI. Genes Candidatos a densidad mineral ósea.

Gen candidato	Proteína	Cromosoma
<i>AHSG</i>	Alfa 2 HS-glicoproteína	3q27
<i>VDR</i>	Receptor de vitamina D	12q12-q14
<i>ESR1</i>	Receptor de estrógeno 1 (α)	6q25.1
<i>ESR2</i>	Receptor de estrógeno 2 (β)	14q23
<i>COL1A1</i>	Colágeno tipo 1, α 1	17q21.3-q22.1
<i>COL1A2</i>	Colágeno tipo 1, α 2	7q22.1
<i>IL6</i>	Interleucina 6	7p21
<i>TGFB1</i>	Factor de crecimiento transformante beta 1	19q13.2
<i>CALCR</i>	Receptor de calcitonina	7q21.3
<i>IGFI</i>	Factor de crecimiento insulínico I	12q22-q23
<i>BGLAP</i>	proteínas ósea γ -carboxyglutamato (osteocalcina)	1q25-q31
<i>MTHFR</i>	Metilentetrahidrofolato reductasa	1p36.3
<i>IL1RN</i>	Antagonista del receptor de IL-1 β	2q14.2
<i>TNFRGF5</i>	Superfamily/1 β receptor de TNF	1p36.3-p36.2
<i>CASR</i>	Receptor-sensor de calcio	3q21-q24
<i>CYP19</i>	La aromatasa (citocromo P450)	15q21.1
<i>P57, KIP2</i>	Inhibidor de 1uinasa dependiente de ciclina 1c	11p15.5
<i>HLA DRB1</i>	Complejo mayor de histocompatibilidad, clase 11, DR β 1	6p21.3

Fuente: Tomado de Peacock et al. (2002)

Eichner et al. (1990) publicó el primer estudio de asociación de DMO mediante la participación del gen α 2 HS-glicoproteína, el cual tiene un papel funcional en la matriz ósea, se encontró una variación respecto a sus alelos sobre la cantidad de estrógeno y las diferencias significativas entre la DMO respecto al riesgo de fractura y osteoporosis.

A partir de este abordaje, el ámbito científico ha estudiado el papel de la genética y su participación en el proceso metabólico óseo, donde la baja DMO y osteoporosis se ven afectados por la acción de genes candidatos como el gen de la vitamina D, colágeno, receptores de calcitonina, estrógenos, *LRP5*, *LP6* y osteoprotegerina (SER, 2010).

El primer gen candidato estudiado en osteoporosis es el gen del receptor de la vitamina D (*VDR*), caracterizado por tres polimorfismos *BsmI*, *Apal* y *TaqI*,

este gen ha presentado resultados controversiales a lo largo de sus investigaciones. En una publicación de Norman & Collins (1994) demostraron que las variantes alélicas del gen permiten relacionar el contenido mineral óseo en la población y el riesgo de osteoporosis.

Otro estudio que incluyó los polimorfismos de *VDR*, *BsmI*, *Apal*, *TaqI*, *FokI* y *CdX2*, no mostraron una asociación significativa con DMO ni fracturas; sin embargo, se encontró que las fracturas vertebrales están asociadas al polimorfismo *CdX2* (Uitterlinden et al., 2006).

La densidad mineral ósea y el riesgo a fractura también están asociados a las proteínas del colágeno *COL1A1* y *COL1A2* que participan como moduladores de la masa ósea y osteoporosis (Efstathiadou, Tsatsoulis, & Loannidis, 2001). “Diversos estudios han demostrado asociación de baja DMO y mayor riesgo a fractura para los alelos GT y TT de *COL1A1*...” (Picotto et al., 2007), estos estudios contribuyen al conocimiento sobre genotipos que son predictores de la masa ósea.

Como parte de los factores de riesgo de osteoporosis, la etapa de la menopausia conlleva a la considerable disminución de estrógenos, por lo que su participación ha encaminado a realizar estudios con el gen *ESR1* (gen receptor de estrógeno 1 o también conocido como alfa) que permite la diferenciación de células óseas y que favorece la DMO. Khosla et al. (2004) reafirma que hay una modulación por parte del gen *ESR- α 1* para la DMO y su relación con la pérdida de estrógeno ya que demuestra que los portadores de sus variantes genéticas de *XbaI* y *PvuII* predisponen a una baja concentración de estrógenos y por lo tanto a un mayor riesgo a osteoporosis.

La implicación de conocer las variantes genéticas de la osteoporosis están basadas en la aplicación práctica, es decir, forjar un conocimiento claro sobre

marcadores genéticos que permiten una evaluación completa y diagnóstico adecuado para la prevención y tratamiento de osteoporosis y fracturas.

3.12 Estrógenos

Son hormonas sexuales esteroideas de importante función endocrina, participan en el desarrollo y mantenimiento de las funciones reproductivas y sexuales, tienen origen principalmente en ovarios, cuerpo lúteo, placenta; además, juegan un papel fundamental en hígado, corazón, cerebro y otros tejidos como el hueso (Heldring et al., 2007).

La biosíntesis de estrógenos comienza a partir del colesterol teniendo tres formas fisiológicas importantes estrona (E1), estradiol (17 β -estradiol o E2) y estriol (E3). Siendo el estradiol uno de los más importantes en el transcurso de la vida de las mujeres en etapa de pre menopausia, mientras que la estrona actúa durante la menopausia y el estriol en el embarazo (Cui, Shen, & Li, 2013).

La función que ejerce el estradiol en el organismo es regulado por receptores nucleares de estrógenos (ERs), receptor de estrógenos alfa o tipo 1 (ER α , ESR1) y beta o tipo 2 (ER β , ERS2) los cuales tienen un papel en la regulación de la transcripción del DNA y actúan con diferentes activadores y correpresores en ligandos dependientes e independientes (Börjesson et al., 2011).

La vía de señalización estrogénica es activada mediante el receptor de estrógenos (ER α o ESR1) que se convierte en un importante mediador, ya que favorece la formación de la masa ósea, mantiene una homeostasis mineral, permite el crecimiento longitudinal del hueso y evita la pérdida ósea (Gennari, Becherini, Falchetti, Masi, Massart, & Brandi, 2002).

Para mantener un balance en la remodelación del hueso, la actividad de osteoclastos y osteoblastos actúan en el proceso fisiológico de modelado óseo

permitiendo el crecimiento y arquitectura adecuada del esqueleto (Almeida et al., 2013).

Durante el crecimiento hasta la pubertad el desarrollo de los huesos es similar en hombres y mujeres, aumenta la longitud y el espesor de la corteza ósea como resultado de la secreción de la matriz extracelular producida por condrocitos que osifican el hueso y la proliferación cartilaginosa (Turner, Lawrence-Riggs, & Spelsberg, 1994). Después de la pubertad inicia cambios hormonales, en específico los estrógenos y andrógenos disminuyen la resorción permitiendo el aumento del espesor de los huesos. Los estrógenos actúan mediante señales celulares que se oponen al desarrollo de los osteoclastos, por otro lado, permiten llevar a cabo un proceso antiapoptótico en células osteoblásticas y osteocíticas (Almeida et al., 2013); sin embargo, una falta de producción de estrógenos ejerce un efecto inverso, aumenta la síntesis de osteoclastos y osteoblastos sin equilibrio entre ambos, provocando un desbalance en la formación y resorción ósea (Turner, Lawrence-Riggs, & Spelsberg, 1994).

Uno de los aspectos que interfieren en esta actividad es la acción del receptor de estrógenos α , el cual se ha observado en algunos estudios el efecto que provoca al limitar su acción especialmente en mujeres puesto que suprime el efecto de los estrógenos en los osteoclastos y activa la resorción afectando al hueso trabecular (Martín-Millan et al., 2010).

3.13 Participación de estrógenos en la remodelación ósea.

En las mujeres, los estrógenos tienen una participación en la regulación del metabolismo óseo, su acción protege al hueso, minimiza la pérdida y el recambio mineral (Cui, Shen, & Li, 2013).

En la etapa adulta de las mujeres y los cambios hormonales que conllevan a la menopausia se altera la síntesis de estrógenos y su deficiencia conduce al desarrollo de la osteoporosis. Cuando los niveles de estrógenos son menores

permite el inicio de la resorción ósea, puesto que esta hormona previene la actividad osteoclástica en condiciones normales, sin embargo su deficiencia activa la síntesis de osteoclastos e inhibe la apoptosis de los mismos (Manolagas, 2000).

Como ya se ha mencionado los niveles bajos de estrógenos participan en la resorción del hueso y la síntesis de osteoclastos derivados de la medula ósea, su intervención media la acción de citoquinas pro-inflamatorias como interleucinas IL-1, IL-6, $TNF\alpha$, factor estimulante de colonias de monocitos (M-CSF) y prostaglandinas E_2 (PGE_2), las cuales actúan incrementando el mismo proceso. En otro estudio, se mostró que en *ratas sometidas a ovariectomía*, la deficiencia estrogénica y un adecuado reemplazo hormonal regula el efecto de las citoquinas y aminora su síntesis, por lo tanto, disminuye su efecto de la resorción ósea. Por otra parte, los estrógenos promueven la acción de $TGF-\beta$, el cual detiene la actividad de los osteoclastos y permite su muerte celular (Riggs, 2000).

Un mecanismo en el que interviene la regulación de estrógenos sobre la resorción ósea es el señalado por tres ligandos del factor de necrosis tumoral (TNF) y la familia de receptores de señalización que ejercen una acción directa a la diferenciación y función de los osteoclastos (Sudan, 1999).

Dentro del proceso de diferenciación osteoclástica, es necesario la síntesis de pro monocitos que resultan de las células madre hematopoyética, para la maduración de estas células requieren de una comunicación celular que desencadena reacciones iniciadas por el M-CSF. Al formar los precursores de osteoclastos es necesario su diferenciación mediante la acción ejercida por un ligando del activador del receptor nuclear kappa β ($NF-\kappa B$), o también conocido como ligando de osteoprotegerina necesario para terminar su maduración y activación de la etapa de resorción (Wada, Nakashima, Hiroshi, & Penninger, 2006).

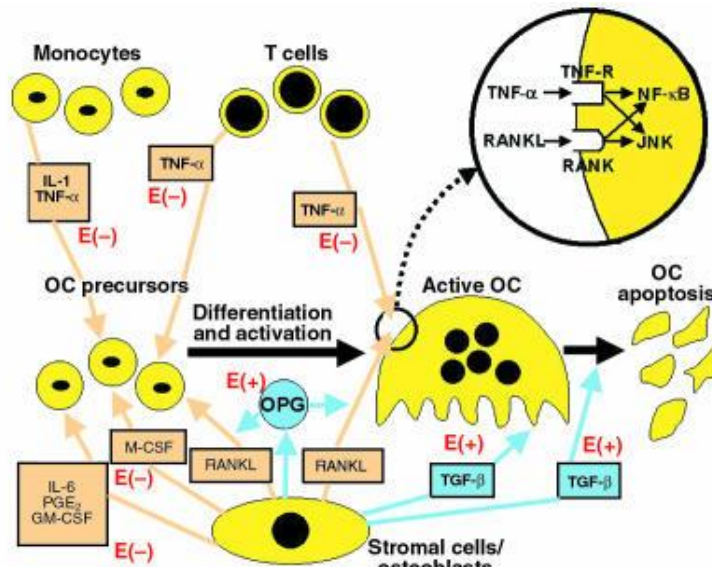


Figura 3. Mecanismos de regulación de estrógenos en la resorción del hueso. Tomado de: Riggs, (2000)

Cuando se da el contacto celular dentro del linaje de células óseas, RANKL se une al receptor RANK y da inicio al proceso de diferenciación de los osteoclastos, los activa e incrementa su actividad, para llevar a cabo el proceso depende de la concentración de M-CSF (Riggs, 2000). En contraparte, la osteoprotegerina (OPG) es segregada para neutralizar la acción de RANKL y por consiguiente la activación de células osteoblásticas que permitan completar el proceso de remodelado (Figura 3).

El papel de los estrógenos es incrementar la osteoprotegerina y disminuir el efecto de RANK así como aminorar las concentraciones de M-CSF para que dicha actividad no se lleve a cabo. Sin embargo, el efecto directo de los estrógenos aún se desconoce en dicha regulación, pero este puede también activar intermediarios para que se cubran estas reacciones. Otro efecto indirecto es señalado en ciertos estudios donde muestran que el suprimir al receptor de estrógenos este induce un efecto directo a las células del linaje osteoclástico, es decir, existe mayor síntesis de osteoclastos que actúan en la resorción ósea en hueso esponjoso (Almeida et al., 2013; Riggs, 2000).

3.14 Vías de señalización de estrógenos

Las vías de señalización de los estrógenos se componen de dos mecanismos diferentes, clasificados como genómicos y no genómicos. El efecto genómico del receptor de estrógenos es llevar a cabo la transcripción de ciertos genes con la unión del estradiol 17- β acción ejercida en el núcleo celular al ser activado el complejo hormona-receptor y unirse al elemento de respuesta a estrógeno (ERE). Posteriormente, el inicio del proceso de transcripción dependerá del sitio y tejido donde iniciará la transcripción, este proceso promueve la síntesis de RNAm puesto que el complejo hormona-receptor se une a proteínas coactivadoras, correguladoras o correpresoras (Björnstrom & Sjöberg, 2005).

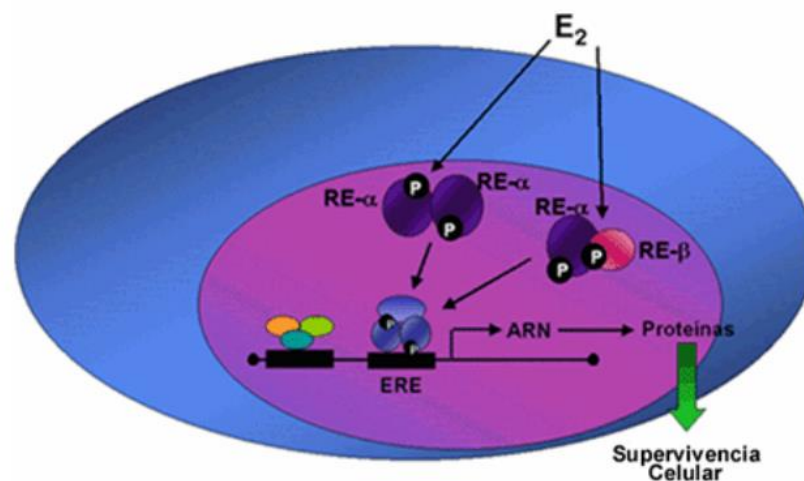


Figura 4. Efectos "Genómicos" del Receptor del Estrógenos. La supervivencia celular inicia con la activación del Receptor de Estrógenos unido al ligando del estrógeno (E₂), por consecuencia se fosforila, se une al complejo de elemento de respuesta (ERE) y se activa la transcripción para llevar a cabo la síntesis de genes que mantienen este proceso. Tomado de Márquez (2010).

En tanto, el efecto no genómico refiere la acción de los estrógenos sin llevar a cabo el proceso de transcripción o síntesis de proteínas, simplemente existe un efecto rápido, el cual es mediado por receptores de membrana para el flujo continuo de los estrógenos, el efecto que producen se dan en el flujo de iones, descarga de vesículas secretoras, activación de proteínas cinasas de

membrana, diferencia de los efectos genómicos, la acción hormonal inicia en vías de señalización de receptor de estrógenos independiente y es llevada a cabo simplemente por la actividad enzimática que desencadena en ciertas células (Cui, Shen, & Li, 2013).

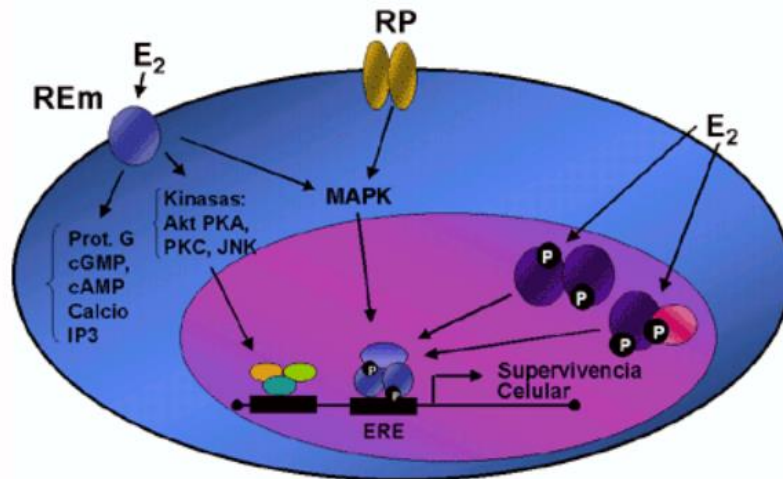


Figura 5. Efectos "no genómicos" del Receptor de Estrógenos. El estrógeno (E2) se une a receptores de membrana (REm) y activa diversas cascadas de señalización que pueden estimular indirectamente los mecanismos genómicos, como la activación de los canales de Ca^{2+} , proteínas G, interacción con receptores de péptidos (RP) y activación de cinasas. Tomado de Márquez (2010).

3.15 Receptor de estrógeno.

El receptor de estrógenos (ESR) “es un factor de transcripción activado por ligandos que están formado por importantes dominios de unión específicos” ubicados a nivel citosólico y nuclear. Son parte de la familia de receptores nucleares y llevan a cabo el proceso de transcripción en respuesta a un ligando y es mediada por una respuesta estrogénica (National Center for Biotechnology Information [NCBI], 1986).

Dos genes distintos codifican al receptor de estrógenos $ER\alpha$ y $ER\beta$ o también conocidos como $ESR1$ y $ESR2$, ambos tienen una participación en la transcripción del DNA, donde los estrógenos juegan un papel importante al originar una respuesta de unión de un ligando a su receptor en una secuencia

determinada del DNA identificadas en genes diana. Este proceso de regulación que activa e inactiva el proceso de transcripción, es originado por la intervención de otros factores de unión como el específico de promotor tipo 1 (Sp1), la proteína activadora 1 (AP-1), factor nuclear kappa B (NFkB) y proteínas de interacción con receptores nucleares (NRIP1), entre otros (Mendoza, Morón, & Santalla, 2008).

Ambas formas de los receptores de estrógenos tienen una participación en la síntesis de células óseas que derivan de células estromales, como osteoblastos y osteoclastos (Gennari et al. 2002). Cada uno con una acción específica, el *ESR2* se expresa en hueso trabecular y *ESR1* en hueso cortical siendo este el más importante en el recambio y conservación de la masa ósea (Börjesson et al., 2011).

3.16 Receptor de estrógeno 1 (*ESR1*)

El gen del receptor de estrógeno alfa o *ESR1* está localizado en el cromosoma 6q25, tiene un tamaño de más de 140 kilobases (Kb) de DNA genómico, formado por una cadena de 565 aminoácidos (Figura 6).

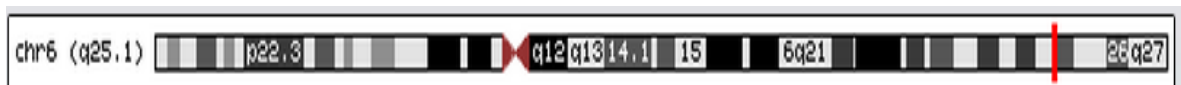


Figura 6. Localización citogenética del gen *ESR1*. Tomado de: Styrkarsdottir et al., (2008)

Esta constituido por 8 exones que están separados por siete regiones de intrones en los que se han localizado múltiples polimorfismos especialmente en las regiones promotoras que permiten la transcripción (Figura 7) (Gennari et al., 2005).

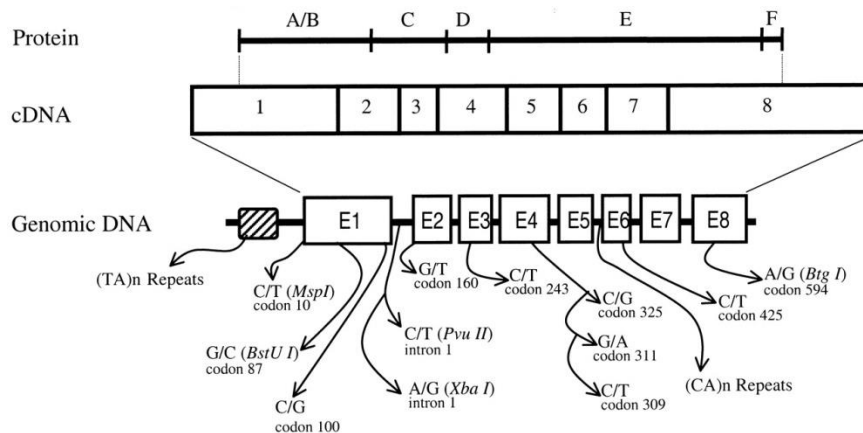


Figura 7. Estructura e identificación de sitios polimórficos del gen receptor de estrógeno 1. Tomado de Gennari et al., (2005).

Este receptor esteroideo se compone por 6 dominios denotados de la A a la F, cada sitio contiene una región específica de acción. La región menos conservada de los receptores nucleares está ubicada en el sitio A/B ubicada en el amino terminal de la proteína. Aquí se lleva a cabo la activación de la transcripción genética (AF-1) y áreas de fosforilación que permiten activar procesos donde el receptor funciona sin la activación de hormonas. El dominio C o región de unión al DNA altamente conservada, este efecto lo confiere la unión de una secuencia específica de DNA mediante “dedos de zinc”. La región de bisagra o “D”, une proteínas en un estado inactivo del receptor. En la región E/F del extremo carbonilo terminal es conocida como dominio de unión de ligando (LBD), aquí el receptor identifica al 17β -estradiol (E_2 -estrogeno) y a ligandos que regulan la acción del ESR (SERms: Moduladores selectivos del ER). Esta región también permite que sea llevada a cabo la activación de la transcripción (AF-2) y adicionalmente suscita cambios estructurales que interaccionan con proteínas coactivadoras y corepresoras y consecuentemente inicia la transcripción, fosforilación y localización celular; de tal manera, que las regiones AF-1 y AF-2 activan los procesos de transcripción (Figura 8) (Kumar et al., 1987; Noriega-Reyes & Langley-McCarron, 2008).

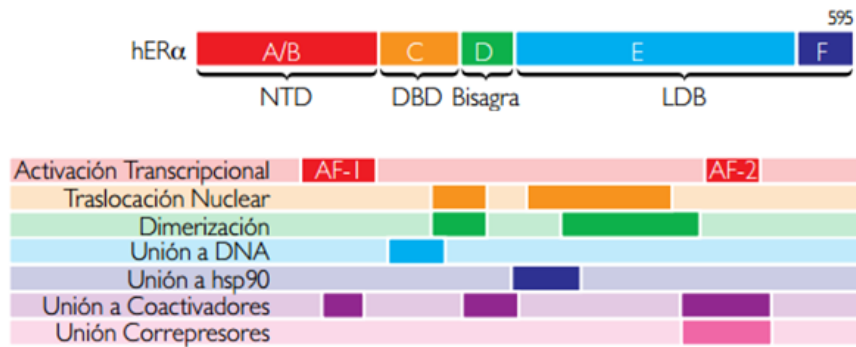


Figura 8. Localización de dominios del gen receptor de estrógeno 1.
Tomado de: Noriega-Reyes & Langley-McCarron (2008).

3.17 *ESR1* y osteoporosis.

El desarrollo de la osteoporosis aumenta en las mujeres postmenopáusicas; la presencia de esta enfermedad se incrementa en mujeres que entran en esta condición debido a la pérdida de la función ovárica y por la edad que es otro factor que afecta su evolución. Estudios realizados en roedores con ovariectomías muestran un fenotipo osteopórotico, puesto que los niveles de estrógenos están por debajo de los valores normales y se relacionan con mayor pérdida en la masa ósea (Imai, Kondoh, Kouzmenko, & Kato, 2010).

Los estrógenos mantienen la regulación del metabolismo óseo; algunos estudios demuestran la osteoprotección de los estrógenos al minimizar el recambio óseo y evitar la pérdida de mineralización de los huesos tanto en estudios de roedores como en humanos (Cui, Shen, & Li, 2013).

Es importante señalar que los receptores estrogénicos tienen un papel importante en la protección ósea, sin embargo, el mecanismo molecular aún es poco conocido. El receptor de estrógenos alfa o *ESR1* encontrado en estudios genéticos y clínicos muestra cierta actividad osteoprotectora; se ha propuesto que el *ESR1* expresado en osteoclastos inhibe la resorción ósea porque acorta el tiempo de vida de las células osteoclasticas en experimentos con roedores,

aunado a la protección de los estrógenos que promueven la formación del hueso, además promueve la formación ósea y la síntesis de osteoblastos (Imai, Kondoh, Kouzmenko, & Kato, 2010).

Por otro lado, otras investigaciones han mostrado un efecto contrario en las células y tejidos específicos de los receptores de estrógenos; Maatta JA et al., (2012), utilizó modelos de ratón en los que inactivó sitios específicos de *ESR1* en células osteoblásticas y encontró una pérdida significativa y menor formación ósea en los roedores femeninos.

El *ESR1* puede modular la transcripción genética a través de la vía clásica y no clásica, por lo que estudios ha utilizado el bloqueo genético del *ESR1* donde han encontrado que su acción provee protección ósea ya que el *ESR1* es regulado a través de la vía de señalización ligando-dependiente donde se une a un elemento de respuesta del estrógeno (ERE) y genera una actividad específica, la señalización del receptor en el recambio óseo (Chokalingam , 2012).

Los receptores de estrógenos pueden ser también activados por vías de señalización de ligando independiente, algunos estudios muestran que roedores con ovariectomía y sobreexpresión de ERE no cambia el mecanismo de regulación en la actividad osteogénica, la participación de *ESR1* y ERE regulan positivamente el mecanismo molecular del hueso (Chokalingam , 2012). Por otro lado, en otra investigación señalan que al utilizar roedores knockout para el gen *ESR1* y la inactivación de transcripcional del sitio AF1 se origina una respuesta reducida a la actividad osteogénica, por lo que estos factores (*ESR1*-AF1) al interaccionar mantienen y promueven la formación ósea (Windahl, 2013).

Tanto los estrógenos como su receptor (*ESR1*) ejercen acciones que evitan la pérdida y promueven el remodelado óseo, siendo el receptor de estrógenos

un modulador que actúa como potencial protector contra la desmineralización del hueso (Cui, Shen, & Li, 2013).

3.18 Gen del cromosoma 6 marco abierto de lectura 97 (*C6orf97*).

El gen del cromosoma 6 marco abierto de lectura 97 (*C6orf97*) se ubica río arriba del gen *ESR1*; ha sido determinado su asociación con la DMO mediante varios estudios de asociación del genoma humano (GWAS), sin embargo, la función biológica del gen y su proteína codificada es desconocida hasta la actualidad; numerosos estudios han encontrado algunos polimorfismos de este gen asociado a diversas enfermedades como cáncer de seno, leucemia, aterosclerosis, migraña, infarto al miocardio (Weizmann Institute of Science, 2014) .



Figura 9. Localización citogenética del gen *C6orf97*. Tomado de: (Genome Bioinformatics Group of UC Santa Cruz, 2009)

Múltiples estudios genéticos han reportado que el gen *C6orf97* está asociado con osteoporosis y se ha sugerido que sus variantes alélicas que aumentan la susceptibilidad al desarrollo de esta patología. En un estudio de asociación del genoma humano se identificó múltiples SNPs localizados en los genes *ESR1* y *C6orf97* fuertemente asociados con DMO en 5861 sujetos de Islandia, donde el rs4870044 y el rs1038304 se identificaron como SNPs del *C6orf97* asociados a DMO. Algunos de estos polimorfismos también fueron asociados con DMO en cohortes de Dinamarca, Australia, Europa y EUA. Styrkarsdottir et al. (2008) menciona que probablemente este gen afecta la regulación de la transcripción genética y, aunque su función es hasta la fecha desconocida se ha postulado como un gen candidato de la osteoporosis.

En otro estudio que evalúa la población masculina europea, se determinó la asociación de algunos SNPs del gen *ESR1* y de *C6orf97* en el que incluyeron 2468 hombres entre 40 y más de 70 años, los resultados muestran una asociación significativa notable del rs1999805 en diferentes regiones evaluadas con distintas técnicas de medición para cadera y espina lumbar. Estos datos identifican variantes genéticas que tiene relación con osteoporosis en población masculina, además de complementar datos que proporcionan información para nuevos estudios que pueden ser llevado a cabo en otras poblaciones (Holliday et al., 2011).

Luo et al. (2014) analizaron la relación de cuatro SNPs de los genes *ESR1* y *C6orf97* con DMO y fracturas vertebrales en una cohorte de mujeres postmenopáusicas de China. Se encontraron asociaciones significativas en los rs1999805, rs6929137 con riesgo de fractura, así como una asociación con DMO en cadera total con el rs4870044 bajo el modelo dominante. Por lo que estas variantes alélicas son locis genéticos susceptibles a osteoporosis y fractura en esta población.

La relación del gen *C6orf97* en los distintos estudios de asociación exhortan a llevar a cabo estudios que permitan determinar los mecanismos de acción responsables de las asociaciones de riesgo o protección para los locis que se han identificado y de esta manera comprender el papel que juega en la osteoporosis para que permita el desarrollo de pautas de intervención y prevención sobre esta patología.

3.19 Polimorfismos del Receptor de estrógeno 1 (*ESR1*) y del gen del cromosoma 6 marco abierto de lectura 97 (*C6orf97*) asociados a la densidad mineral ósea.

De estos genes se han reportado múltiples sitios polimórficos y se han asociado con densidad mineral ósea, se posicionan como marcadores candidatos a la osteoporosis y tienen una influencia directa por características como la edad, estado de menopausia y etnia, entre otros (Gómez et al., 2007).

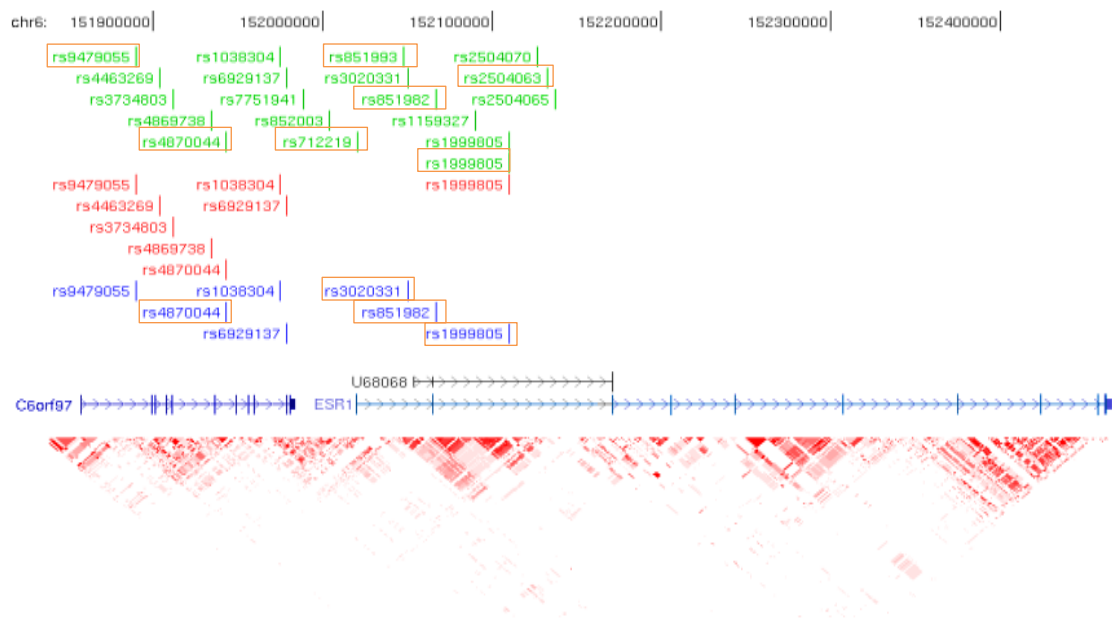


Figura 10. Localización de sitios polimórficos de los genes *ESR1* y *C6orf97*. Tomado de: Genome Bioinformatics Group of UC Santa Cruz (2009).

Entre los polimorfismos de un solo nucleótido más estudiados de este gen están *T397C*, *C351G* y otro de número variable de repetidos *TA_n*, utilizando enzimas de restricción que permiten la diferenciación de polimorfismos como *PvuII* y *XbaI*, se ha encontrado que las variantes alélicas de estos SNP's que se asocian con densidad mineral ósea en cuello femoral en la población japonesa de mujeres postmenopáusicas (Yamada, Ando, Niino, Ohta, & Shimokata, 2002).

En un estudio de 1873 sujetos de familiares nucleares, se analizaron siete SNP's del gen *ESR1* relacionados a DMO en cuello femoral y columna en la región lumbar, encontrando una asociación significativa con las variantes rs932477 y 2228480 en cuello femoral y al considerar el análisis de haplotipos se observó asociación con DMO en columna en 7 de los marcadores estudiados (Zhao, Liu, Long, Lu, Xu, & Zhang, 2004).

Van Meurs et al., (2003) propuso que los polimorfismos del gen *ER α* (*ESR1*) modifican la expresión del RNAm y por consecuencia la respuesta que tiene a su ligando de estrógeno, por lo que la acción de este proceso conlleva a modificar el metabolismo óseo, disminuir la calidad de hueso y aumentar el riesgo de fractura, en su estudio planteó evaluar a hombres y mujeres de edad avanzada y la influencia de los SNPs en la DMO y riesgo de fractura. Encontró que los polimorfismos estudiados *PvuII* y *XbaI* no tienen asociación significativa con DMO, en cambio las mujeres presentan diferencias significativas en la DMO de columna vertebral en la región lumbar para aquellas que presenta variantes homocigotas siendo ésta un 28% menor la DMO comparada con la población heterocigota. Además, la influencia de estos marcadores genéticos aumenta el riesgo de fractura en columna independiente de la DMO, donde las mujeres postmenopáusicas son susceptibles a esta condición y no los hombres (Van Meurs et al., 2003).

El receptor de estrógenos alfa es un gen implicado en el desarrollo de la osteoporosis, por lo que un grupo de investigadores, estudió la influencia de ciertos marcadores polimórficos (rs1800795, rs1800796, rs2228480, rs2238236, así como el SNP G2014A, TA marcador dinúcleotido y marcadores del tipo microsátelite) en una población mexicana de 500 mujeres con y sin osteoporosis. Se encontró que el SNP G2014A está asociado significativamente en esta población donde la presencia de las variantes genotípicas GG eran más significativas en la población con osteoporosis comparada con la de no osteoporosis, y presentando menor DMO en columna vertebral región lumbar,

por lo que este marcador se considera de riesgo y susceptible a una baja DMO para las mujeres con osteoporosis (Gómez et al., 2007).

En un meta-análisis reciente que parte de estudios de asociación del genoma (GWAS) se han encontrado múltiples variantes genóticas asociadas a la densidad mineral ósea (Koller et al., 2013); otros estudios han analizado poblaciones de mujeres postmenopáusicas y en otros, tanto hombres como mujeres, en esta investigación la población objetivo son mujeres en etapa de pre menopausia y su relación con marcadores genéticos que tiene influencia en la remodelación ósea. Se consideraron 4061 mujeres blancas premenopáusicas, se analizó la DMO de columna en la región lumbar y cuello femoral. Se analizaron 23 SNP's en dos regiones que señalan asociación con DMO en cuello femoral y espina lumbar, son *WNT16* y *ESR1/C6orf97*. Se encontró una asociación de fuerte significancia en espina lumbar y cuello femoral para el SNP rs3801387 del gen *WNT16* y rs4870044 del gen *ESR1*, estos resultados se han corroborado con otras poblaciones de Europa, hispanoamérica y afroamericanos incluso con ajustes estadísticos. En conclusión, este meta-análisis confirma la participación de los polimorfismos de estos genes en las variaciones de la DMO, no sólo en mujeres postmenopáusicas y en diferentes rangos de edad o ambos sexos, sino también en el periodo de postmenopausia.

Rojano-Mejía et al, (2014), llevaron a cabo un estudio reciente en la población mexicana, para analizar polimorfismos que tengan una posible asociación con DMO en mujeres mexicanas en etapa de postmenopausia. Se estudiaron 742 mujeres, se evaluó DMO en cadera total y espina lumbar, se determinaron los polimorfismos rs11568820 del gen *VDR* y rs2234693, rs9340799 del gen *ESR1*; sin embargo sólo el polimorfismo rs9340799 y sus haplotipos del gen *ESR1* resultaron significativamente asociados a una baja DMO en cuello femoral y se mantuvo la asociación después de realizar ajustes estadísticos (Rojano-Mejía et al., 2014).

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La desmineralización del hueso se presenta como resultado del envejecimiento normal y la intervención de factores metabólicos que debilitan el tejido óseo y por consecuencia conduce al desarrollo de enfermedades, como la osteoporosis (Van Schoor, 2011).

Actualmente 200 millones de personas son afectadas alrededor del planeta por esta patología (IOF, 2011). En México, la prevalencia de la osteoporosis es cada vez mayor, con una tendencia al aumento debido a la esperanza de vida (75 años) que afecta hasta un 30% de las mujeres y un 12% a los hombres; además, la presencia de fracturas vertebrales se han convertido en indicadores riesgo de fracturas por osteoporosis a nivel vertebral y de otros sitios anatómicos (Clark et al., 2008). Se estima que 1 de cada 12 mujeres y 1 de cada 20 hombres mexicanos presenten alguna fractura después de los 50 años, convirtiéndose en un problema importante de salud pública relacionado al incremento de la morbilidad de la población (Clark, Tamayo, Cisneros, Rivera, & Valdés, 2013).

Para la población femenina, una baja densidad mineral ósea es consecuencia de la menopausia que conlleva a un aumento en la resorción del hueso y como consecuencia grave, la osteoporosis. Esta desmineralización se incrementa rápidamente en la etapa postmenopausia temprana y disminuye unos años más tarde (Massé, Dosy, Jougleux, Caissie, & Howell, 2005). En estos periodos, el recambio óseo se ve alterado por el metabolismo estrogénico que causa un mayor deterioro de la densidad del hueso incrementando el riesgo a fracturas por osteoporosis (Hak et al, 2000; Van Meurs et al., 2004).

La presencia de OP deriva de distintos factores de riesgo como la actividad física, la dieta, el envejecimiento normal, alimentación inadecuada, estado nutricional deficiente, cambios hormonales (estrógenos) que disminuyen la densidad mineral ósea y aceleran la pérdida de la misma. Dada la función de su metabolismo según el género y la edad, las mujeres en etapa de

postmenopáusicas son más propensas a sufrir osteoporosis y fracturas (Kanis, 2002). Actualmente en la literatura se muestra la relación de los factores genéticos con la DMO como predictores de osteoporosis. Los genes *ESR1* y *C6orf97* se han identificado como candidatos a baja densidad mineral ósea y estudios recientes refieren que algunos polimorfismos de estos genes pueden estar asociados a una pérdida de masa ósea.

Se han realizado estudios de asociación con distintas variantes alélicas (rs2504063, rs1999805, rs4870044 y rs851982) de los genes *ESR1* y *C6orf97* en poblaciones como Islandia, Australia y Dinamarca (Styrkarsdottir et al., 2008). En tanto, otros polimorfismos (rs9340799, rs2228480, rs1999805) han sido investigados en la población mexicana, china y turca mostrando resultados de asociación con distintas variantes genotípicas (Gómez et al., 2007; Luo et al., 2014; Rojano-Mejía et al., 2014). No obstante, los resultados han sido inconsistentes en las distintas investigaciones puesto que la asociación genética difiere respecto a las regiones anatómicas que evalúan la DMO de cada grupo de estudio.

5. JUSTIFICACIÓN

La osteoporosis es una enfermedad cuya prevalencia en México es de un 9% para la población masculina y un 17% para la población femenina, siendo su mayor incidencia en personas a partir de la quinta década de la vida, afectan principalmente a mujeres en el periodo de menopausia (Clark et al., 2010), lo que contribuye al aumento del riesgo de fracturas por esta enfermedad; en el mundo, las fracturas por una baja densidad mineral ósea se presentan en una de cada dos mujeres y uno de cada 6 hombres (IOF, 2011) .

La mayor afección de la osteoporosis recae en las fracturas, de acuerdo a Clark et al. (2008) el tratamiento para dicha afección tuvo un costo aproximado de 97 millones de dólares en el año 2006; actualmente la creciente esperanza de vida y las cifras de aumento de la enfermedad lo posicionan como un gasto mayor para el sector salud en el país.

Los factores genéticos y ambientales tienen una participación esencial en la etiología de la osteoporosis en relación a los genes *ESR1* y *C6orf97* los cuales son elemento que predispone a esta condición y se han postulado como candidatos a la disminución de la DMO.

La relación de la densidad mineral ósea con el gen *ESR1* ha sido ampliamente estudiada, sin embargo los resultados de las variantes polimórficas no son consistentes en las diferentes poblaciones, un estudio reciente en México evaluó la relación de la DMO con el gen *ESR1* encontrando una significativa asociación con un sólo SNP rs9340799 en cuello femoral, sin embargo esta asociación no ha sido del todo confirmada en otros estudios y con otros SNPs, posiblemente los factores ambientales, la edad y el género tiene una influencia directa con la baja DMO (Rojano-Mejía et al., 2014).

Por lo anterior, en el presente estudio se evaluó la asociación de los polimorfismos rs1999805, rs3020404, rs2504063, rs2228480 del gen *ESR1* y rs9479055, rs4870044, rs851982, rs3020331, rs7753676, rs712219, rs851993 del gen *C6orf97* en población femenina del norte de México con la densidad mineral ósea lo que permite contribuir acerca de los marcadores genéticos involucrados en la patogénesis de la osteoporosis. Se dispuso de las instalaciones del Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública, además de contar con la colaboración del departamento de Genómica de las Enfermedades Cardiovasculares y Óseas en el Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) para el desarrollo del presente estudio.

6. HIPÓTESIS

Existe asociación entre las variantes alélicas de los genes *ESR1* y *C6orf97* y la densidad mineral ósea en mujeres mexicanas de 40 a 80 años.

7. OBJETIVOS

7.1 Objetivo general

- Analizar la asociación de variantes alélicas de los genes *ESR1* y *C6orf97* con la densidad mineral ósea en mujeres de 40 a 80 años del norte del país.

7.2 Objetivos específicos

- Determinar la densidad mineral ósea en cuerpo total, cadera total (triángulo de Wards, trocánter, cuello femoral), columna lumbar anteroposterior L1-L4 y L2-L4, mediante absorciometría dual de rayos X (DEXA) en mujeres de 40 a 80 años.
- Identificar la frecuencia alélica y genotípica de los polimorfismos rs9479055, rs7753676, rs587004, rs712219, rs851993, rs3020331, rs851982, rs1999805, rs2504063, rs3020404, rs2228480 de los genes *ESR1* y *C6orf97* en mujeres de 40 a 80 años.
- Evaluar la asociación entre los polimorfismos de los genes *ESR1* y *C6orf97* y la DMO en mujeres de 40 a 80 años.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1 Materiales

Las diferentes marcas comerciales de los reactivos utilizados en este estudio se describen en la tabla IV.

Tabla XXVII. Reactivos utilizados

Reactivos	Marca comercial
Tris, NaCl, SDS, EDTA	Bio-Rad
TaqMan Universal Master Mix, 40X assay	Applied Biosystems
Fenol, Tritón 100X	Research Organics
Cloroformo, NaOH, Acido acético glacial	CTR Scientific
Etanol	Bio Basic Inc
Agua destilada libre de DNAasa	Growcell

8.2 Métodos

8.2.1 Diseño del estudio.

Este estudio comprendió el periodo del julio 2013 a julio 2014, siendo su diseño transversal-observacional y correlacional, con un total de 124 mujeres adultas de 40 a 80 años de edad que fueron seleccionadas de una base de datos de un estudio previo realizado por la **Lic. Nut Ninfa Esthela Escalante García y la Lic. Nut. Magaly Gómez de la Garza** llevado a cabo en el Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública, las mujeres reclutadas son originarias de la ciudad de Monterrey y su área metropolitana de Nuevo León, México.

El muestreo fue no probabilístico (determinístico), por factibilidad. Las participantes acudieron de manera voluntaria, cumpliendo con los criterios de inclusión, siendo aparentemente saludables y descartando aquellas personas que incluían aspectos de los criterios de exclusión como enfermedades que afectan al metabolismo óseo, diabetes mellitus 1, enfermedades tiroideas,

fibrosis quística, menopausia precoz (previo a los 45 años), consumo de fármacos, complementos y suplementos que alteren el metabolismo óseo.

Se dispuso de las instalaciones del Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública, en el Laboratorio de Genética y Biología Molecular, Laboratorio de Proteómica y Laboratorio de Composición Corporal de la Facultad de Nutrición y Salud Pública de la Universidad Autónoma de Nuevo León, además de contar con la colaboración del Laboratorio de Genómica de las Enfermedades Cardiovasculares y Óseas en el Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) para el desarrollo del presente estudio.

Con la finalidad de continuar con la línea de investigación se usó la base de datos y banco de DNA de los estudios previamente mencionados para obtener información de las variables de estudio. Este proyecto fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación la Facultad de Salud Pública y Nutrición de la UANL, cumpliéndose con los aspectos éticos correspondientes como la firma del consentimiento informado para la participación de las mujeres en el estudio previo y en el presente. Además se consideró lo dispuesto en el reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud (Secretaría de Salud, 1983).

8.2.2 Estrategia General

Para el diseño y alcance de los objetivos se utilizaron datos recopilados de mujeres de 40 a 80 años de edad del estudio Escalante-García (2013) y Gómez-de-la-Garza (2013), esta información esta recopilada en expedientes y base de datos del laboratorio de Genética y Biología Molecular y Laboratorio de Composición Corporal.

Los datos obtenidos fueron mediciones antropométricas como talla y peso, densitometrías óseas de diferentes regiones, además de muestras del banco de DNA. Para fin de extender el número de sujetos y complementar la información

de los datos se realizó una invitación abierta a mujeres de monterrey área metropolitana (ANEXO 1), se tomó en cuenta la metodología que se realizó en el estudio de Escalante-García (2013). El procedimiento de trabajo se llevó a cabo con la programación de citas a los pacientes seleccionados que cumplían con los criterios inclusión. El día de la entrevista se le informó al sujeto de estudio en qué consistía el protocolo experimental, se procedió a tomar datos de identificación del sujeto y mediciones antropométricas de peso actual y talla actual y se extrajo una muestra de sangre periférica para la extracción de DNA y la identificación de las variantes alélicas de los genes *ESR1* y *C6orf97* utilizando la técnica de PCR en tiempo real.

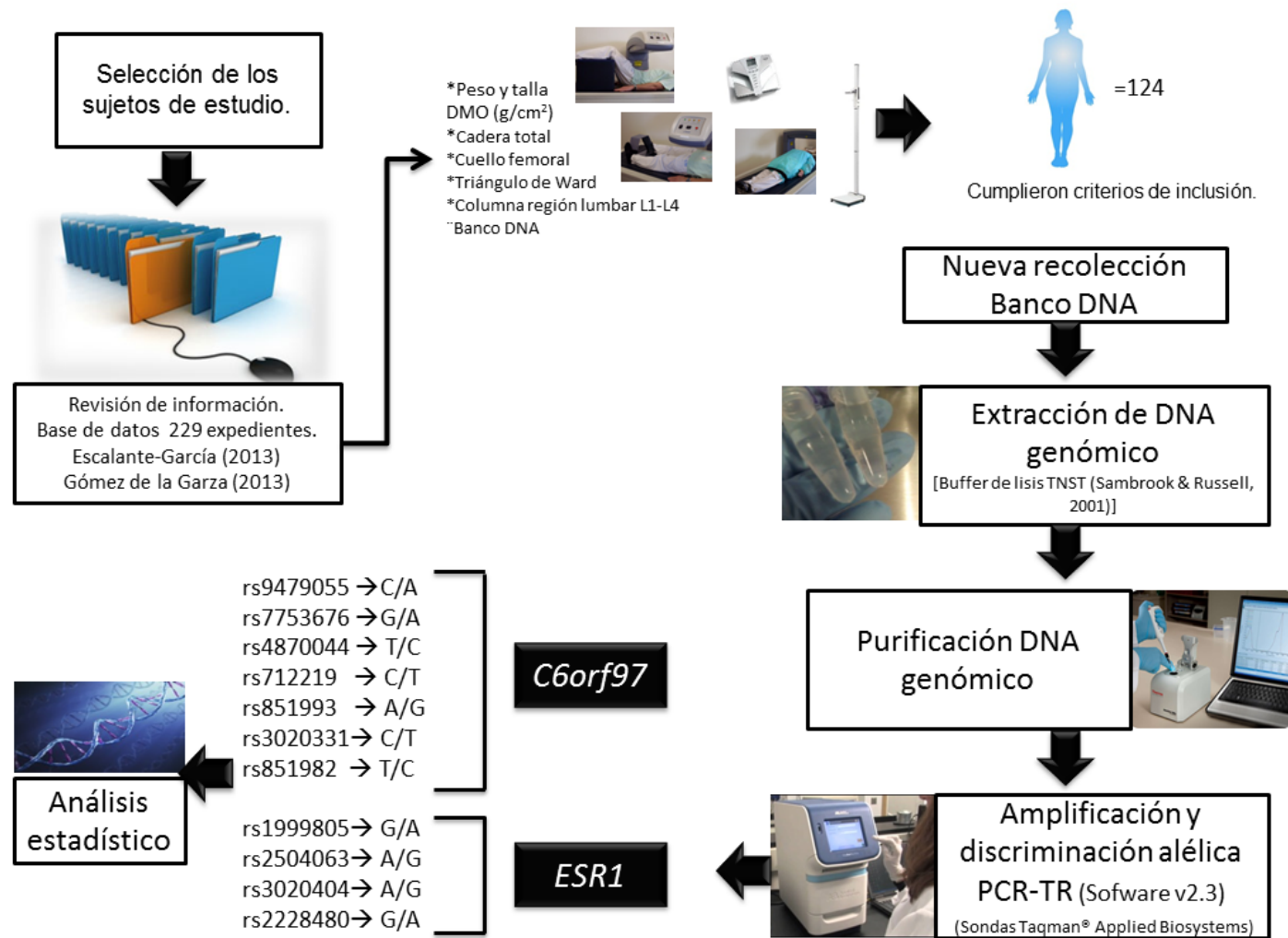


Figura 11. Estrategia general del estudio de investigación.

8.2.3 Obtención de la información.

Se revisaron los expedientes del estudio realizado por Escalante-García (2013) y Gómez de la Garza (2013) y fueron 129 mujeres que cumplieron con los datos de las mediciones antropométricas y de densidad mineral ósea en cuerpo total, cadera total, cuello femoral, triangulo de Ward, trocánter y columna anteroposterior.

Basados en el estudio de Escalante-García (2013) y Gómez de la Garza (2013) se siguió la metodología descrita a continuación.

8.2.4 Mediciones antropométricas

Los valores de la densidad mineral ósea se obtuvieron de las participantes. Las mediciones antropométricas se llevaron a cabo por triplicado y fueron realizadas por personal del Laboratorio de Composición Corporal capacitado y calificado para dicho protocolo.

La talla se determinó utilizando un estadímetro de la marca SECA siguiendo el método estándar (Norton, Whittingham, Carter, Kerr, Gore, & Marfell-Jones, 1996). La técnica requirió el equipamiento adecuado, el estadímetro estuvo ubicado en una superficie firme y plana, perpendicular al piso. Para realizar la medición el sujeto descalzó sus pies, llevó ropa ligera que permitió observar la medición correcta y con el cabello suelto y sin accesorios para evitar falsas mediciones. Se colocó al sujeto en la parte central del estadímetro en una posición recta; el sujeto permaneció con los pies juntos, los talones y espalda apoyados en el estadímetro. Mantuvo la cabeza en una posición firme y con la vista al frente en el plano de Frankfurt (se posicionó la cabeza de manera que el borde inferior de la órbita ocular mantuviera una posición horizontal a la parte más alta del conducto auditivo externo). Los brazos colgaron libre y naturalmente a los costados del cuerpo, posteriormente se tomó la escuadra, se hizo descender para alcanzar el vértex (punto superior de la cabeza en el plano

medio-sagital), se tomó el registro de la talla vigilando en todo momento que la posición sea la indicada.

En cuanto al peso, el instrumento utilizado fue la Tanita® BC554; la báscula se ubicó en una superficie firme, plana y horizontal. El sujeto portó ropa ligera y se ubicó en el centro de la plataforma, adoptó una posición derecha, los talones juntos y puntas separadas, los brazos colgaron libre y naturalmente a los costados del cuerpo sin ejercer presión. Fijó la vista en un punto y evitó movimiento alguno. Se registró el peso que la báscula indicó.

Después de realizadas las mediciones se llevó a cabo el cálculo del Índice de Masa Corporal (IMC) el cual muestra para la población adulta el estado nutricional, la definición de acuerdo a la OMS sugiere “el peso en kilogramos dividido por el cuadrado de la altura de la persona en metros (kg/m^2)”. Uno de los objetivos que tiene la medición del IMC es la prevención de enfermedades ya que marca el posible riesgo a su desarrollo sobre todo de aquellas que se derivan del exceso de peso como las enfermedades cardiovasculares, hipertensión arterial sistémica, diabetes, entre otras (OMS, 2013).

8.2.5 Determinación de la densitometría ósea.

Para la medición de la densidad mineral ósea se utilizó el equipo de absorciometría de energía dual de rayos X, modelo: Lunar PRODIGY Advance, modelo 301264, G.E., que permitió realizar las mediciones de cuerpo total, cadera total, triángulo de Ward, trocánter, cuello femoral, columna lumbar anteroposterior L1-L4, L2-L4 de acuerdo a las instrucciones del fabricante y las condiciones de la sociedad internacional de densitometría clínica (Leib, Lewieck, Binkley, & Hamdy, 2004).

La absorciometría con rayos X de doble energía, también denominada densitometría, o, en inglés, *dual X-ray absorptiometry* (DXA) o *dual energy X-ray absorptiometry* (DEXA), puede discriminar diferentes estructuras del

organismo. Esta técnica permite cuantificar la densidad mineral ósea (DMO). A partir de esos datos, se puede estimar el riesgo de fractura, tomar decisiones terapéuticas, y evaluar la respuesta al tratamiento (Lorete-Ramos, 2012).

-Preparación del paciente: Al momento del estudio se despojó de las cosas metálicas que traía (collares, pulseras, anillos, aretes, etc.) se cuestionó si el paciente tenía alguna prótesis en su cuerpo, utilizó ropa ligera y ajustada que permitió una medición más certera, además de un ayuno mínimo de 3 horas previas al estudio.

-Colocación del paciente: antes de iniciar el escaneo en el software fue importante disponer de peso y talla del sujeto para posteriormente ingresar los datos e iniciar la metodología. A continuación se indicó al paciente la posición en la que debe permanecer al transcurso de la evaluación, una posición incorrecta origina una estimación errónea de la DMO, el equipo la detectaba y se hacía nuevamente la medición.

Antes de iniciar el escaneo corporal se llenaron los datos iniciales del paciente en el software como nombre, peso y talla del sujeto, la medición inició con cuerpo completo, donde el sujeto se recostó boca arriba sobre la mesa del equipo de absorciometría dual de rayos X, adoptó una posición anatómica de cúbito supino, extremidades superiores extendidas a lo largo del cuerpo, las piernas extendidas con los pies en posición vertical, la punta de los dedos hacia arriba, las piernas y tobillos se sujetaron con cintas ajustables y se inició el escaneo, evitando movimiento alguno y ojos cerrados durante la medición.

Posteriormente para la medición de cadera total, triangulo de Wards y trocánter, el sujeto adoptó una posición corporal similar a la anterior, acostado boca arriba, los brazos extendidos y pegados a lo largo del cuerpo con las palmas de las manos hacia abajo, las piernas permanecieron ligeramente separadas para mantener recto el eje femoral, los pies adoptaron una

inclinación interna (15 a 30°) con ayuda de un aditamento del equipo. El escáner se colocó a 3 cm de la sínfisis púbica, a la mitad de la pierna, se tomó la medición del fémur izquierdo y derecho de la misma manera.

Finalmente se realizó la medición de la columna vertebral anteroposterior de L1 a L4 y L2 a L4, el sujeto adoptó una posición corporal de cúbito supino, los brazos extendidos y pegados a lo largo del cuerpo con las palmas de las manos hacia abajo, las rodillas aseguraron una posición de flexión sobre un soporte que permitió que la zona lumbar esté cerca de la mesa de exploración.

La densitometría para columna y cadera total se llevó a cabo en 8 minutos y para cuerpo entero 10 minutos (Lorete-Ramos et al., 2012).

8.2.6 Determinaciones genéticas

8.2.6.1 Obtención y recolección de las muestras de sangre.

Las muestras de DNA fueron tomadas del banco de DNA del laboratorio de Genética y Biología Molecular; sin embargo, cuando las participantes contaban con datos completos y cumplían con los criterios de inclusión pero no se contaba con el DNA o dichas muestras eran insuficientes o de mala calidad, se procedió a llamarlas para que proporcionaran una muestra de sangre periférica en tubos con anticoagulante EDTA para llevar a cabo la extracción de DNA genómico mediante la metodología descrita a continuación.

El protocolo de extracción de sangre para las mujeres participantes se llevó a cabo por personal capacitado del CINSIP este procedimiento permitió la extracción de DNA genómico y determinaciones genéticas. Se pidió un ayuno previo de 10 horas y se informó al sujeto de estudio las condiciones éticas explicando en qué consistía la investigación y el objetivo principal, se procedió a la firma del consentimiento informado (ANEXO 2).

8.2.6.2 Extracción de DNA genómico a partir de muestras de sangre con el método de buffer de lisis TSNT

La extracción de DNA se llevó a cabo a partir de la extracción de 5 ml de sangre periférica de las mujeres participantes del estudio mediante una punción venosa, se usaron tubos BD Vacutainer® con anticoagulante EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) para la recolección de la sangre.

Para la extracción de DNA se utilizó el método de buffer de lisis TNST (Sambrook & Russell, 2001) modificado en el primer paso de la metodología descrita a continuación: El tubo vacutainer con EDTA que contiene la muestra de sangre, se centrifugó a 3200 rpm con 18°C por 15 minutos en una centrífuga (Marca Eppendorf, modelo 5804R). Posteriormente la muestra de sangre se separó en 3 capas, plasma, buffy coat (plaquetas y leucocitos) y eritrocitos, a continuación por duplicado se transfirieron 300 µl del botón plaquetario y leucocitario a un tubo eppendorf de 1.5 ml previamente etiquetado y se agregaron 350 µl de buffer de lisis TNST (Tritón X-100, SDS 1%, 100 mM NaCl, 1mM EDTA, 10 mM Tris-HCl a pH 8) en cada tubo y se agitaron en vórtex (marca: Genie 2, modelo G650 Daigger) durante 1 minuto, se añadieron 250 µl de fenol, 150 µl de cloroformo, 200 µl de buffer TE 1X, fueron mezclados por inversión y agitados con el vórtex durante 1 min, se trasladó a una microcentrífuga (marca Eppendorf, modelo 5415D) y se centrifugó durante 11 min a 13,200 rpm; el sobrenadante se transfirió a otro tubo eppendorf y se centrifugó por 6 min a 13,200 rpm; posteriormente se transfirió el sobrenadante a otro tubo y se agregó 1 ml de etanol absoluto y fue llevado a incubación a -20°C durante 30 minutos. Se centrifugó por 11 minutos a 13,200 rpm, se decantó para eliminar el sobrenadante con la precaución de no eliminar el botón blanco que se encuentra en el fondo del tubo, se agregaron 500 µl de etanol al 70% para lavar el DNA, se centrifugó por 6 min a 13,200 rpm, se eliminó el sobrenadante de etanol y se dejó secar los tubos a temperatura ambiente y se colocaron abiertos e invertidos sobre papel secante 15 min.

El DNA recuperado se resuspendió en 100 μ l de agua ultra pura y fue almacenado en las condiciones adecuadas para su uso posterior (-20°C), éste se cuantificó por espectrofotometría con NanoDrop 2000 de Thermo Scientific y se llevaron a cabo las determinaciones genéticas.

8.2.6.3 Cuantificación de DNA

La calidad del DNA se puede evaluar midiendo su absorbancia de luz ultravioleta en un medio acuoso. La muestra de DNA no debe contener contaminantes como proteínas o restos de fenol o cloroformo que eviten la correcta medición de los ácidos nucleicos (Puerta-B. & Urueña-P., 2005).

La concentración de purinas y pirimidinas se mide a una absorbancia de 260 nm, mientras que las proteínas absorben 280 nm, por lo que para evaluar la pureza del DNA se emplea un cociente de absorbancia de A_{260}/A_{280} ; el resultado de esta relación se utiliza para determinar la pureza del DNA y debe estar entre 1,8 a 2. Si se encontraran contaminantes como fenoles y cloroformo en la muestra del DNA la relación sería mayor de 2. Si se encuentran contaminantes de proteínas la relación debe ser menor a 1.8 (Fonseca-Mendoza, Mateus-Arbelaez, & Contreras-Bravo, 2010). Este procedimiento y el método de extracción de DNA se realizaron con los elementos de protección adecuados, bata, guantes y cubre bocas.

Para la dilución y cuantificación del DNA en agua libre de endonucleasas se debió obtener un volumen final de 1 μ l con 5 ng de DNA, por lo cual se tomó 1 μ l de la muestra de DNA para ser cuantificado con NanoDrop 2000® de Thermo Scientific, se revisaron las lecturas de la absorbancia que permitieron la preparación de las diluciones que son necesarias para llevar a cabo las determinaciones genéticas; el cálculo utilizó la siguiente formula $C_1V_1=C_2V_2$ para determinar cantidad para la preparación de la dilución que mantuvo la

adecuada cantidad y calidad del DNA. Se recuantificó para verificar si cada dilución contenía la cantidad de DNA esperado.

8.2.6.4 Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (PCR-TR).

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR por las siglas en inglés de polymerase chain reaction) a tiempo real es una técnica que permite detectar y cuantificar DNA genómico con secuencias específicas de ácidos nucleicos de interés, los cuales se identifican con la utilización de fluorescencia o sondas en la reacción. El proceso es llevado a cabo en un solo paso y detectado por el equipo de PCR, que mide la cinética de la reacción de dicha amplificación (Costa, 2004).

Existen diversos sistemas de detección de fluorescencia en la PCR en tiempo real, uno de ellos son las sondas Taqman o de hibridación específica, las cuales constan de dos fluorocromos que emiten por resonancia energía fluorescente entre ellos. Las sondas Taqman son cebadores que tienen en su extremo 5´ un reportero (donador de fluorescencia) y en el 3´ un quencher (aceptor de fluorescencia), si las moléculas permanecen juntas la energía no se identificará puesto que se absorbe la fluorescencia emitida entre donante y aceptor; al comenzar la amplificación de la secuencia de interés, el proceso y la acción de la Taq polimerasa provocará que el fluorocromo que emite la fluorescencia se libere, no encontrando un aceptor de la misma, el equipo tomará la lectura que está emitirá (Lejona, Silvina, Fay, & Fay, 2006).

El equipo que se utilizó en la metodología para PCR en tiempo real fue el sistema de StepOnePlus™ Real Time-PCR fabricado por Applied Biosystems, el cual ofrece un sistema que permite la lectura de la fluorescencia en el momento que se lleva a cabo la reacción.

Después de que se obtuvo y cuantificó el DNA de los sujetos de estudio, se procedió a la determinación genética de los polimorfismos rs1999805, rs3020404, rs2504063, rs2228480 del gen *ESR1* y rs9479055, rs4870044, rs851982, rs3020331, rs7753676, rs712219, rs851993 del gen *C6orf97* de acuerdo a lo establecido por Luo et al. (2014) y Rojano-Mejía et al. (2014).

Uno de los pasos iniciales fue establecer las concentraciones del DNA de las muestras, cada una contenían 5 nanogramos por microlitro (ng/μl) con la cantidad y calidad adecuada para el procedimiento. El segundo paso a las diluciones de DNA fue elaborar la placa maestra utilizando MicroAmp® placa de reacción de 96 pozos, ésta fue de utilidad para la distribución del DNA a las placas TaqMan necesarias para la discriminación alélica, cada pocillo de la placa contenía 25 n/μl de DNA, es decir, 5 μl de dilución por pocillo necesario para efectuar la reacción, se dejó secar por un día aproximadamente a temperatura ambiente cubiertas con toallitas Kimwipes de Kimberly Clark®.

Para la mezcla de reacción de PCR en tiempo real fue necesario tener los componentes y volumen adecuados descritos en la tabla V; el protocolo mantuvo las condiciones de esterilidad y baja temperatura, además del material necesario para dicho proceso (tubos de PCR tiempo real, tubos eppendorf, puntas de pipeta, pipetas, centrifuga, vórtex, etc.). Se llevó a cabo la mezcla de reactivos y se manipularon siempre en hielo. Una vez realizado el mix en el tubo eppendorf se procedió agitar con un vórtex y centrifugar la reacción para que el contenido precipitara y fuera homogéneo, se procedió a distribuir en tubos de PCR (hileras con ocho) alrededor de 60 μl en cada pocillo, posteriormente se agregó 5 μl del mix a las placas Taqman que contenían el DNA con una pipeta multicanal eppendorf, una vez finalizada la distribución se sellaron cuidadosamente con un MicroAmp optival adhesive film para conservar la mezcla y se envolvió en papel aluminio para evitar la luz y que no afectara la reacción.

Tabla XXVIII. Componentes de la reacción de PCR en tiempo real.

Componentes	Volumen para una reacción (1X) (µl)	Volumen para reacción total (96X) (µl)
Universal PCR Master Mix	2.5	240
TaqMan® SNP 40x Assays	0.06	6
Agua	2.43	234
Volumen Final	5	480

El protocolo de PCR en tiempo real para la discriminación alélica y genotípica, se consideró adecuada la reacción cuando el mix contenía 5 µl de DNA, 2.5 µl de TaqMan Universal Master Mix, 0.06 µl de TaqMan® SNP 40X Assay específico y ajustado con agua 2.43 µl para un volumen final de 5 µl por cada reacción, además dentro de dicha metodología se utilizó un control negativo que contenía agua libre de endonucleasas y tres muestras blanco sin ninguna muestra de DNA.

La PCR en tiempo real fue ejecutado por el sistema de StepOnePlus™ Real Time-PCR siguiendo el protocolo descrito en la guía de introducción del equipo (Applied Biosystems, 2010), donde las condiciones para todo los polimorfismos son descritas en la tabla VI. En cada ciclo de amplificación el software detectó la fluorescencia emitida por las sondas, donde la discriminación fue realizada específicamente por cada SNP según las variantes alélicas que correspondían. Este estudio utilizó sondas y primers diseñados por el servicio de Applied Biosystem descritos en la tabla VII.

Tabla XXIX. Condiciones del termociclador de la PCR en tiempo real

Numero de ciclos	Temperatura (°C)	Tiempo
1	60°	30 seg
1	95°	10:00 min
45	95°	15 seg
	60°	01:00 min
1	60°	30 seg

Una vez llevada a cabo la discriminación alélica es importante realizar un análisis de estudios genéticos que permitan identificar aquellas variaciones genotípicas que puede conferir una susceptibilidad al desarrollo de ciertas enfermedades. Para el estudio estadístico, los polimorfismos son considerados por categorías, es decir, hay cierto número de genotipos posibles que evaluarán la asociación con las patologías de interés, por lo cual permitirá medir la magnitud de la asociación mediante odd ratios o bien descartar otros factores de interacción mediante el ajuste de ciertas variables.

Los estudios de asociación estudian los polimorfismos con dos alelos (C y T), de los cuales un alelo modifica el riesgo de la enfermedad de estudio (T), para el análisis se obtiene tres genotipos (CC, CT y TT) que diferencian a cada sujeto dentro del estudio comparándose las características cuantitativas entre los tres genotipos, por lo que, los estudios genéticos permiten el análisis de cuatro modelos de herencia posibles.

- Modelo dominante: señala que es necesario solo una copia del alelo T para que modifique el riesgo y si tiene dos copias de este alelo tiene el mismo efecto, es decir, CT y TT tienen el mismo riesgo.
- Modelo recesivo, en el cual es necesario dos copias del alelo T para que modifique el riesgo, los homocigotos TT tienen doble riesgo que los heterocigotos CT.
- Modelo aditivo, cada copia del alelo T modifica el riesgo en una cantidad aditiva.
- Modelo codominante: cada genotipo proporciona un riesgo de enfermedad diferente y no aditivo. (Iniesta, Guinó, & Moreno, 2005).

Tabla XXX. SNPs de interés de los genes *ESR1* y *C6orf97*.

GEN	SNPs	Alelos	ID Applied Biosystem	Localización	Secuencia del primer VIC/FAM (5'→3')
<i>ESR1</i>	rs1999805	Ancestral: G	C_2496790_10	Cromosoma 6	CGTACCCAGAAAGCTCTTAGATTGT[A/G]AATGCTGAGGGAACACTGGGAGATT
		AMF: A		Intron 152068364	
	rs3020404	Ancestral: A	C_2525091_10	Cromosoma 6	ATTCACAATCTGTCATTATAGTCTT[A/G]TCTATAAACCTAAGGTTTAGAGAAA
		AMF: G		Intron 152296986	
	rs2504063	Ancestral: A	C_16250849_10	Cromosoma 6	TGGTGATTGACTGAATGGACACTGA[A/G]TATCTAGGCTAAAAGTAATTGAATG
		AMF: G		Intron 152090707	
	rs2228480	Ancestral: G	C_15746515_10	Cromosoma 6	GGGAGGCAGAGGGTTTCCCTGCCAC[A/G]GTCTGAGAGCTCCCTGGCTCCCACA
		AMF: A		Desc. 152420095	
<i>C6orf97</i>	rs9479055	Ancestral: C	C_63129474_10	Cromosoma 6	TCAATGAAAAGAAGACTCAGGGGAG[A/C]AAGAGTGTTAAGAATATTTTAGAAT
		AMF: A		Intron 151847967	
	rs4870044	Ancestral: T	C_305906_10	Cromosoma 6	GCTATGTCATTTGTGGTATAGGAGA[C/T]GTTGAAGGGTCTTCAGGTAGAAATA
		AMF: C		Intron 151901409	
	rs851982	Ancestral: T	C_2496816_10	Cromosoma 6	ACTTTGAAGTCTTAGATCCAAAAC[C/T]TGATTCCAGAAAGGTCTAAGGTGCT
		AMF: C		Intron 152024985	
	rs3020331	Ancestral: C	C_15980192_10	Cromosoma 6	CTTGAACAACCCAGACAGATTGCAT[C/T]CATTTTCTGCTTTACTGTGCTTGTG
		AMF: T		Desc. 152008780	
	rs7753676	Ancestral: G	C_34717910_10	Cromosoma 6	CGTATTGTAGCAAGTCAGGATTAGA[A/G]TCTCTATAATTCAACTCCTCATCCT
		AMF: A		Intron 151876815	
	rs712219	Ancestral: C	C_8789766_10	Cromosoma 6	AAAAAGGGAAATTAATTAAC[C/T]AAGTTTATGGGTACTAACCATTAA
		AMF: T		Intron 151978439	
	rs851993	Ancestral: A	C_8789810_10	Cromosoma 6	CCATAGGCAGGACCCTCTTCCACTA[A/G]GTTTCATTGCAAACGGGAAGCCTCA
		AMF: G		Desc. 152006011	

AMF=Alelo de menor frecuencia; Desc=desconocido Fuente: Applied Biosystems (2014)

8.2.7 Análisis estadístico

- Los datos recopilados se analizaron de acuerdo a cada objetivo del estudio. Se utilizó estadística descriptiva paramétrica (media, desviación estándar) para el análisis de las variables.
- Las frecuencias de alelos y genotipos de los SNPs analizados se expresaron en porcentaje y se analizaron mediante X^2 .
- Para la determinación de la relación entre la densidad mineral ósea y los polimorfismos rs1999805, rs3020404, rs2504063, rs2228480 del gen *ESR1* y rs9479055, rs4870044, rs851982, rs3020331, rs7753676, rs712219, rs851993 del gen *C6orf97* en la población total se utilizó modelos de regresión lineal en base a los modelos de herencia aditivo, recesivo y dominante, ajustado a covariables de edad, peso, IMC y niveles de glucosa sérica.
- Para comprobar el equilibrio entre los genotipos de los polimorfismos estudiados se realizó la prueba de Hardy-Weinberg mediante el software Genetix V. 4. 05.2.
- Se determinó un 95% de confiabilidad para que los resultados sean considerados estadísticamente significativos. El análisis de los datos fue ejecutado utilizando el software SPSS V.20.0.

9. RESULTADOS

9.1 Características generales de la población.

Este estudio inició con una base de datos de 229 candidatas de las cuales, considerando los criterios de inclusión, fueron seleccionadas 180 mujeres aparentemente sanas para participar, de este total se trabajó en reclutar nuevamente aquellas pacientes que fue necesario complementar su información y el banco de DNA; sin embargo se descartaron 56 sujetos por ser pacientes relacionadas (parentesco familiar), sin datos completos de densitometría, el DNA no amplificó en las determinaciones genéticas y algunas muestras se perdieron por las condiciones de transporte al lugar de análisis. Finalmente quedó un total de 124 mujeres.

En la tabla VIII se describen las características generales del grupo evaluado. Las 124 mujeres mostraron una media de edad de 63 (± 9.02) años con un rango mínimo de 44 años y máximo 80 años de edad; el peso promedio fue de 69,34 Kg y una estatura de 154.39 cm, siendo estos datos útiles para el cálculo del IMC, dando como resultado una media de 29.14 (± 4.95) Kg/m².

Tabla XXXI. Características generales de la población estudiada.

Variable	Media (DE)
N	124
Edad (años)	63.45 (9.02)
Peso (Kg)	69.34 (13.13)
Estatura (cm)	154.39 (6.34)
IMC (Kg/m ²)	29.14 (4.95)
Glucosa sérica (mg/dL)	110.53 (35.29)

N= número de pacientes; DE= desviación estándar; Kg= kilogramos; cm= centímetros; Kg/m²= kilogramos sobre metros cuadrados; mg/dL= miligramos sobre decilitro.

9.2 Determinación de la densidad mineral ósea

En la tabla IX se muestra el promedio de las diferentes regiones anatómicas evaluadas en 124 mujeres.

Tabla XXXII. Densidad mineral ósea (g/cm^2) en diferentes regiones anatómicas de la población de estudio.

Variable	Media (DE)
DMO-CT	1.058 (0.099)
DMO-C	0.926 (0.127)
DMO-CF	0.862 (0.120)
DMO-TW	0.682 (0.137)
DMO-T	0.749 (0.115)
DMO-L1-L4	0.999 (0.154)
DMO-L2-L4	1.018 (0.165)

DMO-CT= Densidad mineral ósea en cuerpo total, DMO-C= Densidad mineral ósea en cadera total, DMO-CF= Densidad mineral ósea en cuello femoral, DMO-TW =Densidad mineral ósea en triángulo de Wards, DMO-T= Densidad mineral ósea en trocánter, DMO-L1-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L1 a lumbar L4, DMO- L2-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L2 a lumbar L4, DE= Desviación estándar.

9.3 Análisis de las variantes alélicas de los genes *ESR1* y *C6orf97*

Para la determinación de los 11 polimorfismos de los genes *ESR1* y *C6orf97* se utilizó el análisis de discriminación alélica en el equipo StepOne™ Software v2.3. En las figuras de la 11 a la 16 los resultados de discriminación alélica; se describen los controles negativos y muestras blanco para el control del producto esperado, los SNPs analizados fueron los siguientes rs1999805, rs3020404, rs2504063, rs2228480, del gen *ESR1* y del gen *C6orf97* rs9479055, rs4870044, rs851982, rs3020331, rs7753676, rs712219, rs851993.

El equipo StepOne™ Software v2.3 genera las siguientes gráficas de resultados, señala el producto amplificado y la discriminación alélica de cada muestra analizada, para su identificación en la figura superior de cada SNP, los círculos de color rojo y azul muestran las variantes homocigotas de cada polimorfismo y los círculos en color verde las variantes de heterocigotos, en el caso de aquellas muestras blanco para control del producto esperado se utilizó el mix de PCR sin muestra de DNA para asegurar la calidad en la discriminación alélica y se reconoce en la figura con una marca de “x”, esta

misma identifica aquellas muestras que fueron indeterminadas; para las muestras de control negativo se utilizó agua destilada libre de DNAasa y se reconoce mediante el cuadro en color negro. Mientras tanto en la figura inferior de cada polimorfismo se observa un gráfico de amplificación de cada alelo identificado por un color específico.

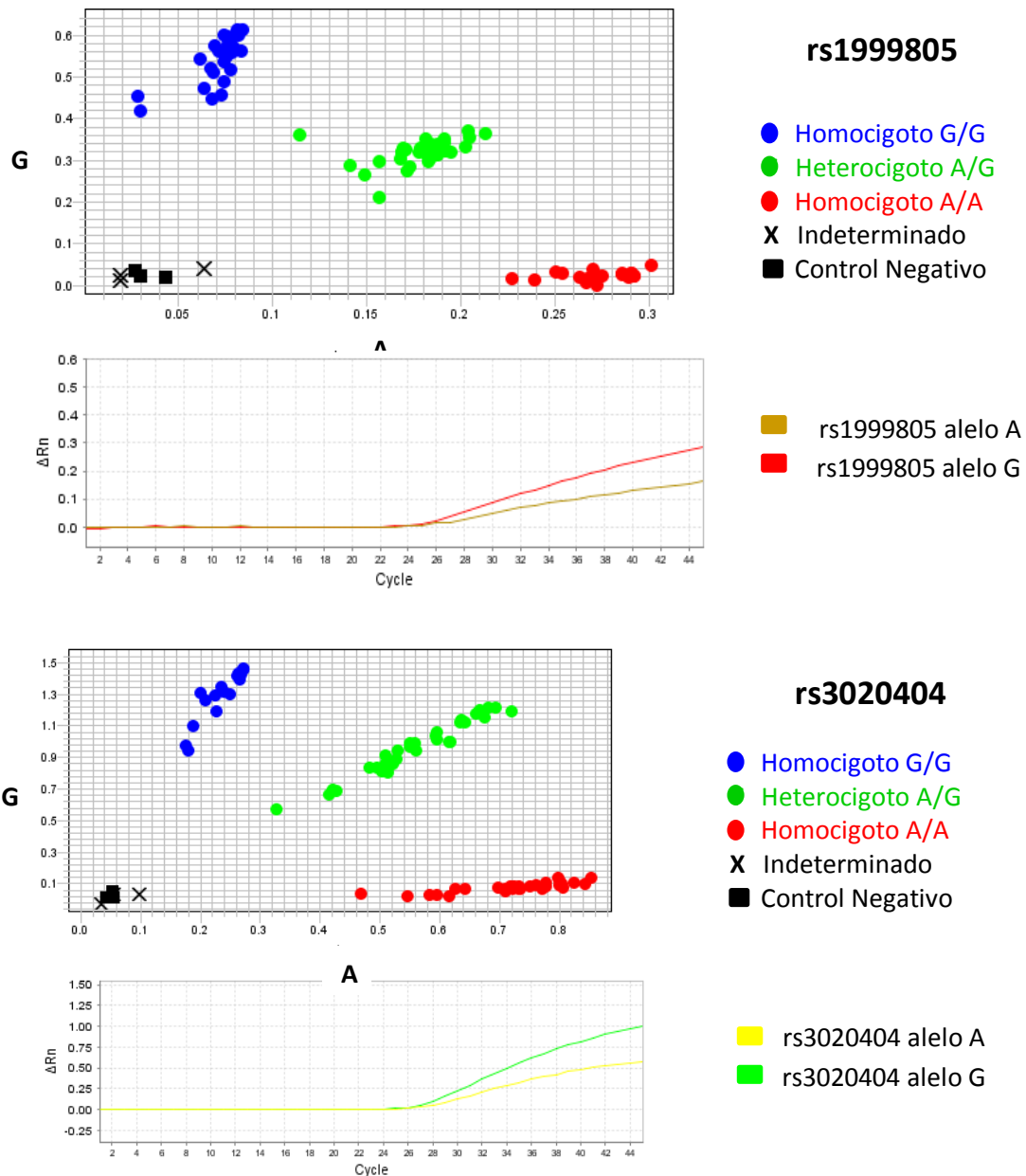


Figura 12. Gráficas de amplificación y discriminación alélica de los polimorfismos rs1999805 y rs3020404 del gen *ESR1*.

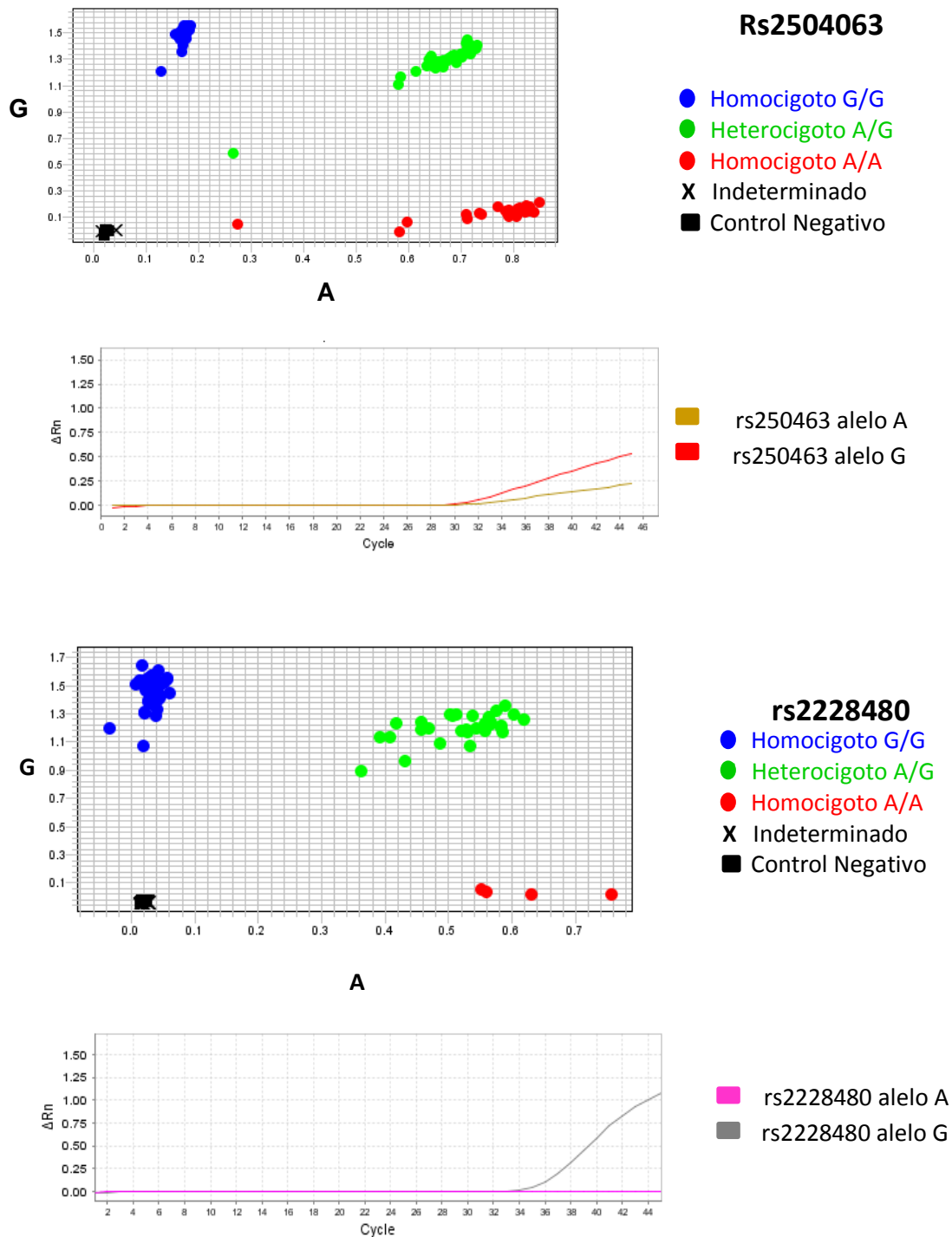


Figura 13. Gráficas de amplificación y discriminación alélica de los polimorfismos rs2504063 y rs2228480 del gen *ESR1*.

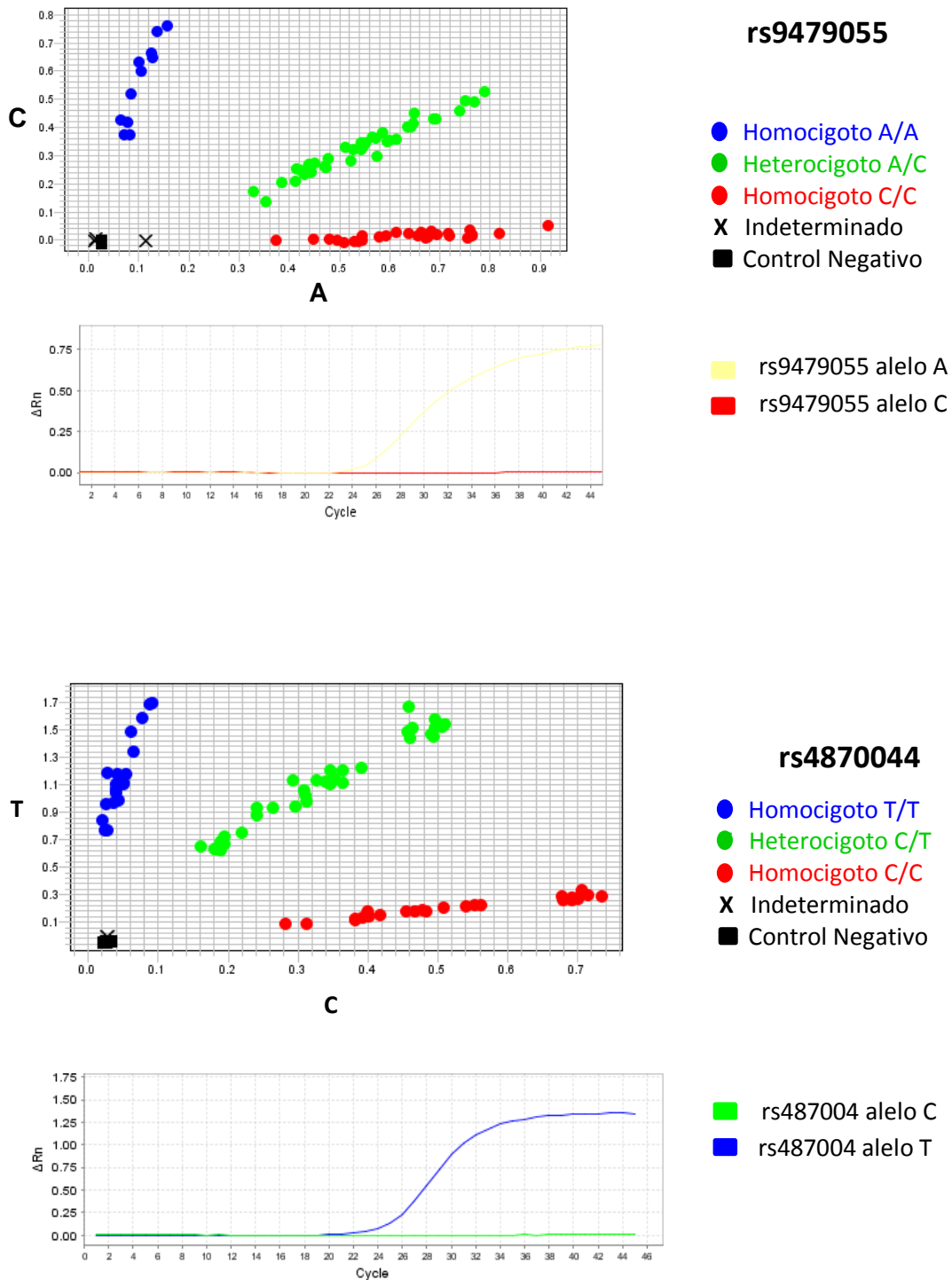


Figura 14. Gráficas de amplificación y discriminación alélica de los polimorfismos rs9479055 y rs4870044 del gen *C6orf97*.

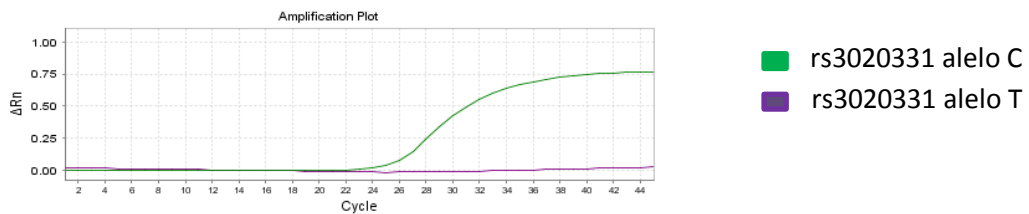
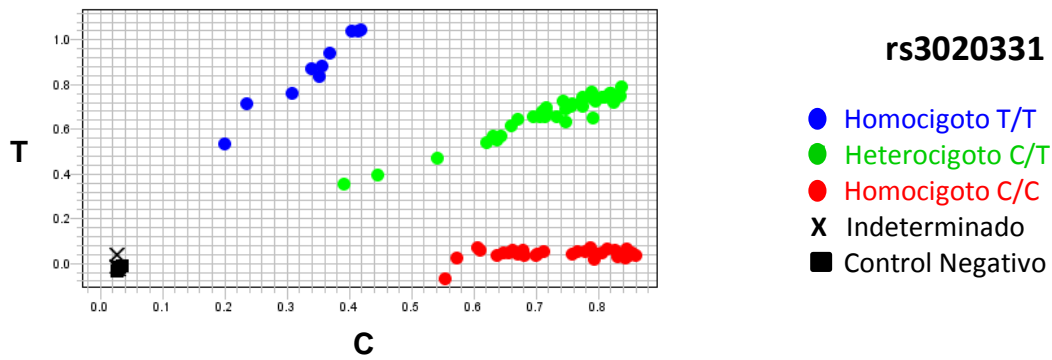
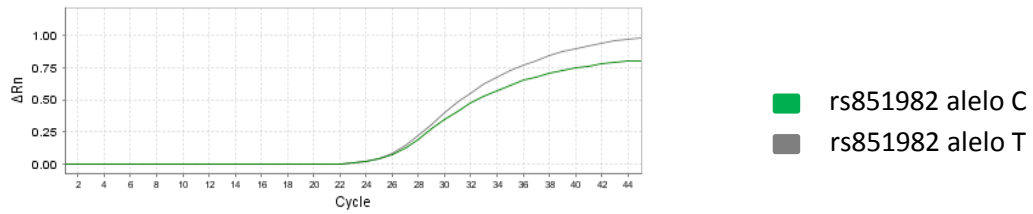
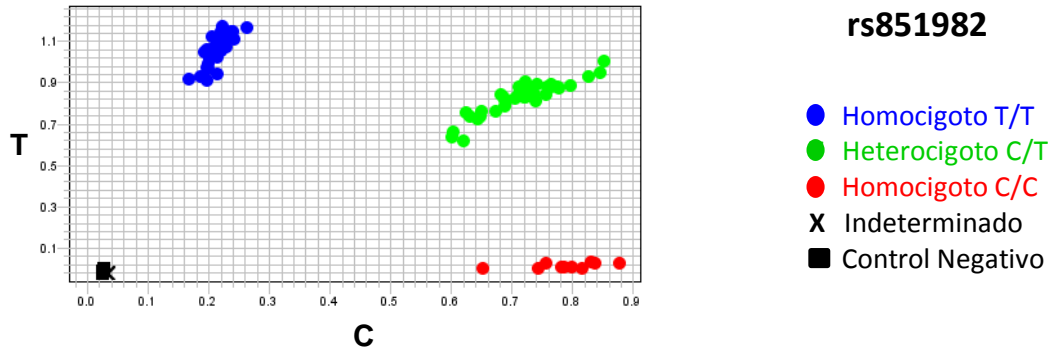


Figura 15. Gráficas de amplificación y discriminación alélicas de los polimorfismos rs851982 y rs3020331 del gen *C6orf97*

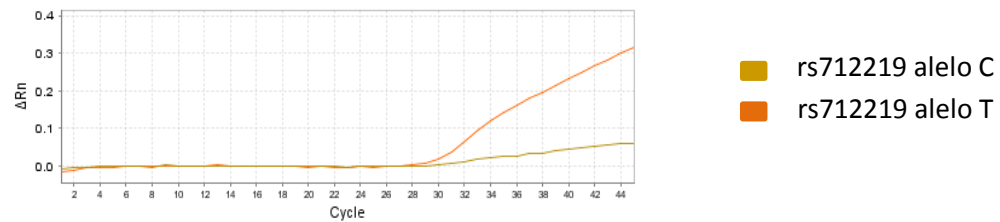
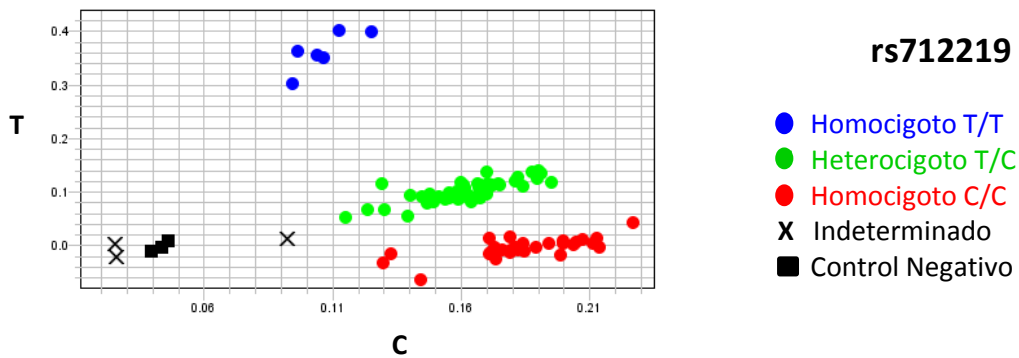
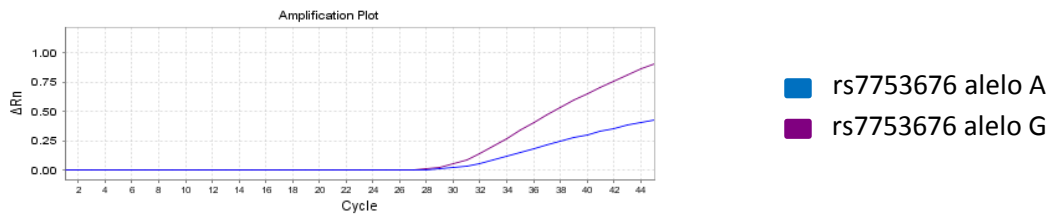
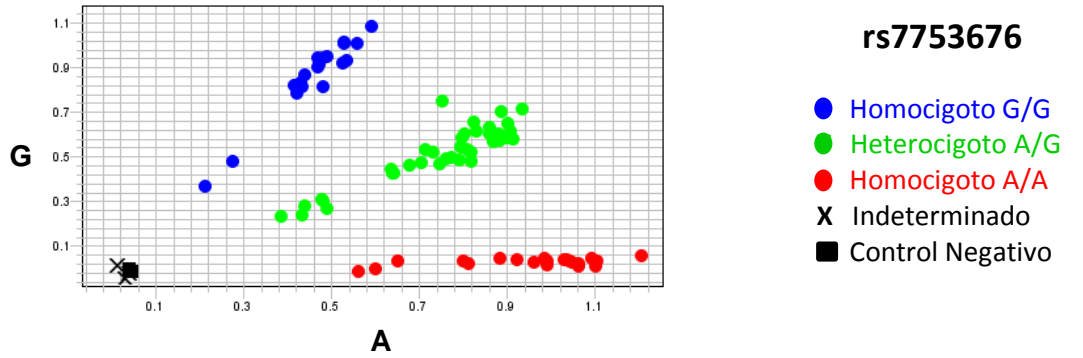


Figura 16. Gráficas de amplificación y discriminación alélica de los polimorfismos rs7753676 y rs712219 del gen *C6orf97*.

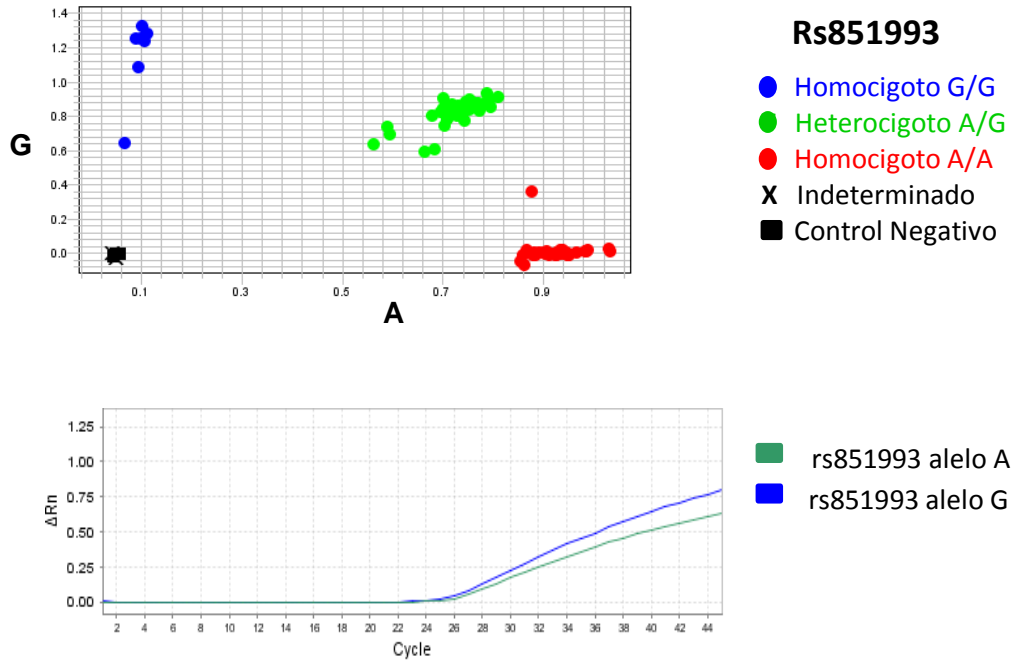


Figura 17. Gráficas de amplificación y discriminación alélicas del polimorfismo rs851993 del gen C6orf97.

9.4 Determinación de las frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes de los genes ESR1 y C6orf97.

La frecuencia alélica y genotípica de los distintos polimorfismos de los genes *ESR1* y *C6orf97* se describen en la tabla X. En todos los polimorfismos se analizó el equilibrio de Hardy-Weinberg en la muestra total del estudio, considerando una $p < 0.05$, se observa que todos los polimorfismos del gen se encontraron en equilibrio.

Tabla XXXIII. Frecuencia alélica y genotípica de los genes *ESR1* y *C6orf97* en mujeres mexicanas.

Gen <i>ESR1</i>												
SNP Número de referencia	rs1999805			rs3020404			rs2504063			rs2228480		
Genotipo y Frecuencias	Genotipo	<i>n</i>	%	Genotipo	<i>n</i>	%	Genotipo	<i>n</i>	%	Genotipo	<i>N</i>	%
	GG	38	30.7	AA	52	41.9	AA	45	36.9	GG	79	63.7
	AG	51	41.1	AG	53	42.8	AG	53	43.4	AG	39	31.5
Frecuencia alélica	AA	35	28.2	GG	19	15.3	GG	24	19.7	AA	6	4.8
	G	127	51.2	A	157	63.3	A	143	58.6	G	197	79.4
	A	121	48.8	G	91	36.7	G	101	41.4	A	51	20.6
EHW χ^2	0.05			0.37			0.25			0.68		
Gen <i>C6orf97</i>												
Número de referencia	rs9479055			rs4870044			rs851982			rs3020331		
Genotipo y Frecuencias	Genotipo	<i>n</i>	%	Genotipo	<i>N</i>	%	Genotipo	<i>n</i>	%	Genotipo	<i>n</i>	%
	CC	26	21.1	TT	26	21.0	TT	53	42.7	CC	49	39.8
	AC	58	47.2	CT	55	44.3	CT	53	42.7	CT	57	46.4
Frecuencia alélica	AA	39	31.7	CC	43	34.7	CC	18	14.6	TT	17	13.8
	C	110	44.7	T	107	43.2	T	159	64.2	C	155	63.0
	A	136	55.3	C	141	56.8	C	89	35.8	T	91	37.0
EHW χ^2	0.60			0.29			0.43			0.95		
Número de referencia	rs7753676			rs712219			rs851993					
Genotipo y Frecuencias	Genotipo	<i>n</i>	%	Genotipo	<i>N</i>	%	Genotipo	<i>n</i>	%	-	-	-
	GG	26	21.1	CC	47	38.2	AA	60	48.4	-	-	-
	AG	59	48.0	CT	63	51.2	AG	51	41.1	-	-	-
Frecuencia alélica	AA	38	30.9	TT	13	10.6	GG	13	10.5	-	-	-
	G	111	45.2	C	157	63.8	A	171	68.9	-	-	-
	A	135	54.8	T	89	36.2	G	77	31.1	-	-	-
EHW χ^2	0.73			0.23			0.66			-		

N=Número de individuos; %= valor en porcentaje; EHW= Equilibrio Hardy-Weinberg.

En el análisis inicial, se encontró en el polimorfismo rs9479055 una frecuencia del 47.2% para el heterocigoto AC resultado ser el de mayor prevalencia, en cuanto a la distribución alélica el de mayor frecuencia fue el alelo A con un 55.3%, en tanto, el alelo C tuvo un 44.7%.

Los genotipos homocigoto TT y heterocigoto CT del polimorfismo rs851982 presentan una distribución similar con un 42.7%; el alelo T fue el de mayor

frecuencia con un 64.2% y el alelo de menor frecuencia (AMF) C obtuvo un 35.8% de la población.

En el polimorfismo rs3020331 tiene mayor prevalencia el genotipo heterocigoto CT con un 46.4%; el alelo C se encuentra en más de la mitad de la población de estudio.

Para el SNP rs7753676 el genotipo heterocigoto AG más frecuente representa un 48% de la población estudiada, siendo el alelo A el más representativo alcanzando un 54.8%

Para los polimorfismos rs712219, rs3020404, rs2504063 los genotipos de mayor frecuencia fueron los heterocigotos CT, AG y AG con un 51.2%, 42.8% y 43.4%, respectivamente; mientras que los alelos más prevalentes fueron el C con un 63.8%, A con 63.3% y A con un 58.6%, respectivamente a cada SNP.

En el caso de los polimorfismos rs851993 y rs2228480 los genotipos más frecuentes fueron los homocigoto AA 48.4% y GG 63.7% respectivamente; siendo el alelo A más frecuente con un 68.9% y el alelo G se encontró en mayor proporción en la población estudiada con un 79.4% para cada polimorfismo.

El genotipo heterocigoto ha resultado ser el más predominante para los SNPs rs4870044 CT (44.3%) y rs1999805 AG (41.1%), encontrando 56.8% de frecuencia para el alelo ancestral C del primer SNP y un 51.2% para el alelo G del segundo SNP.

Los polimorfismos rs9479055, rs3020331, rs7753676, rs712219 fueron evaluados en 124 muestras; sin embargo, se descartó una muestra pues el análisis resultó indeterminado, el mismo caso ocurrió para el rs2504063 con muestras indeterminadas.

9.5 Determinación de la asociación de las variantes alélicas de los genes *ESR1* y *C6orf97* con la densidad mineral ósea.

Como se muestra en las tablas de la XI a la XXI, en el análisis inicial se encontró que 5 de los 11 polimorfismos estudiados resultaron tener una asociación estadísticamente significativa con la densidad mineral ósea. Utilizando los modelos de herencia aditivo, recesivo y dominante se evaluó la asociación de los polimorfismos con la DMO; dicho estudio fue llevado a cabo mediante un modelo de regresión lineal considerando el ajuste de las variables por edad, IMC y glucosa sérica.

En la tabla XI, se encontró una fuerte asociación en cuerpo total, cuello femoral, L1-L4 y L2-L4, con una tendencia a baja DMO en el modelo aditivo y recesivo en el polimorfismo rs1999805, mantiene una diferencia estadísticamente significativa para el alelo A con una $p_a = 0.016$ y $p_a = 0.015$, respectivamente.

En cuanto a la región de DMO L1-L4 conserva una asociación significativa bajo el modelo aditivo y recesivo $p_a = 0.025$ y $p_a = 0.015$, respectivamente, con una tendencia a baja DMO en presencia del alelo A. En tanto, en la región de DMO L2-L4 mantiene una asociación significativa con una tendencia a alta DMO en el genotipo GG ($p_a = 0.017$) bajo el modelo aditivo, en cambio para el genotipo AA se observó una tendencia a baja DMO en el modelo recesivo $p_a = 0.027$.

En la tabla XII se muestran los resultados de las asociaciones para las variables de estudio y no se identifica alguna diferencia significativa del rs3020404 con la DMO.

El análisis de la asociación del SNP rs2504063 con la DMO se muestra en la tabla XIII. Se encontraron asociaciones significativas con la DMO de la región cuerpo total, L1-L4 y L2-L4. Bajo el modelo aditivo y dominante se observa una diferencia significativa en el área de cuerpo total, en el modelo aditivo se asocia

con una alta DMO en el alelo G, en cambio con una tendencia a baja DMO en el modelo recesivo para el alelo A.

En cuanto a la región de DMO L1-L4 y L2-L4 ocurre la misma condición, para aditivo tendencia a alta DMO en el G y tendencia a baja DMO en alelo A. En todos los casos se mantiene la asociación, incluso después de ajuste de las variables.

En la tabla XIV se observa que el rs2228480 no muestra alguna asociación significativa con las variables de estudio, sin embargo se puede apreciar que, al ser llevado a cabo el ajuste de las variables, en DMO triángulo de Ward alcanza un valor cercano al esperado, aunque no es significativo $p_a=0.090$.

Tabla XXXIV. Asociación del polimorfismo rs1999805 del gen *ESR1* con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas.

Región	AA (n=38) media (DE) (g/cm ²)	AG (n=51) media (DE) (g/cm ²)	GG (n=35) media (DE) (g/cm ²)	MODELO	β (95% IC)	P	P _a
DMO-CT	1.043 (0.096)	1.051 (0.102)	1.088 (0.095)	Aditivo	-0.022 (-0.044; 0.000)	0.055	**0.016
				Recesivo	-0.040 (-0.078; -0.002)	0.039	**0.015
				Dominante	-0.023 (-0.060; 0.015)	0.241	0.111
DMO-C	0.951 (0.133)	0.904 (0.123)	0.931 (0.126)	Aditivo	0.010 (-0.019; 0.039)	0.485	0.363
				Recesivo	-0.007 (-0.057; 0.042)	0.777	0.780
				Dominante	0.036 (-0.013; 0.084)	0.147	0.075
DMO-TW	0.703 (0.141)	0.671 (0.135)	0.676 (0.136)	Aditivo	0.014 (-0.017; 0.045)	0.388	0.532
				Recesivo	0.009 (-0.045; 0.062)	0.753	0.901
				Dominante	0.030 (-0.022; 0.082)	0.258	0.250
DMO-T	0.758(0.112)	0.736 (0.121)	0.757 (0.111)	Aditivo	0.001 (-0.025; 0.027)	0.947	0.882
				Recesivo	-0.011 (-0.056; 0.034)	0.620	0.617
				Dominante	0.013 (-0.031; 0.057)	0.553	0.470
DMO-CF	0.901 (0.113)	0.835 (0.118)	0.857 (0.122)	Aditivo	0.023 (-0.005; 0.050)	0.106	0.058
				Recesivo	0.006 (-0.041; 0.053)	0.803	0.914
				Dominante	0.057 (0.012; 0.101)	0.013	*0.002
DMO-L1-L4	0.969 (0.155)	0.991 (0.156)	1.041 (0.147)	Aditivo	-0.035 (-0.070; -0.001)	0.046	**0.025
				Recesivo	-0.059 (-0.118; 0.001)	0.053	**0.015
				Dominante	-0.042 (-0.101; 0.016)	0.158	0.102
DMO-L2-L4	0.984 (0.166)	1.011 (0.167)	1.065 (0.155)	Aditivo	0.040 (-0.077; -0.003)	0.034	*0.017
				Recesivo	-0.065 (-0.129; -0.002)	0.044	**0.027
				Dominante	0.049 (-0.013; 0.111)	0.124	0.077

P<0.05; DMO-CT= Densidad mineral ósea en cuerpo total, DMO-C= Densidad mineral ósea en cadera total, DMO-CF= Densidad mineral ósea en cuello femoral, DMO-TW =Densidad mineral ósea en triángulo de Wards, DMO-T= Densidad mineral ósea en trocánter, DMO-L1-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L1 a lumbar L4, DMO- L2-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L2 a lumbar L4, DE= Desviación estándar, P_a= valor *p* ajustado por edad, IMC, glucosa, * =β tendencia a baja DMO, ** =β tendencia a baja DMO.

Tabla XXXV. Asociación del polimorfismo rs3020404 del gen *ESR1* con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas

Región	AA (n=52)	AG (n=53)	GG (n=19)	MODELO	β (95% IC)	P	P_a
	media (DE) (g/cm ²)	media (DE) (g/cm ²)	media (DE) (g/cm ²)				
DMO-CT	1.064 (0.089)	1.049 (0.111)	1.072 (0.093)	Aditivo	0.000 (-0.025; 0.024)	0.980	0.515
				Recesivo	-0.016 (-0.064; 0.033)	0.522	0.537
				Dominante	0.009 (-0.026; 0.044)	0.615	0.713
DMO-C	0.922 (0.125)	0.921 (0.136)	0.951 (0.110)	Aditivo	0.011 (-0.021; 0.042)	0.511	0.822
				Recesivo	-0.029 (-0.091; 0.033)	0.351	0.849
				Dominante	-0.006 (-0.051; 0.039)	0.792	0.643
DMO-TW	0.680 (0.145)	0.671 (0.137)	0.721 (0.106)	Aditivo	0.014 (-0.020; 0.048)	0.421	0.710
				Recesivo	-0.046 (-0.112; 0.020)	0.176	0.847
				Dominante	-0.004 (-0.053; 0.044)	0.865	0.691
DMO-T	0.749 (0.107)	0.750 (0.127)	0.747 (0.107)	Aditivo	-0.001 (-0.029; 0.028)	0.972	0.533
				Recesivo	0.002 (-0.054; 0.058)	0.947	0.194
				Dominante	0.000 (-0.041; 0.041)	0.998	0.967
DMO-CF	0.862 (0.123)	0.851 (0.121)	0.893 (0.112)	Aditivo	0.010 (-0.020; 0.039)	0.526	0.792
				Recesivo	-0.037 (-0.095; 0.022)	0.219	0.926
				Dominante	0.000 (-0.043; 0.042)	0.987	0.754
DMO-L1-L4	1.013 (0.158)	0.983 (0.148)	1.002 (0.167)	Aditivo	-0.011 (-0.049; 0.027)	0.577	0.342
				Recesivo	-0.004 (-0.079; 0.072)	0.923	0.912
				Dominante	0.024 (-0.030; 0.079)	0.383	0.424
DMO-L2-L4	1.033 (0.167)	1.003 (0.159)	1.020 (0.182)	Aditivo	-0.012 (-0.053; 0.029)	0.562	0.330
				Recesivo	-0.002 (-0.083; 0.078)	0.957	0.422
				Dominante	0.026 (-0.033; 0.085)	0.382	0.412

$P < 0.05$; DMO-CT= Densidad mineral ósea en cuerpo total, DMO-C= Densidad mineral ósea en cadera total, DMO-CF= Densidad mineral ósea en cuello femoral, DMO-TW =Densidad mineral ósea en triángulo de Wards, DMO-T= Densidad mineral ósea en trocánter, DMO-L1-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L1 a lumbar L4, DMO- L2-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L2 a lumbar L4, DE= Desviación estándar, P_a = valor p ajustado por edad, IMC, glucosa.

Tabla XXXVI. Asociación del polimorfismo rs2504063 gen *ESR1* con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas.

Región	AA (n=45) media (DE) (g/cm ²)	AG (n=53) media (DE) (g/cm ²)	GG (n=24) media (DE) (g/cm ²)	MODELO	β (95% IC)	P	P _a
DMO-CT	1.032 (0.098)	1.067 (0.100)	1.080 (0.082)	Aditivo	0.026 (0.003; 0.049)	0.029	**0.044
				Recesivo	-0.029 (-0.072; 0.014)	0.189	0.404
				Dominante	-0.039 (-0.074; -0.004)	0.027	*0.020
DMO-C	0.930 (0.138)	0.920 (0.128)	0.928 (0.111)	Aditivo	-0.002 (-0.033; 0.029)	0.902	0.406
				Recesivo	-0.004 (-0.061; 0.053)	0.884	0.768
				Dominante	0.007 (-0.040; 0.054)	0.759	0.386
DMO-TW	0.681 (0.144)	0.682 (0.143)	0.678 (0.111)	Aditivo	-0.001 (-0.034; 0.032)	0.958	0.949
				Recesivo	0.003 (-0.058; 0.064)	0.922	0.847
				Dominante	0.000 (-0.050; 0.050)	0.998	0.804
DMO-T	0.744 (0.116)	0.745 (0.124)	0.762 (0.097)	Aditivo	0.008 (-0.020; 0.036)	0.590	0.906
				Recesivo	-0.017 (-0.069; -0.034)	0.505	0.699
				Dominante	-0.006 (-0.048; 0.037)	0.788	0.896
DMO-CF	0.875 (0.119)	0.855 (0.130)	0.850 (0.104)	Aditivo	-0.013 (-0.043; 0.016)	0.371	0.126
				Recesivo	0.013 (-0.040; 0.067)	0.625	0.444
				Dominante	0.022 (-0.023; 0.066)	0.340	0.096
DMO-L1-L4	0.955 (0.146)	1.017 (0.163)	1.039 (0.145)	Aditivo	0.044 (0.008; 0.081)	0.018	**0.021
				Recesivo	-0.050 (-0.119; 0.019)	0.156	0.169
				Dominante	-0.068 (-0.124; -0.013)	0.016	*0.017
DMO-L2-L4	0.971 (0.157)	1.038 (0.173)	1.062 (0.154)	Aditivo	0.048 (0.009; 0.088)	0.016	**0.018
				Recesivo	-0.055 (-0.128; 0.019)	0.145	0.175
				Dominante	-0.074 (-0.134; -0.015)	0.015	*0.015

P<0.05; DMO-CT= Densidad mineral ósea en cuerpo total, DMO-C= Densidad mineral ósea en cadera total, DMO-CF= Densidad mineral ósea en cuello femoral, DMO-TW =Densidad mineral ósea en triángulo de Wards, DMO-T= Densidad mineral ósea en trocánter, DMO-L1-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L1 a lumbar L4, DMO- L2-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L2 a lumbar L4, DE= Desviación estándar, P_a= valor *p* ajustado por edad, IMC, glucosa, * =β tendencia a baja DMO, ** =β tendencia a alta DMO.

Tabla XXXVII. Asociación del polimorfismo rs2228480 gen *ESR1* con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas.

Región	GG (n=79) media (DE) (g/cm ²)	AG (n=39) media (DE) (g/cm ²)	AA (n=6) media (DE) (g/cm ²)	MODELO	β (95% IC)	P	P _a
DMO-CT	1.066 (0.095)	1.043 (0.113)	1.061 (0.058)	Aditivo	0.014 (-0.016; 0.044)	0.370	0.499
				Recesivo	-0.002 (-0.084; 0.079)	0.957	0.299
				Dominante	0.020 (-0.016; 0.057)	0.267	0.718
DMO-C	0.934 (0.124)	0.904 (0.138)	0.955 (0.078)	Aditivo	0.012 (-0.027; 0.050)	0.552	0.780
				Recesivo	-0.031 (-0.135; 0.073)	0.561	0.896
				Dominante	0.023 (-0.023; 0.070)	0.326	0.740
DMO-TW	0.690 (0.140)	0.672 (0.135)	0.639 (0.088)	Aditivo	0.022 (-0.019; 0.063)	0.302	0.394
				Recesivo	0.046 (-0.066; 0.157)	0.422	0.091
				Dominante	0.023 (-0.027; 0.072)	0.374	0.770
DMO-T	0.754 (0.109)	0.732 (0.131)	0.786 (0.074)	Aditivo	0.005 (-0.030; 0.040)	0.773	0.925
				Recesivo	-0.039 (-0.133; 0.055)	0.417	0.955
				Dominante	0.015 (-0.027; 0.057)	0.477	0.890
DMO-CF	0.867 (0.113)	0.853 (0.139)	0.853 (0.085)	Aditivo	0.011 (-0.025; 0.057)	0.550	0.845
				Recesivo	0.010 (-0.089; 0.108)	0.846	0.373
				Dominante	0.014 (-0.030; 0.058)	0.524	0.876
DMO-L1-L4	1.007 (0.152)	0.984 (0.161)	0.981 (0.166)	Aditivo	0.018 (-0.028; 0.065)	0.443	0.496
				Recesivo	0.018 (-0.108; 0.045)	0.776	0.288
				Dominante	0.023 (-0.033; 0.079)	0.422	0.721
DMO-L2-L4	1.028 (0.163)	1.001 (0.170)	1.009 (0.176)	Aditivo	0.019 (-0.031; 0.069)	0.453	0.499
				Recesivo	0.010 (-0.126; 0.145)	0.889	0.379
				Dominante	0.026 (-0.034; 0.086)	0.398	0.667

P<0.05; DMO-CT= Densidad mineral ósea en cuerpo total, DMO-C= Densidad mineral ósea en cadera total, DMO-CF= Densidad mineral ósea en cuello femoral, DMO-TW =Densidad mineral ósea en triángulo de Wards, DMO-T= Densidad mineral ósea en trocánter, DMO-L1-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L1 a lumbar L4, DMO- L2-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L2 a lumbar L4, DE= Desviación estándar, P_a= valor *p* ajustado por edad, IMC, glucosa, * =β tendencia a baja DMO, ** =β tendencia a alta DMO.

En las tablas XV, XVI, XVII, XVIII se observan los resultados de la asociación de los polimorfismos rs9479055, rs4870044, rs851982 y rs3020331 del gen *C6orf97*, se muestran los valores de media y desviación estándar (DE) de cada genotipo de los SNPs estudiados, se considera significativa una $p < 0.05$.

No se encontró una diferencia estadísticamente significativa en los resultados descritos en la tabla XV con el rs9479055, puesto que la media de DMO en las regiones anatómicas analizadas son similares entre los genotipos, sin embargo, es notable la disminución del valor p ajustado bajo algunos modelos de herencia, por ejemplo, en DMO-C bajo el modelo dominante, DMO CF modelos aditivo y dominante, así como en DMO L2-L4 modelo dominante, que le otorga mayor poder estadístico al resultado.

En la tabla XVI se muestra la media y desviación estándar de las DMO y de los genotipos del polimorfismo rs4870044, el cual muestra una asociación significativa entre la DMO en cuello femoral y los genotipos del SNP bajo el modelo recesivo con una $p_a = 0.038$, esta asociación tiene una tendencia a una alta DMO; cuando el alelo T está presente se observa en el ajuste de las variables un cambio favorable en el área de cuello femoral y cadera total para una p con tendencia a significancia respecto a una alta DMO en el modelo aditivo del sitio mencionado. En la región de DMO en cadera total también se observa este cambio bajo el modelo recesivo ($p_a = 0.076$) con una tendencia a alta DMO; no obstante, el valor de p no es estadísticamente significativo.

En la tabla XVII se muestra la asociación estadísticamente significativa del polimorfismo rs851982 con una baja DMO respecto al valor de β en la medición de cuerpo total y con una alta significancia de $p_a = 0.029$ bajo el modelo dominante, además de una tendencia a significancia en el modelo aditivo, pero al ajustar las variables se pierde la asociación.

En otros sitios de medición como el caso de cuello femoral existe una tendencia a un alta DMO en el genotipo heterocigoto, bajo los modelos aditivo y recesivo, en estos resultados al ser ajustados se aumenta el valor significativo por otro lado, la DMO L1-L4 y DMO L2-L4 al ser ajustadas por las covariables en el modelo dominante, en ambos casos se pierde la significancia a una mayor y menor DMO respectivamente.

Se observa en la tabla XVIII la relación del SNP rs3020331 con la DMO; no se encontraron asociaciones estadísticamente significativas con ninguno de los diferentes sitios estudiados. En la región de cadera total y cuello femoral el valor de p ajustado mejora notablemente, sin embargo no muestra una diferencia significativa bajo ningún modelo.

Tabla XXXVIII. Asociación del polimorfismo rs9479055 del gen C6orf97 con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas.

Región	CC (n=26) media (DE) (g/cm ²)	AC (n=58) media (DE) (g/cm ²)	AA (n=39) media (DE) (g/cm ²)	MODELO	β (95% IC)	P	P _a
DMO-CT	1.070 (0.107)	1.051 (0.105)	1.061 (0.086)	Aditivo	0.003 (-0.022; 0.027)	0.828	0.957
				Recesivo	-0.004 (-0.042; 0.033)	0.819	0.864
				Dominante	0.014 (-0.029; 0.057)	0.519	0.774
DMO-C	0.941 (0.146)	0.929 (0.126)	0.912 (0.118)	Aditivo	0.015 (-0.016; 0.046)	0.348	0.294
				Recesivo	0.021 (-0.027; 0.069)	0.396	0.799
				Dominante	0.019 (-0.036; 0.074)	0.494	0.167
DMO-TW	0.706 (0.157)	0.680 (0.135)	0.670 (0.128)	Aditivo	0.017 (-0.017; 0.051)	0.320	0.276
				Recesivo	0.018 (-0.034; 0.070)	0.496	0.567
				Dominante	0.029 (-0.030; 0.088)	0.331	0.237
DMO-T	0.758 (0.124)	0.747 (0.110)	0.746 (0.120)	Aditivo	0.005 (-0.023; 0.034)	0.707	0.649
				Recesivo	0.004 (-0.040; 0.048)	0.862	0.906
				Dominante	0.012 (-0.038; 0.062)	0.642	0.547
DMO-CF	0.882 (0.136)	0.863 (0.120)	0.847 (0.111)	Aditivo	0.017 (-0.012; 0.047)	0.252	0.198
				Recesivo	0.022 (-0.024; 0.068)	0.345	0.594
				Dominante	0.025 (-0.027; 0.077)	0.349	0.142
DMO-L1-L4	0.997 (0.143)	0.988 (0.165)	1.014 (0.150)	Aditivo	-0.010 (-0.048; 0.028)	0.608	0.426
				Recesivo	-0.023 (-0.088; 0.036)	0.445	0.392
				Dominante	-0.001 (-0.068; 0.066)	0.973	0.930
DMO-L2-L4	1.020 (0.149)	1.003 (0.177)	1.039 (0.161)	Aditivo	-0.012 (-0.053; 0.028)	0.555	0.386
				Recesivo	-0.031 (-0.094; 0.032)	0.331	0.761
				Dominante	0.002 (-0.069; 0.074)	0.947	0.281

P<0.05; DMO-CT= Densidad mineral ósea en cuerpo total, DMO-C= Densidad mineral ósea en cadera total, DMO-CF= Densidad mineral ósea en cuello femoral, DMO-TW =Densidad mineral ósea en triángulo de Wards, DMO-T= Densidad mineral ósea en trocánter, DMO-L1-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L1 a lumbar L4, DMO- L2-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L2 a lumbar L4, DE= Desviación estándar, P_a= valor *p* ajustado por edad, IMC, glucosa.

Tabla XXXIX. Asociación del polimorfismo rs4870044 del gen *C6orf97* con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas.

Región	TT (n=26) media (DE) (g/cm ²)	CT (n=55) media (DE) (g/cm ²)	CC (n=43) media (DE) (g/cm ²)	MODELO	β (95% IC)	P	P _a
DMO-CT	1.064 (0.104)	1.055 (0.099)	1.061 (0.099)	Aditivo	0.000 (-0.023; 0.024)	0.973	0.902
				Recesivo	-0.003 (-0.044; 0.033)	0.854	0.764
				Dominante	0.006 (-0.037; 0.049)	0.781	0.898
DMO-C	0.941 (0.142)	0.930 (0.126)	0.912 (0.120)	Aditivo	0.015 (-0.016; 0.045)	0.349	0.190
				Recesivo	0.021 (-0.029; 0.066)	0.383	0.076
				Dominante	0.019 (-0.036; 0.073)	0.506	0.765
DMO-TW	0.706 (0.150)	0.677 (0.135)	0.674 (0.132)	Aditivo	0.014 (-0.018; 0.047)	0.388	0.256
				Recesivo	0.012 (-0.038; 0.063)	0.632	0.207
				Dominante	0.030 (-0.029; 0.089)	0.320	0.570
DMO-T	0.752 (0.120)	0.750 (0.111)	0.746 (0.120)	Aditivo	0.003 (-0.024; 0.031)	0.823	0.612
				Recesivo	0.005 (-0.038; 0.047)	0.832	0.352
				Dominante	0.004 (-0.046; 0.054)	0.877	0.866
DMO-CF	0.880 (0.136)	0.866 (0.118)	0.845 (0.103)	Aditivo	0.018 (-0.011; 0.046)	0.223	0.107
				Recesivo	0.026 (-0.019; 0.070)	0.257	**0.038
				Dominante	0.023 (-0.029; 0.075)	0.387	0.625
DMO-L1-L4	1.008 (0.168)	0.999 (0.161)	0.992 (0.140)	Aditivo	0.008 (-0.029; 0.045)	0.671	0.637
				Recesivo	0.010 (-0.047; 0.067)	0.729	0.515
				Dominante	0.012 (-0.054; 0.079)	0.719	0.928
DMO-L2-L4	1.028 (0.178)	1.014 (0.173)	1.017 (0.150)	Aditivo	0.005 (-0.035; 0.044)	0.821	0.804
				Recesivo	0.002 (-0.059; 0.063)	0.955	0.750
				Dominante	0.012 (-0.059; 0.084)	0.732	0.941

P<0.05; DMO-CT= Densidad mineral ósea en cuerpo total, DMO-C= Densidad mineral ósea en cadera total, DMO-CF= Densidad mineral ósea en cuello femoral, DMO-TW =Densidad mineral ósea en triángulo de Ward, DMO-T= Densidad mineral ósea en trocánter, DMO-L1-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L1 a lumbar L4, DMO- L2-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L2 a lumbar L4, DE= Desviación estándar, P_a= valor *p* ajustado por edad, IMC, glucosa, ** =β tendencia a alta DMO.

Tabla XL. Asociación del polimorfismo rs851982 del gen *C6orf97* con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas

Región	TT (n=53) media (DE) (g/cm ²)	CT (n=53) media (DE) (g/cm ²)	CC (n=18) media (DE) (g/cm ²)	MODELO	β (95% IC)	P	P _a
DMO-CT	1.032 (0.096)	1.080 (0.105)	1.076 (0.076)	Aditivo	-0.028 (-0.053; -0.004)	*0.023	0.065
				Recesivo	-0.019 (-0.069; 0.030)	0.441	0.523
				Dominante	-0.047 (-0.082; -0.013)	*0.007	*0.029
DMO-C	0.922 (0.130)	0.939 (0.134)	0.901 (0.097)	Aditivo	0.004 (-0.028; 0.036)	0.819	0.269
				Recesivo	0.029 (-0.034; 0.092)	0.365	0.224
				Dominante	-0.007(-0.053; 0.038)	0.751	0.482
DMO-TW	0.673 (0.130)	0.700 (0.151)	0.656 (0.108)	Aditivo	0.000 (-0.035; 0.034)	0.986	0.788
				Recesivo	0.030 (-0.038; 0.098)	0.384	0.333
				Dominante	-0.016 (-0.064; 0.033)	0.520	0.760
DMO-T	0.739 (0.113)	0.764 (0.124)	0.734 (0.091)	Aditivo	-0.004 (-0.033; 0.025)	0.785	0.714
				Recesivo	-0.017 (-0.040; 0.075)	0.552	0.534
				Dominante	0.017 (-0.058; 0.024)	0.417	0.938
DMO-CF	0.862 (0.114)	0.871 (0.133)	0.834 (0.100)	Aditivo	0.008 (-0.022; 0.039)	0.582	0.173
				Recesivo	0.032 (-0.027; 0.092)	0.288	0.123
				Dominante	0.001 (-0.043; 0.042)	0.978	0.404
DMO-L1-L4	0.968 (0.149)	1.029 (0.170)	0.999 (0.103)	Aditivo	-0.027 (-0.065; 0.011)	0.169	0.370
				Recesivo	-0.001 (-0.078; 0.076)	0.979	0.890
				Dominante	-0.054 (-0.108; 0.000)	0.051	0.168
DMO-L2-L4	0.987 (0.159)	1.049 (0.183)	1.020 (0.107)	Aditivo	-0.028 (-0.069; 0.013)	0.188	0.389
				Recesivo	-0.002 (-0.044; 0.081)	0.964	0.940
				Dominante	0.055 (-0.113; 0.003)	0.065	0.199

P<0.05; DMO-CT= Densidad mineral ósea en cuerpo total, DMO-C= Densidad mineral ósea en cadera total, DMO-CF= Densidad mineral ósea en cuello femoral, DMO-TW =Densidad mineral ósea en triángulo de Wards, DMO-T= Densidad mineral ósea en trocánter, DMO-L1-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L1 a lumbar L4, DMO- L2-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L2 a lumbar L4, DE= Desviación estándar, P_a= valor *p* ajustado por edad, IMC, glucosa, *β =tendencia a baja DMO.

Tabla XLI. Asociación del polimorfismo rs3020331 del gen *C6orf97* con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas.

Región	CC (n=49) media (DE) (g/cm ²)	CT (n=57) media (DE) (g/cm ²)	TT (n=17) media (DE) (g/cm ²)	MODELO	β (95% IC)	P	P _a
DMO-CT	1.046 (0.090)	1.064 (0.113)	1.085 (0.070)	Aditivo	0.019 (-0.006; 0.044)	0.144	0.321
				Recesivo	-0.030 (-0.080; 0.021)	0.252	0.507
				Dominante	-0.022 (-0.058; 0.013)	0.218	0.361
DMO-C	0.934 (0.121)	0.924 (0.141)	0.911 (0.099)	Aditivo	-0.011 (-0.044; 0.022)	0.522	0.155
				Recesivo	0.018 (-0.048; 0.083)	0.599	0.275
				Dominante	0.012 (-0.034; 0.058)	0.601	0.226
DMO-TW	0.684 (0.126)	0.688 (0.155)	0.661 (0.105)	Aditivo	-0.008 (-0.043; 0.028)	0.675	0.488
				Recesivo	0.026 (-0.044; 0.095)	0.474	0.318
				Dominante	0.002 (-0.047; 0.051)	0.935	0.781
DMO-T	0.747 (0.108)	0.751 (0.128)	0.745 (0.098)	Aditivo	0.000 (-0.030; 0.030)	0.992	0.615
				Recesivo	0.005 (-0.054; 0.064)	0.874	0.590
				Dominante	-0.003 (-0.044; 0.039)	0.900	0.746
DMO-CF	0.870 (0.108)	0.862 (0.136)	0.844 (0.099)	Aditivo	-0.012 (-0.043; 0.019)	0.443	0.137
				Recesivo	0.022 (-0.039; 0.083)	0.483	0.174
				Dominante	0.013 (-0.031; 0.050)	0.564	0.264
DMO-L1-L4	0.978 (0.142)	1.020 (0.172)	1.004 (0.104)	Aditivo	0.020 (-0.019; 0.060)	0.306	0.531
				Recesivo	-0.003 (-0.081; 0.075)	0.934	0.660
				Dominante	-0.038 (-0.093; 0.016)	0.168	0.241
DMO-L2-L4	0.998 (0.153)	1.040 (0.183)	1.022 (0.110)	Aditivo	0.020 (-0.022; 0.062)	0.354	0.585
				Recesivo	-0.002 (-0.085; 0.082)	0.969	0.660
				Dominante	-0.038 (-0.096; 0.021)	0.203	0.290

P<0.05; DMO-CT= Densidad mineral ósea en cuerpo total, DMO-C= Densidad mineral ósea en cadera total, DMO-CF= Densidad mineral ósea en cuello femoral, DMO-TW =Densidad mineral ósea en triángulo de Wards, DMO-T= Densidad mineral ósea en trocánter, DMO-L1-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L1 a lumbar L4, DMO- L2-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L2 a lumbar L4, DE= Desviación estándar, P_a= valor *p* ajustado por edad, IMC, glucosa.

Con respecto al polimorfismo rs7753676 no se encontró diferencia significativa en ninguna de las variables analizadas en el estudio (tabla XIX). Por otro lado, en la tabla XX se puede observar los resultados del análisis con el polimorfismo rs712219. Se encontró una diferencia significativa en la región de DMO cuerpo total bajo el modelo dominante con una tendencia a baja DMO ($p=0.034$), sin embargo, al ajustar las variables se pierde el valor significativo, esto ocurre también bajo el modelo aditivo sólo que este último no presentó diferencias significativas.

Se muestra en la tabla XXI una asociación significativa del polimorfismo rs851993 para el sitio anatómico de cuerpo total, trocánter, lumbares L1 a L4 y L2 a L4. Bajo el modelo dominante en cuerpo total se observó una fuerte asociación $p_a=0.010$ para el alelo A con una tendencia a baja DMO, en este mismo caso, el modelo aditivo se encontró una diferencia significativa, aunque al ser llevado a cabo el análisis con las covariables se pierde el valor significativo. En el caso de DMO trocánter, se observó una asociación significativa en el modelo dominante $p_a =0.021$ con una tendencia baja DMO para el alelo A. En el área de columna vertebral en la región de la lumbar de L1-L4 existe una fuerte diferencia significativa para el modelo aditivo y dominante; aunque bajo el modelo aditivo se presenta una tendencia a alta DMO para el genotipo GG y en el modelo dominante una tendencia a baja DMO para el genotipo AA con una fuerte asociación significativa $p_a=0.013$ y $p_a=0.015$, respectivamente.

Tabla XLII. Asociación del polimorfismo rs7753676 del gen *C6orf97* con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas

Región	GG (n=26) media (DE) (g/cm ²)	GA (n=59) media (DE) (g/cm ²)	AA (n=38) media (DE) (g/cm ²)	MODELO	β (95% IC)	P	P _a
DMO-CT	1.083 (0.116)	1.050 (0.094)	1.055 (0.095)	Aditivo	0.013 (-0.012; 0.037)	0.315	0.276
				Recesivo	0.005 (-0.033; 0.043)	0.783	0.506
				Dominante	0.032 (-0.011; 0.074)	0.146	0.251
DMO-C	0.952 (0.147)	0.925 (0.119)	0.912 (0.127)	Aditivo	0.019 (-0.012; 0.055)	0.226	0.188
				Recesivo	0.021 (-0.028; 0.069)	0.401	0.169
				Dominante	0.033 (-0.022; 0.087)	0.244	0.459
DMO-TW	0.717 (0.156)	0.680 (0.128)	0.667 (0.133)	Aditivo	0.024 (-0.009; 0.057)	0.158	0.134
				Recesivo	0.025 (-0.027; 0.077)	0.347	0.146
				Dominante	0.042 (-0.017; 0.100)	0.160	0.334
DMO-T	0.767 (0.124)	0.746 (0.105)	0.743 (0.125)	Aditivo	0.011 (-0.017; 0.039)	0.443	0.390
				Recesivo	0.009 (-0.035; 0.053)	0.677	0.398
				Dominante	0.022 (-0.028; 0.072)	0.384	0.587
DMO-CF	0.893 (0.134)	0.859 (0.117)	0.846 (0.116)	Aditivo	0.022 (-0.007; 0.052)	0.137	0.104
				Recesivo	0.023 (-0.023; 0.069)	0.319	0.120
				Dominante	0.039 (-0.013 ; 0.091)	0.142	0.282
DMO-L1-L4	1.002 (0.151)	0.996 (0.162)	1.000 (0.151)	Aditivo	0.000 (-0.038; 0.038)	0.993	0.811
				Recesivo	-0.003 (-0.063; 0.056)	0.920	0.950
				Dominante	0.004 (-0.063; 0.071)	0.898	0.728
DMO-L2-L4	1.024 (0.156)	1.012 (0.176)	1.024 (0.161)	Aditivo	-0.001 (-0.042; 0.040)	0.953	0.759
				Recesivo	-0.009 (-0.072; 0.055)	0.791	0.802
				Dominante	0.007 (-0.065; 0.079)	0.845	0.800

P<0.05; DMO-CT= Densidad mineral ósea en cuerpo total, DMO-C= Densidad mineral ósea en cadera total, DMO-CF= Densidad mineral ósea en cuello femoral, DMO-TW =Densidad mineral ósea en triángulo de Wards, DMO-T= Densidad mineral ósea en trocánter, DMO-L1-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L1 a lumbar L4, DMO- L2-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L2 a lumbar L4, DE= Desviación estándar, P_a= valor *p* ajustado por edad, IMC, glucosa.

Tabla XLIII. Asociación del polimorfismo rs712219 del gen *C6orf97* con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas

Región	CC (n=47) media (DE) (g/cm ²)	CT (n=63) media (DE) (g/cm ²)	TT (n=13) media (DE) (g/cm ²)	MODELO	β (95% IC)	P	P _a
DMO-CT	1.036 (0.098)	1.074 (0.097)	1.077 (0.109)	Aditivo	0.027 (0.000; 0.054)	0.053	0.211
				Recesivo	-0.020 (-0.077; 0.037)	0.497	0.681
				Dominante	-0.039 (-0.074; -0.003)	*0.034	0.059
DMO-C	0.914 (0.136)	0.933 (0.120)	0.945 (0.135)	Aditivo	0.017 (-0.018; 0.052)	0.350	0.944
				Recesivo	-0.020 (-0.093; 0.053)	0.597	0.570
				Dominante	-0.021 (-0.067; 0.025)	0.369	0.658
DMO-TW	0.667 (0.124)	0.694 (0.149)	0.693 (0.118)	Aditivo	0.017 (-0.020; 0.055)	0.363	0.700
				Recesivo	-0.010 (-0.089; 0.068)	0.798	0.457
				Dominante	-0.026 (-0.076; 0.023)	0.299	0.335
DMO-T	0.731 (0.117)	0.760 (0.111)	0.766 (0.129)	Aditivo	0.022 (-0.010; 0.053)	0.176	0.675
				Recesivo	-0.019 (-0.085; 0.047)	0.574	0.550
				Dominante	-0.030 (-0.072; 0.011)	0.152	0.360
DMO-CF	0.852 (0.113)	0.869 (0.126)	0.867 (0.125)	Aditivo	0.011 (-0.022; 0.044)	0.521	0.875
				Recesivo	-0.005 (-0.075; 0.064)	0.876	0.357
				Dominante	-0.017 (-0.060; 0.027)	0.454	0.714
DMO-L1-L4	0.971 (0.137)	1.014 (0.168)	1.025 (0.145)	Aditivo	0.030 (-0.010; 0.075)	0.131	0.298
				Recesivo	-0.029 (-0.118; 0.060)	0.522	0.873
				Dominante	-0.045 (-0.101; 0.011)	0.113	0.212
DMO-L2-L4	0.988 (0.146)	1.035 (0.180)	1.049 (0.158)	Aditivo	0.036 (0.009; 0.081)	0.120	0.267
				Recesivo	-0.034 (-0.129; 0.061)	0.484	0.812
				Dominante	-0.049 (-0.109; 0.011)	0.108	0.197

P<0.05; DMO-CT= Densidad mineral ósea en cuerpo total, DMO-C= Densidad mineral ósea en cadera total, DMO-CF= Densidad mineral ósea en cuello femoral, DMO-TW =Densidad mineral ósea en triángulo de Ward, DMO-T= Densidad mineral ósea en trocánter, DMO-L1-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L1 a lumbar L4, DMO- L2-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L2 a lumbar L4, DE= Desviación estándar, P_a= valor *p* ajustado por edad, IMC, glucosa, *β =tendencia a baja DMO.

Tabla XLIV. Asociación del polimorfismo rs851993 del gen *C6orf97* con densidad mineral ósea en mujeres mexicanas.

Región	AA (n=60) media (DE) (g/cm ²)	AG (n=51) media (DE) (g/cm ²)	GG (n=13) media (DE) (g/cm ²)	MODELO	β (95% IC)	P	P _a
DMO-CT	1.037 (0.100)	1.077 (0.092)	1.092 (0.104)	Aditivo	0.082 (0.006; 0.057)	0.015	0.085
				Recesivo	-0.036 (-0.093; 0.020)	0.207	0.600
				Dominante	-0.043 (-0.077; -0.009)	0.013	*0.010
DMO-C	0.909 (0.137)	0.935 (0.109)	0.969 (0.146)	Aditivo	0.029 (-0.004; 0.062)	0.086	0.360
				Recesivo	-0.048 (-0.121; 0.024)	0.193	0.743
				Dominante	-0.034 (-0.078; 0.011)	0.137	0.164
DMO-TW	0.664 (0.138)	0.695 (0.130)	0.714 (0.154)	Aditivo	0.027 (-0.009; 0.062)	0.142	0.336
				Recesivo	-0.035 (-0.113; 0.043)	0.377	0.562
				Dominante	-0.034 (-0.082; 0.013)	0.158	0.109
DMO-T	0.725 (0.114)	0.770 (0.106)	0.778 (0.139)	Aditivo	0.033 (0.003; 0.063)	0.030	0.134
				Recesivo	-0.032 (-0.098; 0.034)	0.337	0.425
				Dominante	-0.047 (-0.086; -0.007)	0.021	*0.021
DMO-CF	0.851 (0.123)	0.866 (0.110)	0.893 (0.148)	Aditivo	0.019 (-0.013; 0.050)	0.240	0.698
				Recesivo	-0.035 (-0.104; 0.034)	0.322	0.619
				Dominante	-0.021 (-0.063; 0.022)	0.338	0.425
DMO-L1-L4	0.963 (0.146)	1.028 (0.157)	1.046 (0.156)	Aditivo	0.049 (0.009; 0.089)	0.015	**0.047
				Recesivo	-0.053 (-0.141; 0.035)	0.241	0.809
				Dominante	-0.068 (-0.121; -0.015)	0.012	*0.013
DMO-L2-L4	0.981 (0.156)	1.048 (0.168)	1.072 (0.168)	Aditivo	0.053 (-0.010; 0.095)	0.015	**0.045
				Recesivo	-0.060 (-0.154; 0.034)	0.213	0.727
				Dominante	-0.071 (-0.128; -0.015)	0.014	*0.015

P<0.05; DMO-CT= Densidad mineral ósea en cuerpo total, DMO-C= Densidad mineral ósea en cadera total, DMO-CF= Densidad mineral ósea en cuello femoral, DMO-TW =Densidad mineral ósea en triángulo de Wards, DMO-T= Densidad mineral ósea en trocánter, DMO-L1-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L1 a lumbar L4, DMO- L2-L4= Densidad mineral ósea en lumbar L2 a lumbar L4, DE= Desviación estándar, P_a= valor *p* ajustado por edad, IMC, glucosa, * =β tendencia a baja DMO, ** =β tendencia a alta DMO.

10. DISCUSIÓN

La osteoporosis es definida como una enfermedad ósea metabólica que se caracteriza por una disminución en el tejido que forma el hueso, se pierden proteínas y sales minerales que componen la arquitectura ósea; esta pérdida adelgaza las trabéculas del hueso esponjoso y desgasta el grosor del hueso compacto, por lo que el esqueleto se vuelve menos resistente, más frágil y susceptible a fracturas (Erdogan et al., 2011).

Los cambios demográficos actuales en México representan un problema de salud pública para este país; la tasa de crecimiento de la población en el segmento etario de más de 60 años alcanza más de 10 millones de personas y respecto a la expectativa de vida de 74 años ésta impacta en la incidencia de enfermedades relacionadas a la edad tales como la osteoporosis (INEGI, 2011). Esta patología también ha sido reportada principalmente por la relación con el desarrollo de fracturas, puesto que 1 de cada 12 mujeres y 1 de cada 20 hombres sufrirán alguna fractura después de los 50 años, siendo el componente económico el que tendrá más impacto dentro del rubro de atención de salud (Clark, Carlos, & Vázquez-Martínez, 2010; Clark, Tamayo, Cisneros, Rivera, & Valdés, 2013).

Entre los factores que determinan la etiopatogenia de la osteoporosis están la edad, genética, cambios hormonales, menopausia, estilo de vida y hábitos de alimentación (Kanis, 2002) . Al menos un 50 a 80% de las variaciones en la densidad mineral ósea (DMO) se atribuyen a los factores genéticos. Recientemente, estudios muestran la participación de los estrógenos en la homeostasis ósea, siendo el receptor de estrógenos (*ESR1*) un mediador de su funcionalidad. McCauley LK et al. (2003) han mostrado que la eliminación de *ESR1* en ratones exhiben una pérdida ósea severa y en otras investigaciones se han encontrado asociaciones significativas con la DMO (Bi-Hua et al., 2013; Gennari, Becherini, Falchetti, Masi, Massart, & Brandi, 2002).

Por lo anterior, en el presente estudio se analizó la asociación entre cuatro polimorfismos del gen *ESR1* y siete del gen *C6orf97* con la DMO en diferentes regiones anatómicas de mujeres mayores de 40 años originarias de Monterrey Nuevo León y área metropolitana.

La DMO de las mujeres evaluadas, se realizó con el equipo de densitometría dual de rayos X en distintas regiones anatómicas del cuerpo, como cuerpo total, cadera total (que engloba trocánter, triángulo de Ward, cuello femoral), columna vertebral en la región de las lumbares L2-L4. En la tabla XXII se observan los resultados de DMO encontrados en este estudio, los cuales muestran datos similares a los reportados en el centro del país para DMO en cadera total, sin embargo, es menor la DMO en cuello femoral y columna L2-L4 (Rojano-Mejía et al., 2014). Por otro lado, en el estudio de Delezé et al. (2000) los valores de nuestra población son ligeramente menores de acuerdo a lo reportado para la población del norte del país (tabla XXII).

Estos resultados posiblemente han sido afectados por la región de estudio, los factores ambientales, actividad física, alimentación, factores económicos que a través del tiempo ha impactado el estilo de vida de las personas que han marcado un efecto en la salud ósea de la población, además que los sujetos de estudio consideran diferentes rangos de edad por lo que contrasta esta diferencia.

No obstante, se encontró que las participantes tuvieron mayor DMO en cadera total, cuello femoral y columna vertebral que lo reportado en Holanda, Turquía, España y Taiwán. Cabe mencionar que los valores de las distintas poblaciones se ubican en la categoría osteoporosis, excepto Turquía y Holanda en DMO L2-L4 que conserva un valor de osteopenia. Por otro lado, los valores promedio de nuestro estudio para DMO-CT, DMO-C y DMO L2-L4 se encuentran ubicados en la clasificación de osteopenia, aunque la media de DMO-CF, DMO-T, DMO-TW se ubican en osteoporosis con valores muy bajos según la clasificación de la OMS. Respecto a los datos de Rojano Mejía et al.

(2014) sólo cadera total tiene un diagnóstico de osteopenia, cuello femoral y L2-L4 con osteoporosis.

**Tabla XLV. Densidad mineral ósea (g/cm²) en diferentes poblaciones.
(Media \pm DE)**

Referencia	Grupo de estudio	Población	DMO-CT	DMO-C	DMO-CF	DMO-T	DMO-TW	DMO-L2-L4
Nuestro estudio 2014	Mujeres de 40-80 años.	Norte de México	1.058 \pm 0.099	0.925 \pm 0.127	0.862 \pm 0.120	0.749 \pm 0.115	0.682 \pm 0.137	1.018 \pm 0.165
Rojano-Mejía et al., 2014	Mujeres de 44 a 80 años	Mexicana	---	0.914 \pm 0.136	0.742 \pm 0.123	---	---	0.849 \pm 0.139
Delezé et al., 2000	Mujeres de 20 a 90 años	Norte de México	---	---	0.895 \pm 0.140	---	---	1.089 \pm 0.180
		Centro de México	---	---	0.864 \pm 0.140	---	---	1.064 \pm 0.170
		Sur de México	---	---	0.844 \pm 0.140	---	---	1.013 \pm 0.151
Van Meurs J. et al., 2003	Mujeres >50 años	Holanda	---	---	0.800 \pm 0.120	---	1.010 \pm 0.170	
(Kurt, Yilmaz-Aydogan, Uyar, Isbir, Seyhan, & Can, 2012)	Mujeres 40-78 años	Turquía	---	0.870 \pm 0.100	0.810 \pm 0.090	---	---	0.930 \pm 0.120
Bustamante M. et al., 2007	Mujeres >50 años	España	---	---	0.700 \pm 0.100	---	---	0.860 \pm 0.150
Bi-Hue Cheng et al., 2013	Mujeres 45-63 años.	Taiwán	---	0.844 \pm 0.107	0.719 \pm 0.103	---	---	0.676 \pm 0.117

DMO CT= Densidad mineral ósea de cuerpo total; DMO-C= Densidad mineral ósea de cadera total; DMO-CF= Densidad mineral ósea de cuello femoral; DMO-TW =Densidad mineral ósea de triángulo de Ward; DMO-T= Densidad mineral ósea de trocánter; DMO-L2-L4= Densidad mineral ósea de lumbar L2 a lumbar L4; DE= Desviación estándar; g/cm²= gramos sobre centímetros cuadrados.

Se debe tener en cuenta que, en los estudios con los que se ha llevado a cabo la comparación se ha evaluado mujeres en etapa de postmenopausia, por lo que esta característica (postmenopausia) permite encontrar que la DMO esté disminuida, además de otros factores como la etnia y los rangos de edad, pueden contribuir a resultados diferentes, por lo que se hace una consideración especial con los datos manejados.

Previamente estudios de asociación del genoma humano (GWAS) han identificado mutaciones comunes en genes asociados con variaciones en la

DMO; además, resultados de meta-análisis han identificado una serie de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) con efectos significativos tanto en formación como en resorción ósea (Koller et al., 2013).

En la tabla XXIII se muestran las frecuencias alélicas de los polimorfismos de los genes *ESR1* y *C6orf97* encontradas en la población de estudio y se comparan con otras poblaciones. La distribución de los alelos para los polimorfismos tratados en este estudio se reportan como alelos de menor frecuencia (AMF), de los cuales 9 son similares a los esperados para la población (The Short Genetic Variations database (dbSNP)).

Tabla XLVI. Frecuencias alélicas de los polimorfismos de los genes *ESR1* y *C6orf97* en diferentes regiones del mundo.

GEN	SNP	AMF Población mundial	Este estudio	MEX YRI JTP CHBC CEU ASW					
				(%)					
<i>ESR1</i>	rs199985	A= 48	48	50	55	26*	27*	63*	--
	rs3020404	G= 20*	36	--	--	14*	--	32	--
	rs2504063	G= 42	41	40	34	20*	24*	61*	24*
	rs2228480	A= 18	20	26	12	16	14	13	23
<i>C6orf97</i>	rs9479055	A= 38*	55	50	10*	19*	25*	59	22*
	rs4870044	C= 45	56	51	16*	18*	23*	66	36*
	rs851982	C=27	35	28	14*	15*	11*	47	14*
	rs3020331	T= 32	37	28	26	16*	11*	51*	22*
	rs7753676	A= 40*	54	49	20*	20*	27*	58	25*
	rs712219	T= 27	36	28	94*	74*	83*	54*	20*
	rs851993	G= 25	31	23	8*	25	15*	45*	11*
	rs199985	A= 48	48	50	55	26*	27*	63*	--

SNP= Polimorfismo de un solo nucleótido; AMF= Alelo de menor frecuencia; (%)= Valor porcentual; MEX= Mexicana residentes en los Ángeles California; YRI= Yoruba en Ibadán, Nigeria; JTP= Japoneses en Tokio Japón; CHBC= Chinos Han en Beijing, China; CEU= Residentes de Utah con ascendencia del norte y occidente de Europa; ASW= Ascendencia africana en el suroeste; AMF población mundial= dbSNP informa el alelo de menor frecuencia por cada rs incluido en la población mundial. (The Short Genetic Variations database (dbSNP)). *p <0.05.

Se observa también que las frecuencias comparadas con la población mexicana que reside en Los Ángeles mantiene una singular aproximación tanto con el valor esperado de AMF y los datos reportados con las mujeres del norte de México; en tanto, la población de ascendencia europea presenta frecuencias semejantes para los SNPs rs3020404, rs2228480, rs9479055, rs4870044, rs851982 y rs7753676; esta referencia poblacional permite identificar una distribución análoga con la población de ascendencia mexicana y nuestros datos, además de que habla de la ancestría europea de la población mexicana.

En contraste, se muestran datos opuestos respecto a las poblaciones de descendencia asiática y africana, éstas permanecen semejantes entre sí, como lo son Nigeria, Japón y China (CHBC, ASW y YRI). Cabe señalar que estos resultados analizan a la población en general y nuestros datos un grupo específico de edad y género, por lo que es posible un sesgo en los resultados y se considera con cautela la información (Applied Biosystem, 2014; (The Short Genetic Variations database (dbSNP))).

Un gran número de polimorfismos del gen *ESR1* han sido investigados en diversas poblaciones, algunos de ellos han estado ampliamente presente en estudios de asociación de regulación genética de la DMO, éste es el caso de los SNPs definidos por las enzimas de restricción *PvuII* y *XbaI*; sin embargo, el número limitado en el tamaño de la muestra o las diferencias étnicas, generan resultados inconsistentes que permiten seguir con la búsqueda de otros polimorfismos para complementar el mapeo genético de la osteoporosis (Wang, Tang, Chen, Su, Zhang, & Chen, 2007). Por lo que encontramos cientos de estudios que han examinado una diversa serie de polimorfismos y su efecto fenotípico que provee de oportunidades de descubrir otras variantes alélicas que complemente la investigación que se ha realizado hasta el presente día sobre el gen *ESR1* con la densidad mineral ósea.

En nuestro estudio, el análisis de la asociación de la DMO y los polimorfismos de los genes *ESR1* y *C6orf97* realizados con un modelo de regresión lineal, se encontró una asociación altamente significativa con cinco

variantes alélicas (rs1999805, rs2504063, rs4870044, rs851982 y rs851993) en las mujeres mayores de 40 años, dicha asociación se mantuvo aún con el ajuste de las variables peso, índice de masa corporal, edad y glucosa sérica. Los resultados muestran una tendencia a la disminución de la DMO con el alelo recesivo en las regiones cuerpo total, cadera, trocánter y columna vertebral en la región lumbar de L1 a L4 y L2 a L4.

En sujetos blancos de Estados Unidos, se hizo un estudio de asociación como los realizados en Islandia y Reino Unido; se encontró una asociación significativa para los polimorfismos rs3020331 del gen *ESR1* y el rs4870044 del *C6orf97* con DMO para la región de columna anteroposterior (Zhang et al., 2010), estos datos coinciden con los replicados para la población de Islandia (Styrkarsdottir et al. 2008); en tanto, en nuestro estudio el SNP rs4870044 presenta una asociación opuesta, es decir, el alelo T bajo el modelo recesivo, mantiene una tendencia al incremento de la DMO ($p=0.038$), considerándose alelo protector contra baja DMO para la región de cuello femoral; en el caso de la variante rs3020331 no se encontró relación alguna con las diferentes áreas analizadas en nuestro estudio.

Los SNP rs4870044 y rs851982 formaron parte de otro estudio de asociación del genoma completo; Styrkarsdottir et al. (2008) expone los resultados de asociaciones con la DMO en espina lumbar, estos datos se replicaron en una cohorte de población islandesa pero se perdió la asociación encontrada en el GWAS. Por otro lado, el rs4870044 se asoció con DMO en cadera total con el alelo T en el estudio de GWAS, se replicaron los datos en la población danesa y australiana, conservando los valores significativos; este SNP afecta la regulación de la transcripción por su posición dentro del gen, es por ello, que su asociación está presente en la mayoría de los estudios (Styrkarsdottir et al., 2008). De acuerdo con nuestros resultados el rs851982 revela una relación con DMO en cuerpo total bajo el modelo dominante, siendo el homocigoto TT un genotipo de riesgo que afecta la DMO con una tendencia a

menor mineralización en el hueso. Este hallazgo sugiere que este genotipo podría afectar la DMO en caso de estar presente en la población.

En contraste, en un meta-análisis reportado por Koller et al. (2013), se encontró una asociación estadísticamente significativa para el SNP rs4870044 en la región de columna anteroposterior de L2 -L4 con una tendencia a baja DMO el cual afecta la densidad ósea provocando un disminución en la mineralización del hueso, esta evidencia se limita a la población caucásica de mujeres entre 20 y 45 años; en contraste, datos reportados en la población china muestran una asociación significativa con cadera total bajo el modelo dominante en el grupo homocigoto CC afectado la DMO pues presenta una tendencia baja DMO (Luo et al., 2014). Ambos resultados sugieren diferencias de asociación entre las diferentes regiones evaluadas y el polimorfismo, hablando particularmente del rs4870044, estos resultados denota un contraste entre los grupo étnicos, donde el papel que desempeñan las variaciones de la DMO tiene distintos efectos según la población; en tanto, en la mujeres mexicanas con la relación SNP-DMO manifiestan un beneficio en la formación ósea, pues la asociación tiende al incremento de la DMO, encontrando este polimorfismo como una variante protectora ósea.

Otro polimorfismo que tiene un papel importante en la variación de la DMO es el rs1999805, el cual en este estudio arroja datos interesantes; se presenta una fuerte asociación estadísticamente significativa con la DMO en cuerpo total, cuello femoral y columna anteroposterior en las lumbares L1 a L4 y L2 a L4 bajo los modelos aditivo y recesivo, señalando que el genotipo homocigoto AA tiende a una disminución en la DMO en cuerpo total, columna anteroposterior L1 a L4 y por el contrario, para la DMO L2-L4 la presencia del genotipo homocigoto GG bajo el modelo aditivo contribuye a un aumento de la DMO y bajo el modelo recesivo con el genotipo homocigoto AA tiende a una baja masa ósea; de igual manera, en la región de cuello femoral al tener presente el modelo dominante con el genotipo homocigoto AA se manifiesta una tendencia al aumento de la DMO, por lo que la presencia del alelo G se podría considerar una alelo

protector contra baja DMO para columna y la presencia del alelo A protector para la región de cuello femoral (véase tabla XXIV para valor p de significancia). Los datos de ésta investigación no coinciden con los reportados en el estudio de mujeres postmenopáusicas de China, puesto que Luo et al. (2014) reportan la nula asociación en las regiones evaluadas (columna, cuello femoral y cadera) y solamente encontraron una tendencia y susceptibilidad al desarrollo de fractura en columna anteroposterior L4-L5 bajo el modelo recesivo. Estos descubrimientos sugieren el rol que enmarca la diferencia entre las razas evaluadas así como el estado fisiológico de postmenopausia.

Tabla XLVII. Resumen de resultados, asociación las variantes alélicas del gen *ESR1* con densidad mineral ósea.

Gen	SNP	Región	Modelo de herencia	Genotipo	Valor P	Tendencia en DMO
<i>ESR1</i>	rs1999805	DMO cuerpo total	Aditivo	AA	$p=0.016$	baja DMO
			Recesivo	AA	$p=0.015$	baja DMO
		DMO cuello femoral	Dominante	AA	$p=0.002$	alta DMO
		DMO L1-L4	Aditivo	AA	$p=0.025$	baja DMO
			Recesivo	AA	$p=0.015$	baja DMO
		DMO L2-L4	Aditivo	GG	$p=0.017$	alta DMO
			Recesivo	AA	$p=0.027$	baja DMO
	rs2504063	DMO cuerpo total	Aditivo	GG	$p=0.044$	alta DMO
			Dominante	AA	$p=0.020$	baja DMO
		DMO L1-L4	Aditivo	GG	$p=0.021$	alta DMO
		Dominante	AA	$p=0.017$	baja DMO	
DMO L2-L4		Aditivo	GG	$p=0.018$	alta DMO	
		Dominante	AA	$p=0.015$	baja DMO	
	rs4870044	DMO cuello femoral	Recesivo	TT	$p=0.038$	alta DMO
<i>C6orf97</i>	rs851982	DMO cuerpo total	Dominante	TT	$p=0.020$	baja DMO
	rs851993	DMO cadera total	Dominante	AA	$p=0.010$	baja DMO
		DMO trocánter	Dominante	AA	$p=0.021$	baja DMO
		DMO L1-L4	Aditivo	GG	$p=0.047$	alta DMO
			Dominante	AA	$p=0.013$	baja DMO
		DMO L2-L4	Aditivo	GG	$p=0.045$	alta DMO
		Dominante	AA	$p=0.015$	baja DMO	

Diferencia estadísticamente significativa $P<0.05$

Dentro de los hallazgos referidos por Styrkarsdottir et al. (2008) en su estudio de asociación del genoma completo y los estudios de otras cortes de la población de Islandia, Dinamarca, Australia, así como un análisis que combina los resultados de Dinamarca y Australia, se encontró que el rs1999805 tuvo

una repetida asociación tanto en espina lumbar como en cadera en la presencia del alelo C con una tendencia a baja DMO en las poblaciones mencionadas y mantiene la asociación en el estudio de análisis combinado Dinamarca-Australia.

Por otra parte, el rs1999805 se estudió en la población europea masculina (Holliday et al., 2011), se llevó a cabo un análisis genético en hombres de 40 a 79 años, encontrando que varios SNPs del gen *ESR1* se asociaron con DMO, entre ellos el rs1999805, este SNP se asoció con una baja DMO en cadera como en espina lumbar L1-L4 en los sujetos homocigotos con el alelo de menor frecuencia (CC), estos datos mantuvieron el poder estadístico aún con el ajuste de variables, en este aspecto, el gen *ESR1* podría tener un impacto considerable en la osteoporosis tanto en mujeres como en hombres, pues el efecto genético que desarrolla este polimorfismo se encuentra en ambos géneros y la asociación es más significativa a partir de los 40 años de edad (Holliday et al., 2011).

En el meta-análisis realizado por Rivadeneira et al. (2009) se evaluaron cinco estudios del genoma humano que reportan la asociación de la densidad mineral ósea en columna anteroposterior y cuello femoral a nivel de genoma completo; ellos encontraron una asociación con la variación de la DMO en las regiones valoradas para el rs2504063, esta asociación tiende a un cambio fenotípico que afecta la mineralización del hueso en la presencia del alelo A.

En el estudio de Styrkarsdottir et al. (2008) que se ha mencionado anteriormente, se arrojan datos de la asociación significativa del rs2504063 en el estudio del genoma completo mostrando una relación con la DMO de columna ap; sin embargo, no hay relación alguna con la región de cadera total y al ser replicada la información en islandeses, daneses y australianos se pierde la asociación estadística en las mediciones evaluadas (Styrkarsdottir et al. 2008). En cambio, en nuestro estudio se reporta una fuerte asociación de este SNP con la región de cuerpo total y espina lumbar L1-L4 y L2-L4; de acuerdo a estos datos, las mujeres que poseen el genotipo GG (y bajo el modelo aditivo)

tendrían ventajas ya que este genotipo favorece a ganancia de masa ósea pues su presencia tiende al aumento de la DMO; en cambio, bajo el modelo dominante presente en todos los casos con el genotipo AA se convierte en un factor de riesgo que conduce a una disminución de la DMO. Estudios previos han sugerido que el *ESR1* podría tener un efecto benéfico sobre la DMO en etapa de adulto joven pero el efecto se pierde tras la menopausia, lo que podría afectar seriamente a esta población (Wang, Tang, Chen, Su, Zhang, & Chen, 2007).

En nuestro estudio, el resto de las variantes alélicas de los SNPs analizados no muestran una asociación significativa bajo ningún modelo de heredabilidad; aun así, existen ciertas regiones con variaciones en la DMO y con tendencias a un incremento o disminución de la misma. No obstante, existen otras investigaciones también han proporcionado información sobre las variaciones de otros polimorfismos y la DMO, así como su efecto y su participación en el metabolismo mineral del hueso (Gómez et al., 2007; Liu et al., 2010; Luo et al., 2014).

Cierto es, que los estudios de asociación del genoma humano han identificado en el cromosoma 6 en la posición 6q25 a los genes *ESR1* y *C6orf97* como dos locus que enmarcan la relación de la densidad mineral ósea, principalmente en dos áreas, columna anteroposterior en la región lumbar y cadera total, posicionándose como genes candidatos de osteoporosis. Es imperativo que en futuros estudios se considere un tamaño de muestra representativo para la población mexicana, el cual proporcione mayor poder estadístico a los resultados obtenidos, además de llevar a cabo réplicas con estudios de asociación para los polimorfismos analizados en otras poblaciones del mundo como en el país mismo.

11. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados anteriores, en este estudio se establecen las siguientes conclusiones:

- Los valores de la densidad mineral ósea en mujeres adultas reportados en este trabajo podrán ser utilizadas como determinantes del estado de salud actual con la finalidad de implementar acciones preventivas al desarrollo de la osteoporosis.
- Es el primer estudio que reporta la frecuencia de genotipos y alelos de los polimorfismos de los genes *ESR1* y *C6orf97* en mujeres del norte de México.
- Es el primer reporte de asociación de los polimorfismos de los genes *ESR1* y *C6orf97* y la densidad mineral ósea en la población femenina de Monterrey y el área metropolitana en Nuevo León.
- Las asociaciones que se encontraron fueron de los SNPs rs851982, rs851993, rs2504063 y rs1999805 con DMO en cuerpo total, cuello femoral trocánter y columna anteroposterior en las lumbares L1-L4 y L2-L4 y proporcionan datos que identifican los genotipos y modelos de herencia, así como las variaciones a alta y baja la DMO en la población de mujeres adultas del norte del país.
- Los polimorfismos rs851982, rs4870044, rs851993, rs2504063 y rs1999805 posiblemente sean un indicador genético de la fragilidad ósea en mujeres adultas del norte del país.
- El presente estudio servirá como referencia para estudios posteriores o de replicación del gen *ESR1* y *C6orf97* con patologías relacionadas con el metabolismo óseo.

12. LITERATURA CITADA

1. Almeida, M., Iyer, S., Martin-Millan, M., Bartell, S. M., Han, L., Ambrogini, E., y otros. (2013). Estrogen receptor-alpha signaling in osteoblast progenitors stimulates cortical bone accrual. *The Journal of Clinical Investigation*, 123(1), 394-404.
2. Applied Biosystems. (2010). Applied Biosystems StepOne Real-Time PCR System. Recuperado el 21 de 02 de 2014, de Experimentos de Curva Estándar:
http://tools.lifetechnologies.com/content/sfs/manuals/cms_053208.pdf
3. Applied Biosystems. (2014). Thermo Fisher Scientific Completes Acquisition of Life Technologies. Recuperado el 20 de 02 de 2014, de <http://www.lifetechnologies.com/mx/es/home.html>
4. Arden, N., Baker, J., Hogg, C., Baan, K., & Spector, T. (April de 1996). The Heritability of Bone Mineral Density, Ultrasound of the Calcaneus and Hip Axis Length: a Study of Postmenopausal Twins. *Journal Bone Mineral Reserch*, 11(4), 530-534.
5. Bi-Hua, C., Tzu-Hao, W., Hong-Yo, K., Ying-Chu, L., Chun-Chen, H., Te-Yao, H., et al. (2013). Association between single nucleotide polymorphisms of the estrogen receptor 1 and receptor activator of nuclear factor kappa B ligand genes and bone mineral density in postmenopausal Taiwanese. *Taiwanese Journal of Ostetrics & Gynecology.*, 52, 197-203.
6. Bilbao, N. J., Sánchez-A, C., & Gil-Antuñano, P. (2011). Regulación del metabolismo óseo a través del sistema Rank-Rankl-OPG. *Osteoporosis Metabolismo Mineral*, 3(2), 105-112.
7. Björnstrom , L., & Sjöberg, M. (2005). Mechanisms of Estrogen Receptor Signaling: Convergence of genomic and nongenomic actions. *Molecular endocrinology*, 19(4), 833-842.
8. Börjesson, A. (2013). The role of estrogen receptor alpha in the regulation of bone and growth plate cartilage. Centre for Bone and Arthritis Research

- Institute of Medicine at Sahlgrenska Academy University of Gothenburg, Gothenburg Sweden. Gothenburg: University of Gothenburg.
9. Börjesson, A. E., Windahl, S. H., Lagerquist, M. K., Engdahl, C., Frenkel, B., Movérare-Skrtic, S., y otros. (2011). Roles of transactivating functions 1 and 2 of estrogen receptor- α in bone. *PNAS*, 108(15), 6288-6293.
 10. Castelo-Braco Flores, C., & Haya-Palazuelos, F. J. (2009). *Osteoporosis y Menopausia (2a ed.)*. Buenos Aires, Madrid: Médica Panamericana.
 11. Chokalingam, K. (2012). Examination of ER α signaling pathways in bone of mutant mouse models reveals the importance of ERE dependent signaling. *Endocrinology*, 153, 5325-5333.
 12. Clark, P., Carlos, F., & Vazquez-Martínez, J. (2010). Epidemiology, costs and burden of osteoporosis in Mexico. *Archives of osteoporosis*, 5, 9-17.
 13. Clark, P., Cons-Molina, F., Deleze, M., Ragi, S., Haddock, L., Zancheta, J. R., y otros. (2008). The prevalence of radiografic vertebral fractures in Latin American countries: the Latin American Vertebral Osteoporosis Study (LAVOS). *Osteoporosis International*, 1-8.
 14. Clark, P., Tamayo, J. A., Cisneros, F., Rivera, F. C., & Valdés, M. (2013). Epidemiology of osteoporosis in Mexico. Present and future directions. *Revista de Investigación Clínica*, 65(2), 183-191.
 15. Cole, R. E. (2008). Improving Clinical Decisions for Women at Risk of Osteoporosis: Dual-Femur Bone Mineral Density Testing. *The Journal of the American Osteopathic Association*, 108(6), 289-295.
 16. Coronado-H., M., Vega y León, S., Gutiérrez-T., R., Pérez-G., J., & Peláez-M., K. (Diciembre de 2011). Nutrigenética aplicada: Dieta personalizada y Formación académica para la práctica profesional. *Revista Chilena de Nutrición*, 38(4), 492-500.
 17. Consensus Development Center. (1993). Diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *American Journal of Medicine*, 646-450.
 18. Cossette-Díaz, S., Navarro-Despaigne, D., Santana-Pérez, F., Domínguez-Alonso, E., & Bacallao-Gallestey, J. (2013). Factores de riesgo modificables

- o no, relacionados con la densidad mineral ósea en mujeres de edad mediana. *Revista Cubana de Endocrinología*, 23(1), 44-55.
19. Costa, J. (2004). Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real. *Enfermedades Infecciones y Microbiología Clínica*, 22(5), 299-305.
 20. Cui, J., Shen, Y., & Li, R. (2013). Estrogen synthesis and signaling pathways during ageing: from periphery to brain. *Trends in Molecular Medicine*, 19(3), 197-209.
 21. De Lago-Acosta, A., Parada-Tapia, M. G., & Somera-Iturbide, J. (2008). Prevalencia de osteoporosis en población abierta de la Ciudad de México. *Ginecología y Obstetricia de México*, 76(5), 261-266.
 22. Delezé, M., Cons-Molina, F., Villa, A. R., Morales-Torres, J., Gonzalez-Gonzalez, J. G., Calva, J. J., et al. (2000). Geographical difference in bone mineral density of Mexican women. *Osteoporosis International*, 11, 562-569.
 23. Efstathiadou, Z., Tsatsoulis, A., & Loannidis, A. (2001). Association of Collagen I alpha 1 Ssp1 Polymorphism with the Risk of Prevalence fracture: a Meta-analysis. *Journal of Mineral Research*, 16(9), 1586-1592.
 24. Eichner, J. E., Friedrich, C. A., Cauley, J. A., Kamboh, M. I., Gutai, J. P., Kuller, L. H., y otros. (Dec de 1990). Alpha 2-HS Glycoprotein Phenotypes and Quantitative Hormone and Bone Measures in Postmenopausal women. *Calcif Tissue Int*, 47(6), 345-349.
 25. E-Lane, N. (2011). Osteoporosis: yesterday, today and tomorrow. *Rheumatology*, 1181-1183.
 26. Erdogan, M., Yildiz, H., Artan, S., Solak, M., Tascioglu, F., Dündar, Ü., et al. (2011). Association of estrogen receptor alpha and collagen type I alpha 1 gene polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women. *Osteoporosis International*, 22, 1219-1225.
 27. Escalante-García, N. E. (2012). Asociación de los polimorfismos Bsm1, Taq1 y Cdx2 del gen VDR con la densidad mineral ósea, consumo de calcio y riesgo a fracturas en mujeres en etapa de pre y posmenopausia. Monterrey.
 28. Fitzgerald, R. H., Kaufer, H., & Malkini, A. L. (2004). *Ortopedia* (2a ed.). Buenos Aires: Médica Panamericana.

29. Fonseca-Mendoza, D., Mateus-Arbelaez, H., & Contreras-Bravo, N. (2010). Prácticas de laboratorio de biología molecular: su aplicación en genética básica. Colombia: Colección Lecciones, Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud.
30. Gennari, L., Becherini, L., Falchetti, A., Masi, L., Massart, F., & Brandi, M. L. (2002). Genetics of osteoporosis: role of steroid hormone receptor gene polymorphisms. *The Journal Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 81, 1-24.
31. Gennari, L., Merlotti, D., De Paola, A., Calabrò, A., Becherini, L., Martini, G., y otros. (2005). Estrogen Receptor Gene Polymorphisms and the Genetics of Osteoporosis: a HuGe Review. *American Journal of Epidemiology*, 161(4), 307-320.
32. Genome Bioinformatics Group of UC Santa Cruz. (02 de 2009). UCSC Genome Browser Mirror. Recuperado el 23 de 09 de 2014, de Genetics and Genomics Analysis Platform: http://ucscbrowser.genap.ca/cgi-bin/hgGateway?hgsid=6989_rcRoiqtYoU8R124Q8tUiMyUMADtc
33. Gómez-de-la-Garza, M. (2013). Desarrollo y validación de una ecuación antropométrica para estimar la masa apendicular muscular utilizando como referencia la absorciometría dual de rayos X en adultos mayores. Tesis de maestría no publicada. Facultad de Salud Pública y Nutrición. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey.
34. Gómez, R., Magaña, J., Cisneros, B., Pérez-Salazar, E., Faugeron, S., Véliz, D., y otros. (2007). Association of the estrogen receptor alpha gene polymorphisms with osteoporosis in the Mexican population. *Clinical Genetics*, 72, 574-581.
35. Gutiérrez, J., Rivera-Dommarco, J., Shamah-Levy, T., Villalpando-hernández, S., Franco, A., Cuevas-Nasau, L., et al. (2012). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública.

36. Hak, A., Polderman, K., Westendorp, I., Jakobs, C., Hofman, A., Witteman, J., et al. (2000). Increased plasma homocysteine after menopause. *Atherosclerosis*, 163-168.
37. Harris, S. T., Jaffe, R. B., & Shocack, D. (2006). La menopausia y la pérdida de masa ósea. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91(3), 1.
38. Heldring, N., Pike, A., Andersson, S., Matthews, J., Cheng, G., Hartman, J., y otros. (2007). Estrogen Receptors: How Do They Signal and What Are Their Targets. *The American Physiological Society*, 87, 905-931.
39. Holliday, K., Pye, S., Thomson, W., Boonen, S., Borghs, H., Vanderschueren, D., y otros. (2011). The ESR1 (6q25) locus is associated with calcaneal ultrasound parameters and radial volumetric bone mineral density in European men. *Plos One*, 6(7), 1-9.
40. Hosoi, T. (2010). Genetic aspect of osteoporosis. *Journal Bone Mineral Metabolism*, 601-607.
41. Hough, S., Ascott-Evans, B., Cassim, B., De Villiers, T., Lipschitz, S., Pettifor, J., y otros. (2010). NOFSA Guideline for the Diagnosis and Management of Osteoporosis. *Journal of Endocrinology, Metabolism and Diabetes of South African*, 15(3), 1-187.
42. Ibáñez-Bosch, R. (2003). Técnicas de medida de densidad mineral ósea. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 26(3), 19-27.
43. Imai, Y., Kondoh, S., Kouzmenko, A., & Kato, S. (2010). Minireview: osteoprotective action of estrogens is mediated by osteoclastic estrogen receptor alpha. *Molecular Endocrinology*, 24(5), 877-885.
44. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática [INEGI]. (2003-2010). Recuperado el 2012, de XII Censo general de población y vivienda : <http://e-salud.e-mexico.gob.mx>
45. INEGI. (03 de 03 de 2011). Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Recuperado el 19 de 09 de 2014, de Distribución por edad y sexo.: <http://www3.inegi.org.mx/Sistemas/temas/Default.aspx?s=est&c=17484>.

46. Iniesta, R., Guinó, E., & Moreno, V. (2005). Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gaceta Sanitaria*, 19(4), 333-341.
47. IOF. (2011). International Osteoporosis Foundation IOF. Recuperado el 28 de 02 de 2013, de Epidemiología de la Osteoporosis: <http://www.iofbonehealth.org/epidemiology>
48. IOF, International Osteoporosis Foundation. (2012). AUDITORÍA REGIONAL DE AMÉRICA LATINA. Epidemiología, costos e impacto de la osteoporosis en 2012. Recuperado el 1 de 12 de 2012, de http://osteoporosisinlatinamerica.com/es/wp-content/uploads/2012/05/LA_Audit_final-ES.pdf
49. Jorna Calixto, A. R., & Véliz Martínez, P. L. (2010). Impacto de la osteoporosis en el desarrollo social. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 694-705.
50. Kanis, J. A. (2002). Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet*, 359(9321), 1929-1936.
51. Khosla, S., Riggs, L., Atkinson, E. J., Oberg, A. L., Mavilia, C., Del Monte, F., y otros. (2004). Relationship of Estrogen Receptor Genotypes to Bone Mineral Density and to Rates of Bone Loss in Men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(4), 1808-1816.
52. Koller, D. L., Zheng, H.-F., Karasik, D., Yerges-Armstrong, L., Liu, C.-T., McGuigan, F., y otros. (2013). Meta-Analysis of Genome-wide studies identifies WNT16 and ESR1 SNPs Associated with bone mineral density in premenopausal women. *Journal of Bone and Mineral Research*, 28(3), 547-558.
53. Krall, E. A., & Dawson-Hughes, B. (1993). Heritable and life-style determinants of bone mineral density. *Journal of Bone and Mineral Research*, 1-9.
54. Kumar, V., Green, S., Stack, G., Berry, M., Jin, J.-R., & Chambon, P. (1987). Functional domains of the human estrogen receptor. *Cell*, 51, 941-951.

55. Leib, E., Lewieck, E., Binkley, N., & Hamdy, R. (2004). Official positions of the International Society for Clinical Densitometry. *Journal of Clinical Densitometry*, 7(1), 1-6.
56. Lejona, S., Silvina, B., Fay, F., & Fay, O. (2006). Avances en el Diagnóstico Molecular: reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real. *Anuario Fundación Dr. J. R. Villavicencio*, XIV, 033-037.
57. Liu, J.-m., Zhang, M.-j., Zhao, L., Cui, B., Li, Z.-b., Zhao, H.-y., et al. (2010). Analysis of recently identified osteoporosis susceptibility genes in Han chinese women. *The Journal of clinical endocrinology & metabolism*, 9, E112-120.
58. Lorete-Ramos, R., Azpeitia-Armán, J., Árevalo-Galeano, N., Muñoz-Hernández, A., García-Gómez, J., & Gredilla-Moliner, J. (2012). Absorciometría con rayos X de doble energía. *Fundamentos, metodología y aplicaciones clínicas. Radiología*, 1-14.
59. Luo, L., Xia, W., Nie, M., Sun, Y., Jiang, Y., Zhao, J., y otros. (2014). Association of ESR1 and C6orf07 gene polymorphism with osteoporosis in postmenopausal women. *Molecular Biology Reports*, 41, 3235-3243.
60. McCauley, L., Tözüm, T., Kozloff, K., Koh-Paige, A., Chen, C., Demashkieh, M., y otros. (2003). Transgenic models of metabolic bone disease: impact of estrogen receptor deficiency on skeletal metabolism. *Connect Tissue Research*, 44(1), 250-263.
61. Määttä, J. A., Büki, K. G., Alanne, M. H., Vääräniemi, J., Liljenbäck, H., Pountanen, M., y otros. (2013). Inactivation of estrogen receptor alpha in bone-forming cells induces bone loss in female mice. *Journal FASEB*, 27(2), 478-488.
62. Manolagas, S. C. (2000). Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocrinology*, 21, 115-137.
63. Márquez, D. C. (2010). Receptor de estrógenos: bases moleculares aplicadas a medicina. Los Angeles.

64. Martín-Millan, M., Almeida, M., Ambrogini, E., Han, L., Zhao, H., Weinstein, R. S., y otros. (2010). The estrogen receptor alpha in osteoclasts mediates the protective effects of estrogens on cancellous but not cortical bone. *Molecular Endocrinology*, 24(2), 323-334.
65. Massé, G. P., Dosy, J., Jougleux, J.-L., Caissie, M., & Howell, D. S. (2005). Bone Mineral Density and Metabolism at an Early Stage of Menopause When Estrogen and Calcium Supplement Are Not Used and without the Interference of Major Confounding Variables. *Journal of the American College of Nutrition*, 354-360.
66. Mendoza- García, M. E., & Tapia-Colocía, G. (2010). Situación Demográfica de México 1910-2010. Recuperado el 12 de 12 de 2012, de UNFPA México: http://www.unfpa.org.mx/publicaciones/cuadro_4.pdf
67. Mendoza, N., Morón, F., & Santalla, Á. (2008). Genética de la Osteoporosis Postmenopáusica: Nuevos conocimientos y nuevos conceptos sobre su relación con los polimorfismos genéticos en la ruta estrogénica. *Revista Española de Enfermedades Metabólicas Óseas*, 17(5), 106-111.
68. Merí-Vived, A. (2005). *Fundamentos de fisiología, de la actividad física y el deporte*. Madrid: Ed. Médica Panamericana.
69. National Center for Biotechnology Information [NCBI]. (06 de 04 de 1986). OMIM® - Online Mendelian Inheritance in Man. Recuperado el 01 de 03 de 2014, de <http://omim.org/entry/133430>
70. National Osteoporosis Foundation, N. (2008). Osteoporosis. Bone Density. Recuperado el 29 de 05 de 2013, de <http://web.archive.org/web/20080307014020/http://www.nof.org/osteoporosis/bonemass.htm>
71. Noriega-Reyes, M. Y., & Langley-McCarron, E. (2008). Correguladores del receptor de estrogénos y su implicación en el cáncer mamario. *Cancerología*, 3, 29-40.
72. Norma, A., & Collins, E. (1994). Correlation Between Vitamin D Receptor Allele and Bone Mineral Density. *Nut Rev*, 52(4), 147-149.

73. Norton, K., Whittingham, N., Carter, L., Kerr, D., Gore, C., & Marfell-Jones, M. (1996). Técnicas de Medición en Antropometría. En K. Norton, & T. Olds, Antropometrica (págs. 23-60). Australia: Dbooks, Adelaide.
74. OMS, O. M. (1994). Evaluación del riesgo de fractura y su aplicación en la detección de la osteoporosis postmenopausica. Ginebra: Grupo de Estudios de la OMS.
75. OMS, W. H. (2013). World Health Organization. Recuperado el 28 de 04 de 2013, de Estilo de vida saludable. Índice de masa corporal IMC: <http://www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/disease-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle/body-mass-index-bmi>
76. Padierna-Luna, J.-L. (2008). Factores de riesgo y prevalencia de osteoporosis. Estudio por ultrasonometría del calcáneo. Medicina Interna de México, 24(4), 278-283.
77. Peacock, M., Turner, C. H., Econs, M. J., & Foroud, T. (1 de June de 2002). Genetics of Osteoporosis. Endocrine Review, 23(3), 303-326.
78. Picotto, G., Pérez, A., Díaz de Barboza, G., & Talosa de Talamoni, N. (2007). Genes candidatos asociados a la osteoporosis. Actualizaciones en Osteología, 3(2), 90-95.
79. Puerta-B., C., & Urueña-P., C. P. (2005). Prácticas de Biología Molecular. Colombia: Pontificia Universidad Javeriana.
80. Riancho-Moral, J., & González-Macías, J. (2004). Manual práctico de osteoporosis y enfermedades del metabolismo mineral. Madrid: Jarpyo.
81. Richards, J. B., Rivadeneira, F., Inouye, M., Pastinen, T. M., Soranzo, N., Wilson, S. G., et al. (2008). Bone mineral density, osteoporosis and osteoporotic fractures: a genome-wide association study. Lancet, 1505-1512.
82. Riera-Espinoza, G. (2009). Epidemiology of osteoporosis in Latin America 2008. Salud Pública de México, S52-S55.
83. Riggs, B. (2000). The mechanisms of estrogen regulation of bone resorption. The Journal of Clinical Investigation, 106(10), 1203-1204.
84. Rivadeneira, F., Styrkársdóttir, U., Estrada, K., Halldórsson, B., Hsu, Y.-H., Richards, B., et al. (2009). Twenty bone mineral density loci identified by

- large scale meta analysis of genome wide associations studies. *Nature genetics*, 1-9.
85. Rojano-Mejía, D., Coral-Vázquez, R., Coronel, A., Cortes-Espinosa, L., Aguirre-García, M., Valencia-Villalvazo, E. Y., y otros. (2014). Relation of the estrogen receptor and vitamin D receptor polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal Mexican-mestizo women. *Gene*, 537, 10-14.
 86. Romera, M., Carbonell, C., & Lafuente, A. (2002). Osteoporosis: factores de riesgo y densitometría ósea. *Medica Clínica*, 118(8), 118-319.
 87. Ross, M. H., & Pawlina, W. (2008). *Histología. Texto y Atlas color con Biología celular y Molecular*. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana.
 88. Sambrook, J., & Russell, D. (2001). *A Molecular Cloning Manual (Tercera ed.)*. NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
 89. Schurman, L., Bagur, A., Claus-Hermsberg, H., Messina, O. D., Negri, A. L., Sánchez, A., y otros. (2013). Guías 2012 para el diagnóstico, la prevención y tratamiento de la osteoporosis. *Medicina (Buenos Aires)*, 73, 55-75.
 90. Secretaria de Salud, S. (Febrero de 1983). Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud. Recuperado el 10 de 03 de 2013, de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/rlgsmis.html>
 91. Sociedad Española de Reumatología, S. (2010). *Manual de Enfermedades Ósea (Segunda ed.)*. España: Médica Panamericana.
 92. Styrkarsdottir, U., Halldorsson, B., Gretarsdottir, S., Guadbjartsoon, D., Walters, B., Ingvarsson, T., y otros. (2008). Multiple genetic loci for bone mineral density and fractures. *The New England Journal of Medicine*, 2355-2365.
 93. Sudan, T. (1999). Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocrinology*, 20, 345-357.
 94. Talbot, J. R. (2001). *Osteoporosis: Fisiopatología, diagnóstico, prevención y tratamiento*. Madrid, España: Médica Panamericana.
 95. The Short Genetic Variations database (dbSNP). (s.f.). The Short Genetic Variations database (dbSNP). Recuperado el 27 de 09 de 2014, de National

- Center for Biotechnology Information. National Library of Medicine:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>
96. Törrönen, R., Kolehmainen, M., & Poutanen, K. (2006). Nutrigenomics, new approaches for nutrition, food and health research. Food and Health Research Centre, 1-43.
 97. Turner, R. T., Lawrence-Riggs, B., & Spelsberg, T. C. (1994). Skeletal Effects of Estrogen. *Endocrine Reviews*, 15(3), 275-300.
 98. Uitterlinden, A. G., Ralston, S., Brandi, M. L., Carey, A., Grinberg, D., & Langdahl, B. L. (2006). The Association Between Common Vitamin D Receptor Gene Variations and Osteoporosis: a Participant-Level Meta-Analysis. *Annals of Internal Medicine*, 145(4), 255-264.
 99. Van Meurs, J. B., Schuit, S. C., Weel, A. E., Van der Klift, M., Bergink, A. P., Arp, P. P., y otros. (2003). Association of 5' estrogen receptor alpha gene polymorphisms with bone mineral density, vertebral bone area and fracture risk. *Human Molecular Genetics*, 12(14), 1745-1754.
 100. Van Meurs, J., Dhonukshe-Rutten, R. A., Pluijm, S., Van der Klift, M., de Jonge, R., & Lindemans, R. (2004). Homocysteine Levels and the Risk of Osteoporotic Fracture. *N Engl J Med*, 35, 2033-2041.
 101. Van Schoor, J. (2011). National Osteoporosis Foundation of South Africa 2010 osteoporosis guideline. *S. Afr. Pharm J.*, 24-29.
 102. Wada, T., Nakashima, T., Hiroshi, N., & Penninger, J. (2006). Rankl-Rank signaling in osteoclastogenesis and bone disease. *Trends in Molecular Medicine*, 12, 17-25.
 103. Wang, C. L., Tang, X., Chen, W. Q., Su, Y. X., Zhang, C. X., & Chen, Y. M. (2007). Association of estrogen receptor alpha gene polymorphisms with bone mineral density in Chinese women: a meta-analysis. *Osteoporosis International*, 18, 295-305.
 104. Weizmann Institute of Science. (30 de 10 de 2014). The GeneCards Human Gene Database. Recuperado el 27 de 10 de 2014, de <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CCDC170>

105. Welsch, U., & Sobotta, J. (2010). *Histología* (2a ed.). München, Germany: Médica Panamericana.
106. WHO, S. G. (2003). *Prevention and Management of Osteoporosis*. Recuperado el 29 de 05 de 2013, de WHO Technical Report Series: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_921.pdf
107. Windahl, S. (2013). Estrogen receptor alpha is required for the osteogenic response to mechanical loading in a ligand independent manner involving its activation functional 1 but no 2. *Journal Bone Mineral Research*, 28(2), 291-301.
108. Wood, A. J. (1988). Tratamiento de la osteoporosis postmenopáusica. *The New England Journal of Medicine*, 736-746.
109. Yamada , Y., Ando , F., Niino , N., Ohta , S., & Shimokata, H. (2002). Association of polymorphisms of the estrogen receptor alpha gene with bone mineral density of the femoral neck in elderly japanese women. *Journal of Molecular Medicine*, 80, 452-460.
110. Zhang, Y.-P., Deng, F.-Y., Chen, Y., Pei, Y.-F., Fang, Y., Guo, Y.-F., et al. (2010). Replication study of candidate genes/loci associated with osteoporosis based on genome-wide screening. *Ostoporosis International*, 21(5), 785-795.
111. Zhao, L., Liu, P., Long, J., Lu, Y., Xu, F., & Zhang, Y. (2004). Test of linkage and/or association between the estrogen receptor α gene with bone mineral density in Caucasian nuclear families. *Bone*, 35, 395-402.
112. Zieve, D. (11 de 7 de 2011). Medline Plus. Información de Salud para usted. Recuperado el 1 de 12 de 2012, de Biblioteca Nacional de Medicina de EE.UU NIH: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/007197.htm>
113. Zofková, L. (2011). Role of genetics in prediction of osteoporosis risk. *Vnitřní Lékarství*, 57(1), 78-84.

3. ANEXOS

13.1 Anexo 1

Difusión del proyecto.



UANL
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FaSPyN
Facultad de Salud Pública y Nutrición

Es importante:

- Llegar con ayuno mínimo de 3horas.
- Presentarse con ropa ligera o ajustada (short y blusa ajustada sin material metálico).
- Evitar joyería , aretes, reloj, pulsera, collar, o accesorios de metal.

Lugar de evaluación:

Laboratorio de composición corporal CINSP de FASPYN.

Previa cita.

Universidad Autónoma de Nuevo León Facultad de Salud Pública y Nutrición

Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública



Te invita a participar en el proyecto de Investigación

Asociación de variantes alélicas del gen de receptor de estrógenos *ESR1* con densidad mineral ósea en mujeres de 40 a 80 años.

Si tienes entre 40 y 80 años y deseas conocer tu estado nutricional y riesgo a Osteoporosis te invitamos a participar.

Tu colaboración en este proyecto de investigación es voluntario, sin costo alguno y consiste en la evaluación dietética y mediciones antropométrica que permitirán brindarte información sobre tu estado nutricional actual y recomendaciones para alcanzar tu peso saludable.

Contacto:
L.N. Hilda Ávila Rodríguez
Teléfono: 81 13477 184
Correo: adlihemm@gmail.com

Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Salud Pública y Nutrición
Posgrado: Maestría en Ciencias en Nutrición
Ave. Dr. Eduardo Aguirre Pequeño y Yuriria, Col. Mitras Centro Monterrey, Nuevo León, México
C.P. 64460 Tels. +52 (81) 13 40 48 90 Fax: +52 (81) 83 48 60 80



13.2 Anexo 2

Consentimiento informado

Monterrey, Nuevo León a _____ de _____ del año _____

Por medio de la presente Yo: _____ declaro libre y voluntariamente que acepto participar en el estudio titulado “Asociación de variantes alélicas del gen de receptor de estrógenos 1 (*ESR1*) y del gen *C6orf97* con densidad mineral ósea en mujeres de 40 a 80 años” que se realiza en la Facultad de Salud Pública y Nutrición y cuyo objetivo consisten en: Determinar la asociación de las variantes alélicas de los genes *ESR1* y *C6orf97* con la DMO en mujeres adultas. Se me ha informado que mi participación en este estudio será: 2 tomas de sangre de 4 ml para el análisis genético, así como la realización de la densitometría ósea (DXA), que permitirá conocer el diagnóstico en cuanto a la salud de mis huesos.

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

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

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

Nombre y firma del participante

Lic. Nut. Hilda Guadalupe Ávila Rodríguez Cédula profesional: 7091589

Testigo 1: _____

Testigo 2: _____

RESUMEN CURRICULAR

Lic. Nut. Hilda Guadalupe Ávila Rodríguez

Candidata para el Grado de Maestro en Ciencias en Nutrición

Tesis: "ASOCIACIÓN DE LAS VARIANTES ALÉLICAS DE LOS GENES DEL RECEPTOR DE ESTRÓGENOS 1 (*ESR1*) Y *C6orf97* CON DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN MUJERES DE 40 A 80 AÑOS"

Campo de estudio: Nutrición Molecular

Datos personales

Lugar de nacimiento: Matehuala, San Luis Potosi, México

Fecha de nacimiento: 07 de enero 1988

Estado civil: soltera

Nombre del padre: Jaime Ávila Loera

Nombre de la madre: Hilda Rodríguez Zarazúa

Formación académica: Licenciatura en Nutrición y Salud Pública en la Universidad Autónoma de Nuevo León 2005-2010

Experiencia profesional: conferencias, asesoría y evaluación nutricional en consulta privada, marketing y promoción nutricional en distintas empresas de 2010 a la fecha.

Participación en congresos:

8 participaciones en congresos.

Reconocimientos:

Por haber obtenido el primer lugar en la categoría de profesional en el área de Nutrición Clínica con el trabajo: "Variantes alélicas del gen WNT3A se asocian a la densidad mineral ósea de mujeres postmenopáusicas.

Reconocimiento por haber obtenido 2do lugar en el Concurso Estatal de Investigación en Salud 2014. Título de la investigación "Asociación de los polimorfismos de los genes MEF2C, JAGGED1 Y BDNF con densidad mineral ósea en mujeres de 40 a 80 años"



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



Asociación Mexicana de Maestros de Facultades y Escuelas de Nutrición A.C.



FaSPyN

Facultad de Salud Pública y Nutrición

Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

a:

**H.G. ÁVILA RODRÍGUEZ, S.M. GONZÁLEZ PEÑA,
N.E. ESCALANTE GARCÍA, E. RAMÍREZ LÓPEZ,
R. VELÁZQUEZ CRUZ, Z. JIMÉNEZ SALAS**

por haber obtenido el **Primer Lugar** en la Categoría Profesional en el área de Nutrición Clínica con su trabajo:

Variantes alélicas del gen WNT3A se asocian a la densidad mineral ósea de mujeres postmenopáusicas



llevado a cabo por la Facultad de Salud Pública y Nutrición de la Universidad Autónoma de Nuevo León los días 3 y 4 de octubre de 2013.

"Alere Flammam Veritatis"

Monterrey, Nuevo León a 4 de octubre de 2013

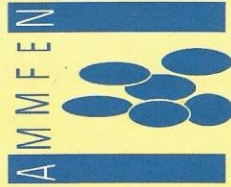
M.S.P. HILDA IRENE NOVELO HUERTA
Directora de la Facultad de Salud Pública y Nutrición, UANL.

M.S.P. JOSÉ LUIS CASTILLO HERNÁNDEZ
Presidente de la Asociación Mexicana de Miembros de Facultades y Escuelas de Nutrición, A.C.

RC-07-160
Rev. 02-09/13



80 AÑOS
DEJANDO HUELLA



XXIX
CONGRESO NACIONAL
DE LA AMMFEN

“Del Hambre a la Obesidad: Magnitud, Trascendencia y Vulnerabilidad”

La Asociación Mexicana de Miembros Facultades y Escuelas de Nutrición, A.C.



Otorga la presente constancia a:

Ávila Rodríguez Hilda Guadalupe, González Peña Sandra Marlen, Escalante García Ninfa
Esthela, Ramírez López Erik, Velázquez Cruz Rafael y Jiménez Salas Zacarías

por su valiosa participación con el trabajo

Polimorfismos del gen ESR1 asociados a densidad mineral ósea en mujeres del norte de México

en la categoría de *Investigación* durante el XXIX Congreso de la AMMFEN “Del hambre a la obesidad: Magnitud, Trascendencia y Vulnerabilidad”, llevado a cabo en la ciudad de Boca del Río, Veracruz, del 7 al 9 de mayo de 2014.

MSP. José Luis Castillo Hernández
 Presidente de la AMMFEN

eracruz 2014





Mesa Directiva
2012 – 2013

SOCIEDAD MEXICANA DE NUTRICIÓN Y ENDOCRINOLOGÍA, A.C.

Otorga la presente

CONSTANCIA

Dr. Salvador Zubirán Anchondo †
Fundador

Dr. J. Jorge Espinoza Campos
Presidente

Dr. Francisco Javier
Velázquez Chávez
Secretario

Dr. José Arturo Bermúdez
Gómez Llanos
Tesorero

Dr. Alfredo Ulloa Aguirre
Vicepresidente

Dr. Rafael Campuzano Rodríguez
Subsecretario

Dr. José Roberto Gómez Cruz
Subtesorero

A: Zacarias Jiménez Salas, González Peña Sandra, Ávila Rodríguez Hilda, Escalante García Ninfa, Ramírez López Erik, Velázquez Cruz Rafael, Jiménez Salas Zacarias.

Por la presentación en Cartel del trabajo titulado:

“POLIMORFISMOS DEL GEN WNT3A DE LA VÍA WNT RELACIONADOS CON TEJIDO ADIPOSO”

Durante el LIII Magno Congreso Internacional de esta Sociedad, llevado a cabo del 12 al 15 de Noviembre en la Ciudad de Cancún, Quintana Roo.

Noviembre 2013.

Dr. J. Jorge Espinoza Campos
Presidente

Dr. Francisco J. Velázquez Chávez
Secretario

Dr. José Arturo Bermúdez
Tesorero

Ohio No. 27 Col. El Rosedal • Delegación Coyoacán C.P. 04330 México, D.F.
Tel. 5336-2216 • 5336-9072 • 5336-9182 • www.endocrinologia.org.mx

"2013, Año de la Lealtad Institucional y Centenario del Ejército Mexicano".

**A QUIEN CORRESPONDA
PRESENTE.**

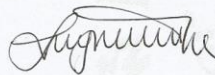
México, D.F. a 2 de agosto de 2013
Oficio No: INMG/DED/SFA/082/2013
Asunto: Constancia de término de estancia de verano

Por medio del presente hago constar que la alumna **Hilda Guadalupe Ávila Rodríguez** realizó una estancia voluntaria durante el verano en el Consorcio de Enfermedades Cardiovasculares y Óseas bajo la tutoría del Dr. Rafael Velázquez Cruz, en el Instituto Nacional de Medicina Genómica ubicado en Periférico Sur No. 4809, Col. Arenal Tepepan, C.P. 14610, Delegación Tlalpan en México Distrito Federal.

El periodo de la estancia temporal fue del 22 de julio al 2 de agosto de 2013.

Agradeciendo de antemano su atención a la presente, le envío un cordial saludo.

Atentamente



Dra. Myriam Mata Sotres
Subdirectora de Formación Académica



C. c. p. Dra. María de los Ángeles Fernández Altuna. - Directora de Enseñanza y Divulgación. Presente.
Dr. Rafael Velázquez Cruz- Investigador y Tutor del alumno. Presente.
Minutario.

Periférico Sur No. 4809, Col. Arenal Tepepan, Delegación Tlalpan, México, D.F., C.P. 14610,
Tel.: 52 (55) 5350 1900, Fax: 52 (55) 5350 1950 www.inmegen.gob.mx

**A QUIEN CORRESPONDA
PRESENTE.**

México, D.F. a 18 de marzo de 2014
Oficio No: INMG/DED/SFA/022/2014
Asunto: Constancia de estancia temporal

Por este medio hago constar a usted que la alumna **Hilda Guadalupe Ávila Rodríguez** efectuó una estancia temporal en el Instituto Nacional de Medicina Genómica, ubicado en Periférico Sur No. 4809, Col. Arenal Tepepan, C.P. 14610, Del. Tlalpan, on México Distrito Federal.

La alumna colaboró en el laboratorio de Genómica de las Enfermedades Cardiovasculares y Óseas, bajo la tutoría directa del Dr. Rafael Velázquez Cruz, Investigador en Ciencias Médicas del Instituto.

El periodo de la estancia fue del 2 al 20 de diciembre de 2013.

Agradeciendo de antemano su atención a la presente, le envío un cordial saludo.

Atentamente


Dra. Myriam Mata Botes
Subdirectora de Formación Académica



C.c.p. Dra. Inraña Sofía Orozco Orozco, - Subdirectora de Investigación Médica del INMEGEN. - Presente.
Dr. Salvador Espino y Rojas, - Director de Enseñanza y Docencia del INMEGEN. Presente.
Dr. Rafael Velázquez Cruz, - Investigador en Ciencias Médicas del INMEGEN y Tutor de la alumna. Presente.
Expediente del alumno.
Mutatis.



Constancia

A: *LN. Hilda Guadalupe Ávila Rodríguez, Dr. C. Zacarías Jiménez Salas,
LN. Sandra Marlen González Peña, Dr. C. Erik Ramírez López.*

Por su participación como Investigador en el "Encuentro Estatal de Investigación en Salud 2014"

En la presentación **Oral** con el trabajo titulado:

Asociación de variantes alélicas del gen receptor de estrógenos ESR1 con densidad mineral ósea en mujeres de 40 a 80 años.

Realizado los días 06 y 07 de noviembre de 2014

1 crédito



Dr. Jesús Zacarías Villarreal Pérez
Secretario de Salud del Estado de Nuevo León



Dra. Angelina Patrón de Treviño
Directora de Enseñanza, Investigación en Salud y Calidad



Constancia

A: Hilda Guadalupe Ávila Rodríguez

Por su participación como Asistente en el
“Encuentro Estatal de Investigación en Salud 2014”

Realizado los días 06 y 07 de noviembre de 2014

1 crédito



Dr. Jesús Zacarías Villarreal Pérez
Secretario de Salud del Estado de Nuevo León



Dra. Angelina Patrón de Treviño
Directora de Enseñanza, Investigación en Salud y Calidad

Constancia

*Lic. Nut. Sandra Marlen González Peña, Dr. C. Zacarias Jiménez Salas,
Lic. Nut. Hilda Guadalupe Ávila Rodríguez, Dr. C. Erik Ramírez Lopéz.*

A:

Por su participación como Investigador en el “Encuentro Estatal de Investigación en Salud 2014”

En la presentación Oral con el trabajo titulado:

Asociación de los polimorfismos de los genes MEF2C, JAGGED1 Y BDNF con densidad mineral ósea en mujeres de 40 a 80 años.

Realizado los días 06 y 07 de noviembre de 2014

1 crédito



Dr. Jesús Zacarias Villarreal Pérez
Secretario de Salud del Estado de Nuevo León



Dra. Angelina Patrón de Treviño
Directora de Enseñanza, Investigación en Salud y Calidad

**EL PODER EJECUTIVO DEL ESTADO DE NUEVO LEÓN,
A TRAVÉS DE LA SECRETARÍA DE SALUD**

Otorga el presente

Reconocimiento

A: Lic. Nut. Sandra Marlen González Peña Lic. Nut. Hilda Guadalupe Ávila Rodríguez
Dr. en. C. Zacarías Jiménez Salas Dr. en. C. Erik Ramírez López

**Por haber obtenido el 2do. Lugar en el
CONCURSO ESTATAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD 2014**

Título de la Investigación:
Asociación de los polimorfismos de los genes MEF2C, JAGGED1 Y BDNF con densidad mineral ósea en mujeres de 40 a 80 años


DR. JESÚS ZACARÍAS VILLARREAL PÉREZ
SECRETARIO DE SALUD

MONTERREY, N.L., 6 Y 7 DE NOVIEMBRE DE 2014



LIII Congreso Internacional
de la Sociedad Mexicana
de Nutrición y Endocrinología

XV Congreso de la
Asociación
Latinoamericana
de Diabetes

XXIII Reunión Bienal
de la Asociación
Latinoamericana
de Investigadores en Reproducción
Humana



MAGNO CONGRESO INTERNACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA, DIABETES Y REPRODUCCIÓN

Otorga la presente
Constancia a

**DRA. HILDA GUADALUPE AVILA
RODRIGUEZ**

Por su participación como

ASISTENTE

en el MAGNO CONGRESO INTERNACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA, DIABETES Y REPRODUCCIÓN
que se llevó a cabo del 12 al 15 de noviembre del año 2013 en Cancún - Quintana Roo, México

Dr. Jorge Espinoza Campos
Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología

Dr. Iván Darío Sierra Ariza
Presidente
Asociación Latinoamericana de Diabetes

Dr. Juan Rosas Guzmán
Presidente del XV Congreso de la
Asociación Latinoamericana de Diabetes

Dra. Edith Pantelides
Presidente
Asociación Latinoamericana de
Investigadores en Reproducción Humana

Dr. Fernando Larrea Gallo
Presidente del Comité Organizador
de la XXIII Reunión Bienal de
la Asociación Latinoamericana de
Investigadores en Reproducción Humana