



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“Estudio del Polimorfismo *Bsm I* en pacientes  
con osteoporosis”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA**

**PRESENTA**

**ERIKA JAZMIN MENDOZA GIL**



**MÉXICO, D.F. 2012**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Enrique Amador González

**VOCAL:** Martha Patricia Coello Coutiño

**SECRETARIO:** Maria del Carmen Chima Galán

**1er. SUPLENTE:** Laura Carmona Salazar

**2do. SUPLENTE:** José Landeros Valdepeña

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:** DIVISIÓN DE MEDICINA GENÓMICA  
DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL “20 DE NOVIEMBRE” ISSSTE

**ASESORA DEL TEMA:** \_\_\_\_\_

DRA. MARÍA DEL CARMEN CHIMA GALÁN

**SUPERVISOR TÉCNICO:** \_\_\_\_\_

M. en C. JOSÉ LANDEROS VALDEPEÑA

**SUSTENTANTE:** \_\_\_\_\_

ERIKA JAZMIN MENDOZA GIL

## Agradecimientos

### A MIS PADRES

Porque sin ustedes no sería la persona que soy hoy, por su guía, su apoyo y su amor incondicional que me han brindado. Un reconocimiento especial a mi mami adorada porque a pesar de las adversidades se ha mantenido firme en todo momento, gracias por mostrarme día con día tu gran fortaleza. Los amo.

### A MI HERMANA

No tengas las palabras suficientes para expresarte todo lo que eres para mí, gracias por soportar todas mis locuras, caprichos, enojos, eres la mejor hermana que cualquiera pudiera desear, te quiero tanto *Hermana Viri*.

### A MI MUY GRANDE FAMILIA

A mis abuelos *Chofo y Mago* los cuales tenemos todavía la dicha de tenerlos con nosotros, a mi muy querida abue *Tere* que aunque ya no esté aquí, sé que nos cuida desde un mejor lugar. A todos mis tíos que siempre me han apoyado y que siempre me han tratado como a una hija, gracias. A mis primos con los cuales he pasado maravillosos momentos de mi vida. Agradezco a Dios por cada uno de ustedes.

## A MIS AMIGOS

Por todos sus consejos, el apoyo que me han brindado en los muchos años que llevo de conocerlos, gracias a cada uno de ustedes, no saben lo importante que son en mi vida, porque sin todos los momentos alegres con las interminables horas de risa sería una persona muy diferente de lo que soy ahora, gracias a Dios por poner a cada uno en mi camino, los quiero: Karen, Edgar, Miguel *Mazki*, Christian *Chu*, Cristian, Adriana, Beu, Abraham, Balú y Hamlet.

A quien llegó a mi vida en el momento justo, a mi novio Adolfo, gracias por tus palabras y tus consejos, la paciencia y el amor que me demuestras día a día, por todos los divertidos y maravillosos momentos que paso a tu lado.

## A LA DOCTORA CHIMA

Gracias por la oportunidad de haber trabajado a su lado y permitirme llevar a cabo este proyecto, gracias por su comprensión, paciencia y apoyo para la realización de éste trabajo.

## AL PROFESOR JOSÉ LANDEROS

Por el apoyo que me brindo en la realización del proyecto, por sus palabras de ánimo y su confianza.

**DEDICADA PARA:**

**MIS MARAVILLOSOS PADRES *MARTHA Y ZENÓN*  
MI EXTRAORDINARIA HERMANA *VIRIDIANA*  
Y PARA LA PERSONITA QUE NOS CAMBIO EL MUNDO,  
MI HERMOSO SOBRINO *ISAAC***

## INDICE

<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
• Planteamiento problema.....	4
• Hipótesis.....	4
• Objetivo general.....	4
• Objetivos particulares.....	4
• Justificación .....	5
<b>CAPITULO I. OSTEOPOROSIS</b>	
• Definición de osteoporosis.....	6
• Aspectos epidemiológicos.....	6
• Clasificación.....	8
• Fisiopatología.....	9
• Cuadro clínico.....	12
• Diagnóstico.....	13
• Tratamiento.....	16
• Pronóstico.....	18
• Etiología.....	19
<b>CAPÍTULO II. GENÉTICA DE LA OSTEOPOROSIS</b>	
• Aspectos genéticos de la osteoporosis.....	21
• Gen <i>VDR</i> .....	26

## **METODOLOGÍA**

- Extracción de DNA genómico.....31
- Reacción en cadena de la polimerasa *PCR*.....34
- Polimorfismos de longitudes en fragmentos de restricción *RFLP*.....35
- Análisis Estadístico.....36

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....37**

**CONCLUSIONES.....43**

**PERSPECTIVAS.....44**

**REFERENCIAS.....45**

## **GLOSARIO**

## RESUMEN

La osteoporosis es una enfermedad que se caracteriza por la disminución en la densidad mineral ósea, aumentando así el riesgo de algún tipo de fractura. En el año 2007 la prevalencia de la osteoporosis para la población mexicana mayor de 30 años era del 47%, dado que esta patología no presenta síntomas previos a las fracturas es importante encontrar factores de predisposición, como los genéticos.

Uno de los factores genéticos más estudiados que se ha correlacionado con la osteoporosis es el gen *VDR*, que codifica para el receptor de Vitamina D, porque participa en la regulación de calcio y fósforo en la homeostasis ósea. Se han encontrado polimorfismos en *VDR* asociados con la predisposición a osteoporosis, entre ellos *Bsm I*.

Este trabajo consistió en un estudio piloto de casos y controles, para probar la asociación del polimorfismo *Bsm I* con la presencia de osteoporosis, en pacientes mexicanos. Los resultados demostraron una diferencia significativa entre las variables mencionadas en el grupo de estudio. Sin embargo, el OR muestra que el alelo polimórfico por sí solo no es un factor de riesgo para presentar osteoporosis. Por lo tanto, para que este marcador genético pueda ser utilizado como un factor de predisposición en nuestra población, es necesario realizar un estudio con un tamaño de muestra mayor, para confirmar la asociación de *Bsm I* con la osteoporosis y probar que dicho alelo es un marcador de susceptibilidad.

Palabras clave: *osteoporosis, polimorfismo Bsm I, VDR*

## INTRODUCCIÓN

La osteoporosis es la condición en que la baja masa ósea y la alteración en la microarquitectura del hueso aumentan el riesgo de fractura<sup>1</sup>. Es una enfermedad frecuente, responsable de una gran parte de las fracturas que se producen en personas mayores de 50 años <sup>2</sup>. En el año 2007 el autor De Lago Acosta reportó que la prevalencia de osteoporosis para la población mexicana (en ambos sexos) era de 47% y en el caso de osteopenia era del 18% en personas mayores de 30 años. <sup>3</sup>

Es la mayor causa de fracturas a nivel mundial y uno de los principales motivos que mantienen al paciente en cama por complicaciones graves, poniendo en riesgo la vida de personas mayores.

En fases tempranas puede pasar clínicamente desapercibida. En algunos casos el dato clínico inicial es el dolor de espalda de comienzo espontáneo, debido a fractura y compresión vertebral. El dolor prolongado suele deberse al desarrollo de osteoartritis secundaria. En otros casos, la primera manifestación clínica es la cifosis progresiva o asintomática con la consiguiente pérdida de altura.<sup>4</sup>

Así, en algunos estudios se ha comprobado que el 95% de los pacientes que presentan una fractura por fragilidad no tenían un diagnóstico previo de osteoporosis. La osteoporosis es una enfermedad que produce en los pacientes que la sufren un aumento de la morbilidad, generando en ellos un deterioro en la calidad de vida, asimismo aumenta la mortalidad y conlleva a un importante consumo de recursos sanitarios de todo tipo.<sup>5</sup>

Debido a las consecuencias mencionadas de la osteoporosis, la prevención de esta enfermedad se considera esencial para el mantenimiento de la salud y la calidad de vida del paciente.<sup>6</sup>

Dado que inicialmente la osteoporosis es prácticamente asintomática y que el tratamiento es más efectivo cuanto más precozmente se inicie, es de suma importancia identificar factores de predisposición para iniciar un tratamiento oportuno. En este caso el estudio de los factores genéticos es importante para establecer una asociación genética con la patología.

En los últimos años, se han encontrado diferentes genes relacionados con la densidad mineral ósea y la osteoporosis, entre ellos se encuentra el gen *VDR* (receptor de vitamina D). Este gen es un buen candidato porque está relacionado directamente con el metabolismo activo de la vitamina D, requerido en la homeostasis del calcio y fósforo, para el desarrollo normal del hueso, así como para mantener la arquitectura del esqueleto.

Las acciones de la vitamina D en su forma biológicamente activa (1,25-dihidroxicolecalciferol D) son: estimular la absorción intestinal de calcio y fósforo, colabora con la hormona paratiroidea (PTH) en la movilización del calcio del hueso y finalmente estimula la reabsorción de calcio dependiente de la PTH en los túbulos renales distales. Las acciones de la vitamina D son mediadas a través del receptor de la vitamina D (*VDR*)<sup>7</sup>, la vitamina se une a un receptor que se encuentra en el núcleo celular y presenta una alta especificidad y afinidad que, a su vez, se une a secuencias reguladoras de DNA, que inducen la transcripción de genes que codifican proteínas diana específicas.<sup>14</sup>

El gen *VDR* [vitamin D (1,25- dihydroxycholecalciferol D3) receptor] codifica para el receptor nuclear hormonal de la vitamina D, el cual se localiza en el cromosoma 12q13.11<sup>14</sup>, tiene una longitud de 75 Kilo bases (Kb) distribuidas en 11 exones y 10 intrones, y que en su extremo 3' se han descrito varios polimorfismos de restricción, entre ellos *Bsm I*.

Morrison y cols. en el año 1992, fueron los primeros en correlacionar el genotipo BB del polimorfismo *Bsm I* del *VDR* con niveles bajos de osteocalcina, indicando que los alelos son funcionalmente diferentes, que contribuyen a la variabilidad normal fisiológica de los niveles de osteocalcina, por la diferente interacción de la vitamina D con su célula blanco por medio del *VDR* nuclear.<sup>9</sup> La descripción del polimorfismo en *Bsm I* da como resultado la caracterización de dos alelos: B cuando está presente dicho polimorfismo (alelo polimórfico) y b cuando no se encuentra presente (alelo silvestre).<sup>10</sup>

Se han realizado diferentes estudios en diversas poblaciones para determinar si existe relación entre polimorfismos del gen *VDR* con la densidad mineral ósea; uno de estos trabajos se publicó en el año 2008 por el Dr. Horst-Sikorska en población polaca, en dicho proyecto se estudiaron tres polimorfismos en la región 3' UTR entre los cuales se encontraba *Bsm I*, en este caso no encontraron asociación entre los polimorfismos con la disminución en la densidad mineral ósea.<sup>11</sup> Sin embargo en un estudio en población Coreana publicado en el 2010 por el Dr. Tak Kuen, se encontró que el polimorfismo *Bsm I* con su genotipo BB era estadísticamente diferente con los genotipos Bb y bb, asociándose con la disminución de la densidad mineral ósea en el cuello femoral.<sup>12</sup>

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La osteoporosis es una enfermedad compleja que generalmente pasa desapercibida hasta que se presenta la primera fractura, por lo que es de importancia encontrar factores de predisposición para prevenir la enfermedad en etapas tempranas. Se han relacionado diferentes factores genéticos con la osteoporosis, entre los cuales se encuentra el gen *VDR* y en él, su polimorfismo *Bsm I*, que puede ser estudiado en población mexicana para establecerlo como un marcador genético de predisposición a la osteoporosis, que permita implementar medidas de prevención, tratamiento o pronóstico.

## HIPÓTESIS

- Existe una relación estadísticamente significativa entre el polimorfismo *Bsm I* y los pacientes mexicanos con osteoporosis.

## OBJETIVO GENERAL

- Determinar si el polimorfismo *Bsm I* se encuentra asociado a la osteoporosis.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- Identificar la presencia del polimorfismo *Bsm I* en una muestra de pacientes con osteoporosis y de controles sanos en población mexicana.
- Determinar si existe diferencia estadísticamente significativa entre pacientes y controles.
- Determinar si existe un alelo de riesgo.

## JUSTIFICACIÓN

La osteoporosis es la principal causa de fracturas así como uno de los principales motivos que mantienen al paciente en cama, con un alto impacto en gastos para el sector salud. Al presentarse en personas económicamente activas se observa una disminución en su capacidad laboral debido a los periodos prolongados de estancia hospitalaria y recuperación, por lo que su estabilidad económica se ve afectada, de igual manera se vuelven dependientes de personas que se encuentren a su cuidado disminuyendo considerablemente su calidad de vida. Es común que al presentarse la primera fractura osteoporótica se lleguen a presentar más a lo largo de la vida. Por lo que realizar un diagnóstico oportuno es de gran importancia al igual que encontrar factores que nos permitan determinar qué personas tienen mayor predisposición, y brindar medidas preventivas de atención a los pacientes.

Uno de estos factores de predisposición podría ser el polimorfismo de *Bsm I*. Ese tipo de estudios ayudaría a la disminución de costos hospitalarios, ya que la estancia en el hospital se prolonga días e incluso semanas, sobre todo cuando se trata de una fractura de cadera. Este tipo de estudios en caso de establecerse como marcadores de predisposición o riesgo, tienen un menor costo que los estudios densitométricos, los cuales en nuestro país no siempre son realizados y no son accesibles a toda la población.

## MARCO TEÓRICO

### DEFINICIÓN DE OSTEOPOROSIS

Hoy en día se acepta como definición la publicada por el Instituto Nacional de Salud (*NIH, National Institute Healthy*) de los EUA en el año 2001 como: “Una enfermedad de todo el esqueleto caracterizada por una masa ósea baja y una alteración en la microestructura ósea que condiciona un hueso frágil en la que consecuentemente incrementa el riesgo de fracturas”.<sup>6</sup>

La definición incide en el problema fundamental: existencia de una mayor fragilidad ósea que condiciona un incremento en el riesgo de sufrir fracturas, pérdida de la masa ósea así como alteración en la calidad del hueso, sin embargo esta definición no tiene una aplicación clínica directa. Por ello se utiliza cuantitativamente el resultado obtenido a partir de una densitometría con una puntuación T (indican la cantidad de densidad mineral del hueso variando del promedio) inferior a -2.5 desviaciones estándar, es diagnóstico de osteoporosis.<sup>7</sup>

### ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

Mundialmente se estima que cada 3 segundos se produce una fractura por osteoporosis.<sup>16</sup> El número estimado de nuevas fracturas osteoporóticas en el año 2000 fue de 9.0 millones, de los cuales 1.6 millones fueron de cadera, 1,7 millones de antebrazo y había 1.4 millones de fracturas vertebrales. En general, 61% de las fracturas osteoporóticas totales se produjeron en mujeres. El 70% de los casos de fracturas de cadera ocurrieron en mujeres. Las cifras respectivas en fracturas de antebrazo, columna y húmero fueron del 80%, 58% y 75% en mujeres.

El mayor número de casos de osteoporosis reportados fue en el continente Europeo, seguido por la región del Pacífico Occidental, el sudeste de África y América, los cuales representaron el 96% por ciento de las fracturas. Tan solo América y Europa representan el 51%.

La osteoporosis es un problema de salud pública ya que afecta a más de 75 millones de personas en Estados Unidos, Japón y los países europeos.<sup>18</sup>

En México en el año 2009, el 17% de las mujeres y el 9% de los hombres mayores de 50 años presentaron osteoporosis en la columna lumbar, el 16% de las mujeres y el 6% de los hombres sufrieron de osteoporosis en la cadera.

Según proyecciones, el número de fracturas de cadera pasará de 1.2 millones en la década de los noventas a 2.6 millones para el 2025 y 4.5 millones en el 2050.

Los costos directos por fracturas de cadera en México representaron más de 97 millones de dólares en el 2006.

En 2009, sólo el 25% de las herramientas disponibles para diagnosticar la osteoporosis se encontraban en instituciones de salud del gobierno que cubren a la gran mayoría de los mexicanos.<sup>3</sup>

Alrededor del mundo la osteoporosis se presenta con diferente prevalencia, por ejemplo en los Estados Unidos alrededor de un tercio de las mujeres caucásicas postmenopáusicas sufren de osteoporosis de la cadera, columna o antebrazo. La prevalencia también puede aumentarse debido a la edad, por ejemplo en éste caso las mujeres británicas de 50-59 años, tienen una prevalencia de fractura en la cadera del 4% y en cualquier otra parte del cuerpo es del 15%. Estas cifras se elevan al 48% y 70%, respectivamente, en mujeres mayores de 80 años y más. Las tasas de fractura varían notablemente en diferentes países, siendo mayor en América del Norte y Europa, especialmente en los países escandinavos. El riesgo de fracturas por osteoporosis es menor en África y Asia, pero las proyecciones a nivel mundial muestran que es probable que aumente notablemente en el futuro.<sup>21</sup>

Los hombres pierden 15-45% de hueso esponjoso y un 5-15% del hueso cortical a la edad avanzada, mientras que las mujeres pierden el 35-50% de hueso esponjoso y el 25-30% de hueso cortical, por lo que es de suponerse que el número de fracturas es mucho mayor en mujeres que en hombres.<sup>21</sup>

El número de personas mayores de 65 años o más, en el año 2000 se estimó en 323 millones, y se espera que llegue a 1555 millones en el año 2050. Estos cambios demográficos pueden provocar un aumento en el número de fracturas de cadera que se producen entre las personas de 35 años y más en todo el mundo, de 1,5 millones en 1990 a 4.5 hasta 6,3 millones en 2050.<sup>21</sup>

## CLASIFICACIÓN

La osteoporosis se clasifica en osteoporosis de tipo I y de tipo II.

El tipo I se da a partir de pérdida del hueso trabecular después de la menopausia. Ésta se encuentra relacionada directamente con la falta de estrógenos endógenos.

El tipo II se define como la pérdida de hueso cortical y trabecular en hombres y mujeres debida a la pérdida del hueso relacionada con la edad. Esta se debe al ineficiente recambio óseo a largo plazo, vitamina D y calcio insuficiente en la dieta, su inadecuada absorción intestinal, regulación renal y secreción de hormona paratiroidea.<sup>17</sup> Existen muchas enfermedades que se acompañan con osteoporosis, entre las cuales se encuentran: enfermedades endocrinas como hiperparatiroidismo, síndrome de Cushing, hipogonadismo, hipertiroidismo, hiperprolactinemia, diabetes mellitus y acromegalia; enfermedades hematopoyéticas como mieloma múltiple, mastocitosis sistémica, leucemias y linfomas y anemia de células falciformes y talasemia; enfermedades del tejido conectivo como osteogénesis imperfecta, síndrome de Ehlers-Danlos y síndrome de Marfan; enfermedades inducidas por drogas entre ellas glucocorticoides, heparina, anticonvulsivantes, metotrexate y ciclosporina A, análogos de GnRH (hormona liberadora de gonadotropina) y antiácidos que contienen aluminio; enfermedades renales como insuficiencia renal crónica y acidosis tubular renal, puede producirse también debida a una inmovilización prolongada en algún miembro así como en enfermedades gastrointestinales y nutricionales.<sup>15,19</sup>

## FISIOPATOLOGÍA

La remodelación ósea es el proceso fisiológico por el cual pequeños fragmentos de hueso están siendo removidos y reemplazados continuamente en la superficie del hueso trabecular y en los sistemas de Havers del hueso cortical, existen tres células que requieren coordinación para llevar a cabo este proceso; los osteoclastos encargados de la resorción ósea, los osteoblastos los cuales llevan a cabo la formación de hueso y osteocitos que detectan las cantidades que están siendo adicionadas al hueso.<sup>6</sup>

En la figura 1 se muestra la remodelación ósea, la cual comprende cuatro fases diferenciadas: activación, resorción, inversión y formación.

La etapa de activación puede ocurrir tras una microruptura, por mecanismo de continuidad específica tras el efecto de ciertas citosinas por inflamación local, como resultado se activan los osteocitos que liberan mediadores de membranas, que actúan sobre las células del estroma pluripotenciales (células multipotentes primitivas, con morfología fibroblastoide, originadas a partir de la capa germinal mesodermal, con la capacidad de diferenciarse en diversos tipos de células). Los osteoclastos se diferencian y comienza la resorción ósea.

En la fase de resorción, el osteoclasto sella un área de contacto con su matriz y libera enzimas lisosómicas. Esta etapa se caracteriza por alcanzar un pH muy ácido, que disuelve los cristales de hidroxapatita, lo cual genera pequeñas excavaciones denominadas lagunas de Howship. Este proceso dura aproximadamente diez días.

En la etapa de inversión los osteoclastos mueren por apoptosis y abandonan las lagunas de Howship, posteriormente por medio de células mononucleares de estirpe monocito/macrofágico emiten señales de activación osteoblástica y preparan la superficie para el anclaje de los osteoblastos.

La fase de formación culmina con la renovación del hueso y se caracteriza por la proliferación, formación y activación de los osteoblastos. Cuando se alcanza el espesor requerido comienza la mineralización donde quedan atrapados osteocitos, que actuarán como sensores de estímulos futuros.<sup>17</sup>

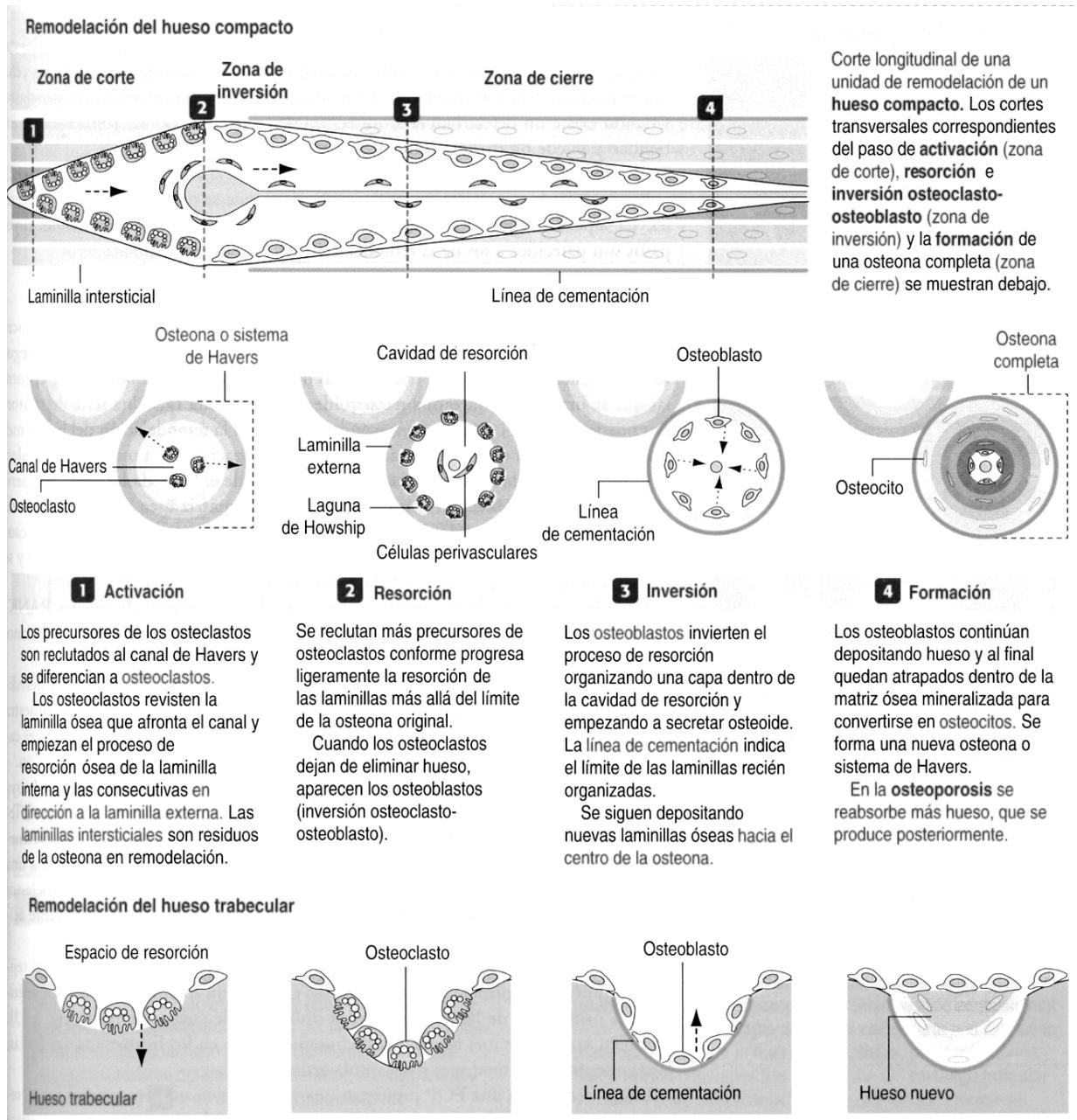
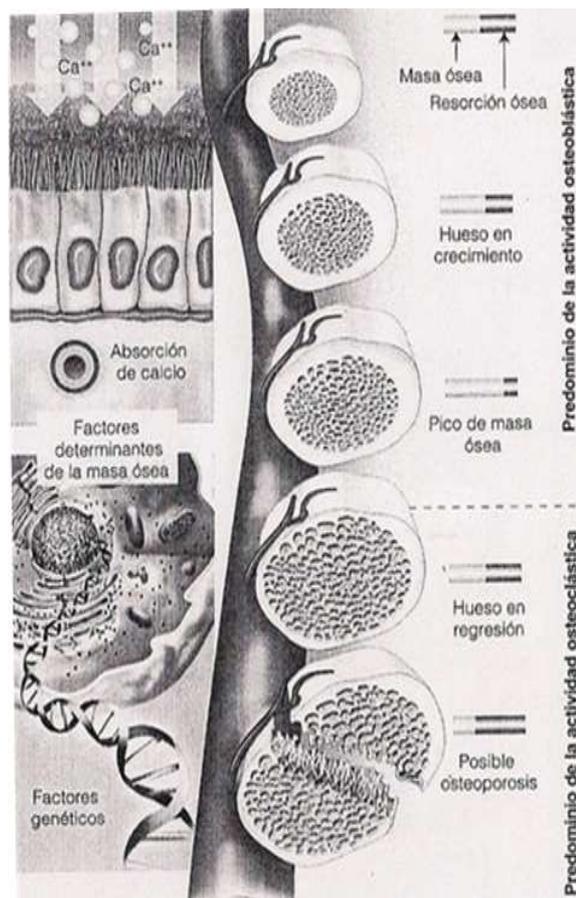


Figura 1. Remodelamiento óseo en hueso compacto y hueso trabecular. Tomado de *Histología y Biología Celular. Introducción a la Anatomía Patológica*. Kierszenbaum. 2008

A partir de este procedimiento la fisiopatología se describe como un desequilibrio entre la resorción ósea y la formación ósea, de tal forma que la resorción ósea tiene lugar en mayor medida que la formación ósea, de modo que se produce un balance negativo con una pérdida neta de hueso y un creciente riesgo de fracturas, lo cual llega en ocasiones a provocar deformidades y dolor crónico.

El desequilibrio entre la formación ósea y la resorción ósea (como se ejemplifica en la figura 2) podría producirse como resultado de uno o de una combinación de los siguientes factores:

- Aumento de la resorción ósea dentro de una unidad de remodelación.
- Reducción de la formación ósea dentro de una unidad de remodelación.<sup>6</sup>



## CUADRO CLÍNICO

La osteoporosis se caracteriza por una serie de síntomas variados e inespecíficos, que van desde dolor lumbar hasta disminución de la estatura, cifosis (curvatura de la columna vertebral en la región dorsal como la mostrada en la figura 3) y múltiples fracturas, usualmente en las vértebras, la pelvis y la porción distal del radio.

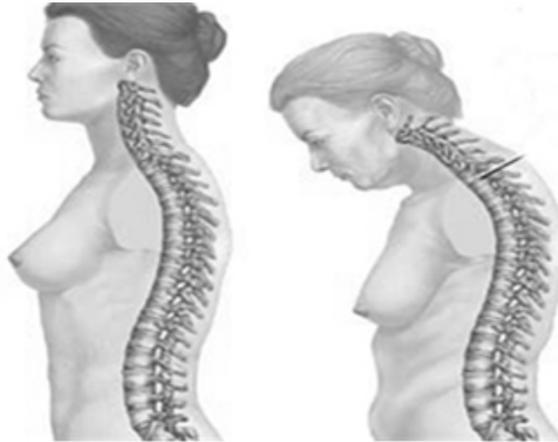


Figura 3. Ejemplificación de la curvatura de la columna vertebral.  
Tomado de *Osteoporosis MiniAtlas*, Lepori 2006

Las fracturas de húmero, antebrazo y cuello femoral se diagnostican con facilidad pero las fracturas de vértebras son de diagnóstico muy variable, en aproximadamente 2/3 partes de los casos transcurren de manera asintomática y en el resto provocan dolor e incapacidad funcional de duración muy variable, en función de la localización y otros factores. Generalmente, se encuentran en la unión dorsolumbar, columna dorsal alta y lumbar alta.<sup>17</sup>

La evaluación de la osteoporosis, debe realizarse con una buena historia clínica, en la cual se debe consignar todos los factores de riesgo, de forma cronológica como localización, tipo y severidad del dolor, tratamientos previos, historia menstrual y ginecológica, edad y si es menopáusica, historia familiar de osteoporosis, estilo de vida, uso de alcohol y tabaco, condiciones médicas asociadas o uso de medicamentos que pudieran tener relación con el metabolismo de calcio y fósforo.<sup>20</sup>

## DIAGNÓSTICO

Regularmente se utilizan radiografías para la detección de fracturas, lo cual solo es útil en pacientes sintomáticos. Y en casos de osteopenia se observa una radiotransparencia, es decir, se observa una zona más oscura de la parte del cuerpo radiada con aproximadamente el 30% de disminución en el hueso (figura 4).

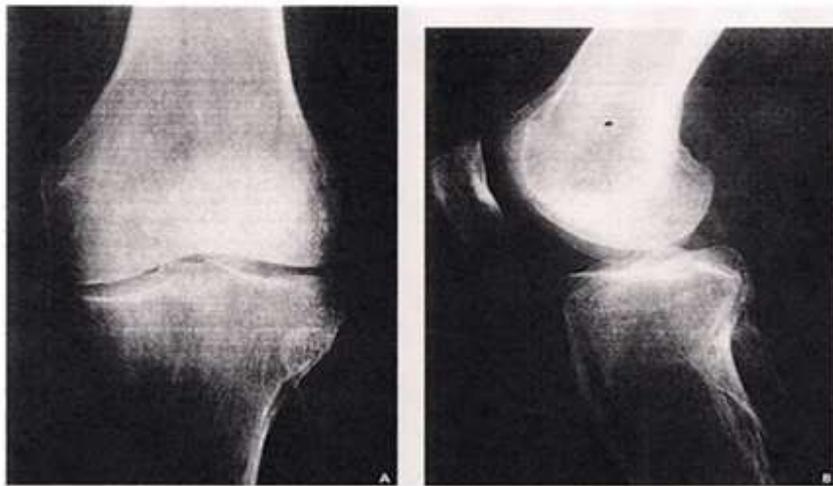


Figura 4. Las radiografías anteroposterior A y lateral B de la rodilla izquierda revelan una radiotransparencia aumentada en los huesos, adelgazamiento de las corticales y un patrón trabecular disperso. Tomado de Radiología ortopédica y radiología dental: una guía práctica.

El diagnóstico de osteoporosis se basa en la determinación de la densidad mineral ósea (DMO) y debe medirse con técnicas especializadas. Existen distintos tipos de estudios de DMO, pero el más común es la DXA (absorciometría de rayos X de energía dual), útil como un factor de riesgo para fractura o para confirmar el padecimiento.

La Organización Mundial de la Salud definió una serie de valores iniciales para la osteoporosis. La medición de referencia proviene de las mediciones de densidad ósea en una población de adultos jóvenes sanos. La osteoporosis se diagnostica cuando la DMO de un individuo es 2,5 veces inferior a esta medición de referencia. La osteopenia se diagnostica cuando la medición es entre 1 y 2,5 veces inferior a la medición de referencia del adulto joven. En la Cuadro 1 de muestran los criterios de la OMS, entre ellos, masa ósea normal y osteoporosis establecida.<sup>21</sup>

Cuadro 1. Criterios de diagnóstico por densitometría para osteoporosis

<b>Categoría diagnóstica</b>	<b>Valor de referencia</b>
Normal	Valor T hasta -1.0 DE
Osteopenia	Valor T hasta -1.01 a -2.49 DE
Osteoporosis	Valor T igual o menor a -2.5
Osteoporosis establecida	Valor T igual o menor a -2.5 DE+ fracturas por fragilidad ósea.

DE = desviaciones estándar

Los resultados que se obtienen a partir de una densitometría se expresan como valor T que es la comparación de la densidad promedio mineral del hueso (DPH) del individuo con los valores de personas sanas de 30 años del mismo sexo y población. El valor Z es el número de desviaciones estándar de un paciente con DPH diferente del promedio de DPH por su edad, sexo, etnia.<sup>21</sup>

Existen otros métodos de diagnóstico basados en marcadores químicos que son recomendados en pacientes con formas de osteoporosis u osteopenia aún más pronunciadas de lo esperado para su edad.

El laboratorio es considerado como un complemento útil en el diagnóstico de la osteoporosis, ya que:

- Se pueden descartar otras enfermedades que pueden causar un cuadro clínico similar al de la osteoporosis densitométrica.
- Se pueden identificar los posibles factores causales, lo que permite un diagnóstico de osteoporosis secundaria, y por lo tanto, siempre que sea posible el tratamiento etiológico.

Los marcadores específicos de recambio óseo (Cuadro 2), detectable en suero u orina, se puede dividir en los marcadores de formación ósea (isoenzima ósea de la fosfatasa alcalina, osteocalcina, propéptidos del procolágeno tipo I) y marcadores de resorción ósea (piridinolina, deoxipiridinolina N o telopéptidos C-terminal del colágeno tipo I).<sup>22</sup>

Cuadro 2. Valores normales de marcadores bioquímicos de recambio óseo.

<b>Resorción ósea</b>		
<i>Calcio urinario de 24 horas</i>	Hombre	<300 mg
	Mujer	<250 mg
<i>Calcio urinario/creatinina matinal</i>		< 0,11 mg/mg
<i>Hidroxiprolina (OHP)/creatinina matinal</i>		<45 mg/mg
<i>Deoxipiridinolina urinaria:</i>		
	Hombre	<2.3-5.4 mM / mM Creatinina
<i>Premenopausica</i>	Mujer	<3-7 mM / mM Creatinina
<i>Postmenopausica</i>	Mujer	2-10 mM / mM Creatinina
<i>Telopéptido aminoterminal:</i>		
	Hombre	<85 nM BCE/ mM Creatinina
<i>Premenopausica</i>	Mujer	5-65 nM BCE/ mM Creatinina
<i>Postmenopausica</i>	Mujer	28-190 nM BCE/ mM Creatinina
<b>Formación ósea</b>		
<i>Fosfatasas alcalinas isoenzima ósea</i>	Hombre	15-41.3 U/L
<i>Premenopausica</i>	Mujer	11.6-29.6 U/L
<i>Postmenopausica</i>	Mujer	14.2-42.7 U/L
<i>Osteocalcina</i>		2-30 ng/mL
<i>Péptido de extensión de colágeno I:</i>		
	Hombre	76-163 ng/mL
	Mujer	69-147 ng/mL
* Valores normales difieren según las técnicas utilizados.		
BCE: bone collagen equivalent.		

## TRATAMIENTO

Además de hacer recomendaciones sobre los cambios en el estilo de vida, los médicos pueden prescribir medicamentos ante el diagnóstico de osteoporosis. Existen una serie de opciones terapéuticas que actúan progresivamente a lo largo del primer año, las cuales preservan la densidad ósea y reducen el riesgo de sufrir fracturas. Es importante que la elección del tratamiento se ajuste a las necesidades médicas y al estilo de vida de cada paciente.

Hay tratamiento de tipo no farmacológico, entre estas medidas se encuentran los factores relacionados con el estilo de vida, la realización de ejercicio con el propósito de producir incrementos muy leves en la densidad ósea son de vital importancia en la prevención y el manejo de la osteoporosis. Al mejorar el equilibrio, la fuerza muscular y la agilidad, las rutinas de ejercicios adaptadas según cada caso también pueden contribuir a prevenir las caídas. Los pacientes tienen que ser instruidos acerca de renunciar al tabaco y el consumo de alcohol. Una dieta balanceada con una proporción adecuada de vitaminas, minerales y proteínas, así como la ingesta de calcio y vitamina D.

El tratamiento farmacológico debe ser recomendado en mujeres con valor de T en cadera menor a 2.0 sin antecedentes de fracturas y con antecedentes con T menor a 1.5, los tratamientos recomendados se muestran en el cuadro 3.

Cuadro 3. Indicaciones aprobadas para los medicamentos utilizados en el tratamiento de la osteoporosis.<sup>20</sup>

<b>Fármaco (s)</b>	<b>Indicación aprobada</b>
Estrógenos	Prevención de osteoporosis posmenopáusica
Calcitonina de salmón	Tratamiento de osteoporosis posmenopáusica Tratamiento de hipercalcemia
Biofosfonatos (alendronato, ibandronato, risedronato, zoledronato)	Tratamiento y prevención de osteoporosis posmenopáusica Tratamiento de osteoporosis en hombres Tratamiento de osteoporosis inducida por esteroides
Moduladores selectivos de receptores estrogénicos (SERMS)	Tratamiento y prevención de osteoporosis posmenopáusica
Teriparatida	Tratamiento de osteoporosis posmenopáusica

Otros aspectos importantes del tratamiento son el apoyo psicológico y emocional, que puede estar a cargo de profesionales de la salud y grupos de apoyo a pacientes con osteoporosis. Ese apoyo puede ser de gran utilidad a la hora de aliviar la sensación de aislamiento y la depresión que sufren muchos pacientes con osteoporosis severa. También es de vital importancia la ayuda práctica como el asesoramiento sobre las maneras de reducir el riesgo de caídas, los dispositivos como andadores, protectores de cadera, y las técnicas para realizar las actividades cotidianas de forma segura, tales como caminar, alcanzar y levantar objetos, realizar quehaceres domésticos y jardinería.<sup>20</sup>

## PRONÓSTICO

Los medicamentos para tratar la osteoporosis pueden ayudar a prevenir fracturas, pero el aplastamiento vertebral que ya se ha presentado no se puede neutralizar.

Algunas personas con osteoporosis llegan a incapacitarse gravemente como resultado de los huesos debilitados. Las fracturas de cadera dejan alrededor de la mitad de los pacientes imposibilitados para caminar en forma independiente. Ésta es una de las razones principales por la que las personas son internadas en hogares para ancianos.<sup>20</sup>

En México no existen datos acerca de los gastos hospitalarios que genera el tratamiento y complicaciones de la osteoporosis, sin embargo la información publicada en otros países nos puede orientar acerca de su magnitud. En los Estados Unidos se calcula que la duración media de estancia en el hospital después de una fractura de cadera es de aproximadamente 30 días, mientras que en Suecia es de 15 días. La estancia hospitalaria para el tratamiento de la osteoporosis produce un gasto económico considerable para el sector salud, en el cuadro 4 se muestra el tipo de servicio para el seguimiento de pacientes con algún tipo de fractura en los Estados Unidos.<sup>21</sup>

Cuadro 4. Gastos de salud atribuibles a las fracturas osteoporóticas en los Estados Unidos por tipo de servicio y la fractura

Tipo de fractura	Tipo de servicio (millones de Dólares)						
	Hospitalización	Sala de emergencia	Médicos ambulatorios	Hospital para pacientes ambulatorios	Pacientes ambulatorios*	Asistencia en casa	Total
<b>Cadera</b>	5576	130	67	9	90	2811	8682
<b>Antebrazo</b>	183	55	93	8	4	41	385
<b>Espina</b>	575	20	13	3	10	126	746
<b>Otros</b>	2259	362	297	45	91	899	3953
<b>Total</b>	8594	567	470	65	194	3875	13764

\*Incluido cuidados en casa, servicios de ambulancia y equipo médico.

Tomado de *Prevention And Management Of Osteoporosis*, reporte de la WHO 2000

## ETIOLOGIA

La osteoporosis es una enfermedad multifactorial, en la que contribuyen factores genéticos y ambientales, derivando en el padecimiento. Dos factores que pueden considerarse de mayor importancia son el envejecimiento y la menopausia.

En las enfermedades multifactoriales, como es el caso, no se puede hablar de una causa sino de factores de riesgo.

Existen diferentes factores que se han visto asociados a una mayor incidencia de osteoporosis, entre ellos se encuentra fármacos, enfermedades digestivas, renales, hepáticas y hormonales como las mostradas en el cuadro 5.

Cuadro 5. Factores comúnmente asociados con osteoporosis.<sup>20</sup>

<b>1. Genéticos</b>	
a) <i>Historia familiar de osteoporosis</i>	
b) <i>Enfermedades monogénicas (Cuadro 6)</i>	
<b>2. Estilo de vida</b>	
a) <i>Sedentarismo</i>	c) <i>Ejercicio excesivo</i>
b) <i>Tabaquismo</i>	d) <i>Menopausia prematura</i>
<b>3. Nutricionales</b>	
a) <i>Intolerancia a los lácteos</i>	
b) <i>Baja ingesta de calcio</i>	
c) <i>Consumo crónico moderado o excesivo de alcohol</i>	
d) <i>Dieta alta en proteínas</i>	
<b>4. Enfermedades</b>	
a) <i>Enfermedad de Cushing</i>	e) <i>Hipertiroidismo</i>
b) <i>Anorexia nerviosa</i>	f) <i>Diabetes tipo 1</i>
c) <i>Enfermedades hepáticas</i>	g) <i>Artritis reumatoide</i>
d) <i>Enfermedades gastrointestinales crónicas</i>	
<b>5. Fármacos</b>	
a) <i>Hormonas tiroideas</i>	d) <i>Glucocorticoides</i>
b) <i>Anticoagulantes</i>	e) <i>Litio</i>
c) <i>Quimioterapias</i>	f) <i>Antiepilépticos</i>

En algunos casos se han identificado mutaciones individuales en un único gen que dan como resultado efectos en la masa ósea, en el recambio óseo y en la fragilidad ósea, presentándose como padecimientos específicos que se acompañan de osteoporosis.

Cuadro 6. Enfermedades monogénicas del hueso asociadas con masa ósea anormal <sup>23</sup>

Enfermedad	Genotipo	Genes	Función
<b>Osteogénesis imperfecta</b>	Baja DMO, fracturas	<i>COL1A1</i> <i>COL1A2</i> <i>CRTAP</i> <i>LEPRE</i>	Principal proteína del hueso Principal proteína del hueso Hidroxilación prolil del colágeno Hidroxilación prolil del colágeno
<b>Osteopetrosis</b>	Masa ósea alta, fracturas, insuficiencia de la médula ósea, ceguera, osteoartritis, osteomielitis	<i>CLCN7</i>  <i>TCIRG1</i>  <i>RANKL</i>	Canal de cloro en osteoclastos Bomba de protones de osteoclastos Esencial para la diferenciación de osteoclastos Esencial para la diferenciación de osteoclastos
<b>Síndrome de osteoporosis-pseudoglioma</b>	Baja masa ósea fracturas	<i>LRP5</i>	Aumenta la formación ósea e inhibe la resorción ósea mediante la regulación de la producción de OPG por los osteoblastos
<b>Esclerosteosis, enfermedad de van Buchem</b>	Alta masa ósea, crecimiento excesivo del hueso, síndrome de compresión en nervios	<i>SOST</i>	Inhibe la señalización de <i>LRP5</i>
<b>Deficiencia en aromatasa</b>	Osteoporosis	<i>CYP17</i>	Convierte andrógenos a estrógenos en tejidos periféricos
<b>Deficiencia en el receptor de estrógenos</b>	Osteoporosis, estatura alta	<i>ESR1</i>	Requerido para la transducción de señal donde es necesario el estrógeno

Tomado de *Genetics of Osteoporosis* de Stuart H. Ralston y Andre' G. Uitterlinden

## GENÉTICA DE LA OSTEOPOROSIS

Estudios realizados desde hace 30 años han demostrado que en gemelos monocigotos, la densidad mineral ósea era más similar que en gemelos dicigotos, a partir de este trabajo y otros posteriores se ha demostrado que entre el 75-80% de la variación de la masa ósea está genéticamente determinada.<sup>8,23</sup>

Distintos polimorfismos genéticos en el gen del receptor de la vitamina D (*VDR*), en el gen de la cadena alfa1 de la colágena (*COL1A1*), en el gen del receptor de estrógenos (*ER*), entre otros; se han asociado con variaciones de la masa ósea y con el remodelado óseo.

Algunos otros genes que se han encontrado relacionados a la densidad mineral ósea se muestran en el cuadro 7.

Cuadro 7. Lista de Genes asociados a la Densidad Mineral Ósea

Gen	Función
<b>ADAMTS18</b>	Miembro de la familia con dominios de desintegrina y metaloproteasas, sugerido como supresor de tumores.
<b>CRHR1</b>	Factor liberador de corticotropina juega un papel importante en la regulación de la liberación de ACTH por la hipófisis, que a su vez está implicado en la regulación de la liberación de cortisol por las glándulas suprarrenales.
<b>CTNNB1</b>	Es un factor de transcripción que juega un papel clave en la diferenciación de los osteoblastos a partir de células madre mesenquimales.
<b>FOXC2</b>	Participa en la diferenciación de los osteoblastos.
<b>MARK3</b>	Codifica microtúbulos con afinidad la familia de las quinasas.
<b>SOX6</b>	Factor transcripcional esencial en la diferenciación de los condrocitos y la osificación endocondral.

Tomado de *Genetics of Osteoporosis* de Stuart H. Ralston y Andre´ G. Uitterlinden

Una manera de abordar el estudio de las causas de la osteoporosis, es a través del estudio de enfermedades monogénicas con fragilidad ósea, una de ellas es la osteogénesis imperfecta, que se caracteriza por disminución en la masa ósea y un marcado aumento de la fragilidad ósea. La enfermedad es más frecuentemente causada por mutaciones en los genes *COL1A1* y *COL1A2*. Trabajos más recientes han demostrado que mutaciones en los genes *CRTAP*, *LEPRE* y *PPIB*, los cuales forman un complejo de proteínas necesarias para la prolil-3-hidroxilación del colágeno, causan formas recesivas de esta enfermedad.<sup>23</sup>

La osteogénesis imperfecta es un grupo de al menos cuatro enfermedades distinguibles por criterios clínicos, genéticos y químicos, caracterizados todos por fracturas múltiples y deformaciones óseas. Existen diferentes variantes que resultan de mutaciones que dan lugar a cadenas modificadas. En el ejemplo más claro, una mutación por delección causa la ausencia de un grupo de 84 aminoácidos en la cadena  $\alpha 1$ . Estas cadenas  $\alpha 1$  acortadas logran sintetizarse gracias a que la mutación conserva el marco de lectura original, éstas cadenas se asocian con cadenas  $\alpha 1$  normales y con cadenas  $\alpha 2$  impidiendo la formación normal de la triple hélice, lo que da lugar a la degradación de todas las cadenas. De las moléculas sintetizadas tres cuartas partes contienen al menos una cadena corta de colágeno  $\alpha 1$ . Otras formas de osteogénesis imperfecta son el resultado de mutaciones puntuales que sustituyen una glicina por algún otro aminoácido, su ausencia desestabiliza la hélice, ya que la glicina es fundamental para la formación de la triple hélice del colágeno.<sup>24,25</sup>

Otra manera de estudiar la osteoporosis, es como una enfermedad compleja, mientras las enfermedades genéticas mendelianas son poco frecuentes, las enfermedades complejas son más comunes y tienen un componente multigénico. La identificación del componente genético de este tipo de enfermedades es de suma importancia para dar tratamiento oportuno e incluso encontrar nuevas terapias. Sin embargo el conocimiento del componente genético se ha hecho lento por las dificultades inherentes a este tipo de enfermedades tales como la heterogeneidad genética, la variabilidad fenotípica y las interacciones gen-gen y gen-ambiente.<sup>26</sup>

El estudio de múltiples genes ha llevado a proponer genes implicados en la fisiopatología de la osteoporosis, lo que se ha logrado gracias a los avances de la tecnología del DNA recombinante y los resultados del Proyecto del Genoma Humano (PGH). El Proyecto del Genoma Humano fue un esfuerzo internacional para caracterizar el genoma del hombre y de otros organismos a través de mapas génicos completos y de la secuenciación de su DNA. Otros objetivos biomédicos del PGH fueron caracterizar la variabilidad genética que existe en la población mundial y desarrollar la tecnología para permitir el análisis genómico de los individuos, con el propósito de desarrollar investigaciones genéticas que permitan implementar medidas de diagnóstico precoz y tratamiento adecuado de este tipo de padecimientos.<sup>26</sup>

Además del PGH, en el año 2002 se inició el proyecto internacional llamado HapMap, con la colaboración de científicos de Japón, Reino Unido, Canadá, China, Nigeria y Estados Unidos, cuyo objetivo fue desarrollar un mapa de haplotipos del genoma humano en un período de 3 años, que describiese los patrones comunes de las variaciones de las secuencias del DNA humano. El HapMap describe los patrones de variación genética en los seres humanos, los haplotipos son un conjunto de SNPs (por sus siglas en inglés *Single Nucleotide Polymorphism*) cercanos que tienden a heredarse juntos por la poca recombinación que se ha dado a lo largo de generaciones, la separación entre los haplotipos se da por segmentos con recombinación más frecuente. Este proyecto también, ha resultado ser un instrumento de suma importancia al establecer la asociación de SNP y el riesgo de varias enfermedades crónicas de naturaleza multifactorial, con poder estadístico.<sup>27</sup>

Esta útil herramienta, ha permitido el desarrollo de los estudios de asociación, que consisten en la búsqueda de alelos de predisposición o protección de una enfermedad y existen diferentes modalidades para la selección de dichos alelos:

El primero es el estudio de genes candidatos, los cuales son aquellos genes identificados según la alteración que se observa en la patología relacionada con el proceso fisiopatológico.

Existen dos tipos de genes candidatos: los funcionales y los posicionales. Los genes candidatos funcionales son, como su nombre lo indica, genes cuyo producto está implicado en la patogénesis de la enfermedad. Los genes candidatos posicionales se identifican por estar localizados dentro de regiones cromosómicas que han mostrado ser importantes en estudios de ligamiento o de asociación, o por la detección de translocaciones cromosómicas que alteran el gen. La gran desventaja de este tipo de estudio es que se debe tener conocimiento de la patogénesis de la enfermedad para que de esta manera se determine que productos proteicos pueden estar alterados y por tanto, buscar si el gen se encuentra alterado.<sup>26,27</sup>

El segundo método es el llamado asociación de genoma completo o GWA (Genome-wide association), para llevar a cabo estos estudios se utilizan chips que incluyen de trescientos a quinientos mil SNPs, los cuales proporcionan información sobre una proporción importante de la variación genética.<sup>28</sup> Este estudio se diferencia del de ligamiento genético debido a que en éste se estudia el genoma de cualquier individuo sin ninguna relación, mientras que en el de ligamiento genético se trata del análisis de familias para determinar cómo se segregan los alelos en las diferentes generaciones.

Un tercer método es el estudio de ligamiento genético, se basa en la forma en cómo segregan dentro de las familias de pacientes una serie de marcadores a lo largo del genoma. Se denomina ligamiento a la propiedad o tendencia de los genes que se hallan en el mismo cromosoma a permanecer juntos en el paso de una generación a la siguiente. El ligamiento entre dos genes no es otra cosa que el reflejo de que son segmentos de la misma molécula de DNA. Por ejemplo dos genes que se encuentren en diferentes cromosomas no están ligados ni podrían estarlo porque pertenecen a moléculas de DNA distintas. En la transmisión de padres a hijos estos genes se distribuyen independientemente. Los genes localizados en el mismo cromosoma presentan un grado de ligamiento que varía desde muy importante hasta nulo y que es proporcional a la cercanía relativa de los genes en la molécula de DNA. El estudio de ligamiento se desarrolló con el uso de marcadores moleculares, los cuales son segmentos de DNA ya conocido. Existen tres secuencias polimórficas de DNA usadas

como marcadores: polimorfismos de longitudes en fragmentos de restricción (*RFLP*'s), repeticiones en tandem de número variable y repeticiones de dinucleótidos.<sup>28</sup>

La desventaja de este estudio es que para utilizarse un gen como marcador es indispensable saber su posición y sus variantes alélicas.

En este estudio se utilizó como gen candidato a *VDR* por su importancia desde el momento en que la vitamina D se une específicamente a él para la transcripción de diferentes proteínas que aumentan directa o indirectamente la formación de hueso, por lo que una falla en dicho gen podría afectar el proceso de equilibrio entre la formación y resorción ósea, si la balanza se desplaza hacia la resorción la densidad mineral ósea se vería disminuida, aumentando de esta manera los casos de osteopenia u osteoporosis.

## Gen *VDR*

El gen del receptor de vitamina D (*VDR*) se localiza en el cromosoma 12q13.11 (Figura 5).

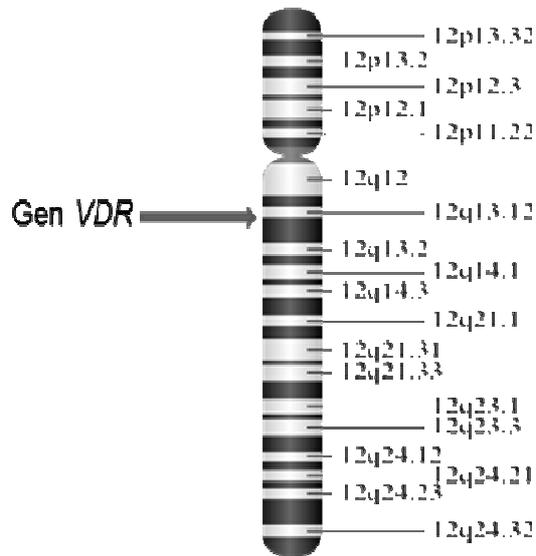


Figura 5. Representación del cromosoma 12.

El gen *VDR* está formado por 70.5 Kb que se compone de 11 exones y 10 intrones y codifica el receptor de la hormona nuclear de la vitamina D<sub>3</sub>, que también funciona como un receptor para el ácido biliar secundario litocólico.

El receptor pertenece a la familia de factores reguladores de la transcripción y muestra una similitud de secuencia con los receptores de hormonas esteroideas y tiroideas. Las actividades de este receptor hormonal nuclear son principalmente la regulación en el metabolismo mineral, aunque el receptor regula una variedad de otras vías metabólicas, tales como los implicados en la respuesta inmune y el cáncer. Las mutaciones en este gen están asociadas con resistencia a la vitamina D y el raquitismo tipo II.<sup>13</sup>

Los metabolitos activos de la vitamina D juegan un papel importante en la regulación de la función de células óseas y el mantenimiento de la homeostasis del calcio en el suero mediante la unión proteica al receptor de la vitamina D. Cuando la vitamina D entra en contacto con su receptor nuclear se fosforila, dicho complejo se combina con el receptor X retinoico (RXR) para formar un heterodímero, que interactúa a su vez con el elemento de respuesta de la vitamina D o *VDRE* (*vitamin D-responsive element*) dentro del DNA, causando un aumento o inhibición de la transcripción de los genes de respuesta a la vitamina D, como se muestra en la Figura 8. Entre los genes cuya transcripción aumenta se encuentran la calbindina o proteína fijadora de calcio o CaBP (*calcium binding protein*), 24-Ohasa, osteocalcina, fosfatasa alcalina. La transcripción de genes de la PTH, colágeno y c-myc, es inhibida como consecuencia de la acción de la vitamina D biológicamente activa.<sup>9</sup>

El *VDR* se compone de 427 aminoácidos, la región que abarca los aminoácidos del 16 al 122 constituyen dos dedos de zinc del tipo C4, los aminoácidos del 124 al 159 forman el dominio de unión al ligando de los receptores nucleares y la región comprendida por los aminoácidos 223 al 426, forma el dominio de unión al ligando de los receptores de vitamina D.<sup>14</sup>

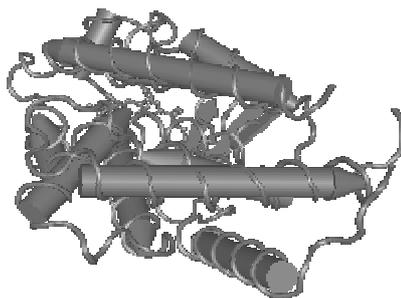


Figura 6. Estructura tridimensional proteica del receptor de vitamina D<sup>14</sup>

*Tomado de National Center for Biotechnology Information*

Se han encontrado muchos polimorfismos en todo el gen *VDR*, algunos de los más estudiados son *ApaI*, *EcoRV*, *Bsm I*, *Taq I*, *Tru9I* y *FokI*. Se muestra en la figura 7 la ubicación de los polimorfismos a lo largo del gen. El polimorfismo *Bsm I*, polimorfismo de un solo nucleótido, en este caso una modificación de nucleótido Guanina (G) por el nucleótido Adenina (A).<sup>29</sup>

Los polimorfismos *Bsm*–*Apa*–*Taq* se encuentran en la parte 3'UTR (por sus siglas en inglés *UnTranslated Region*- Región no traducida), esta zona en los genes está involucrada en la regulación de la expresión, especialmente a través de la regulación de la estabilidad del RNAm.

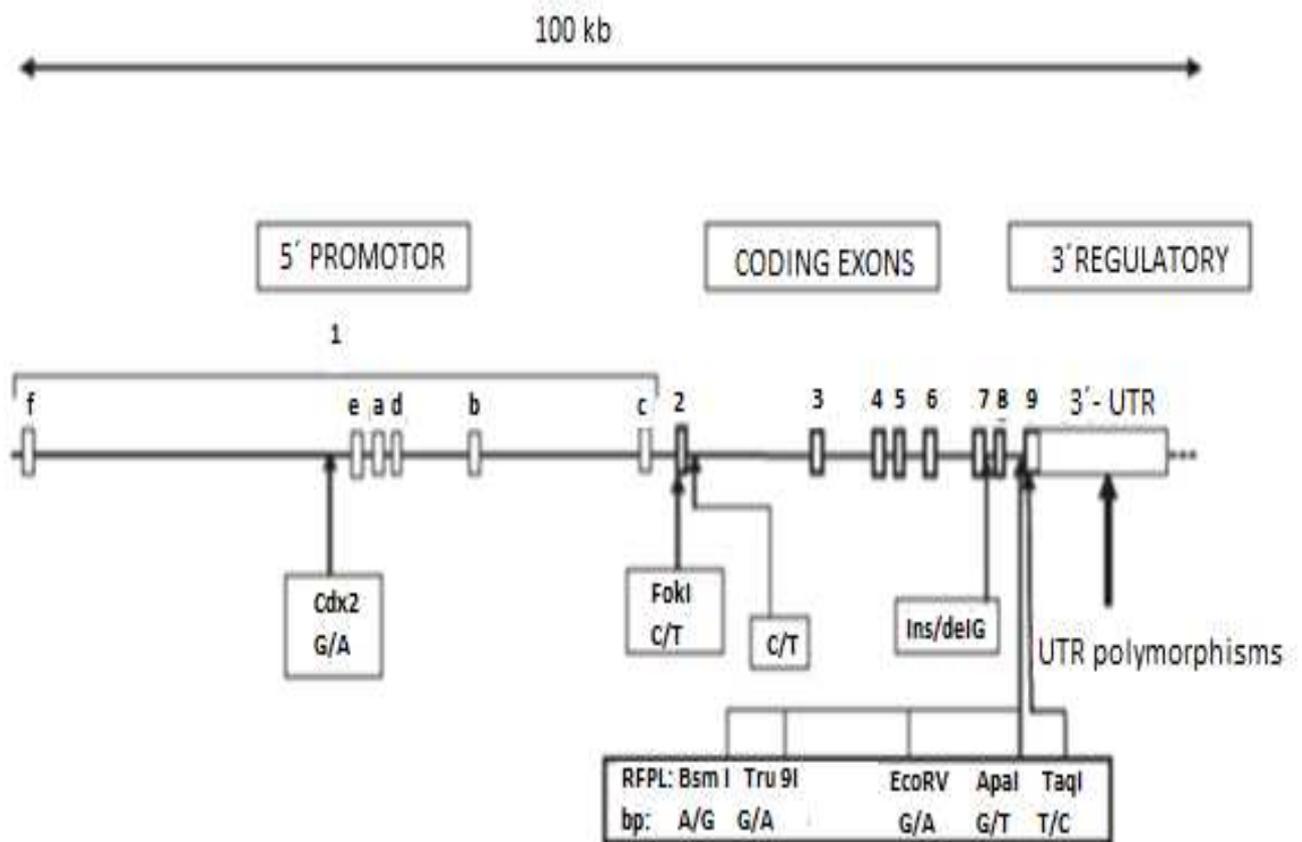


Figura 7. Estructura del gen *VDR* y posición de polimorfismos conocidos. Tomado de *Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms* de Uitterlinden<sup>30</sup>

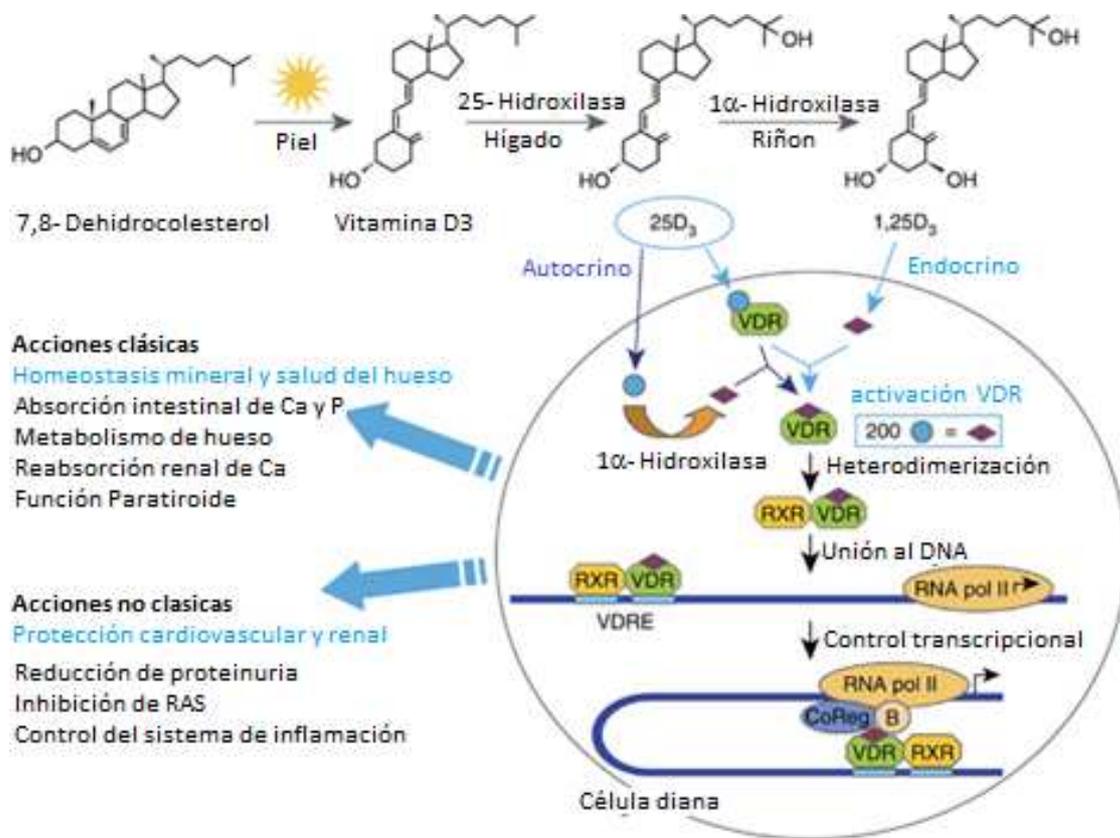


Figura 8. Activación del receptor de vitamina D. Modificado de Dusso Adriana. 2011.<sup>31</sup>

A partir de 1994, cuando se publicó la primera asociación de polimorfismos de *VDR* con baja densidad mineral ósea, se han llevado a cabo diversos estudios en muchas partes del mundo, en algunos casos se determinó la asociación de *Bsm I*<sup>32, 33, 34,35</sup> y en otros casos ninguna,<sup>36,37</sup> en el cuadro 8 se muestran las conclusiones de algunos estudios publicados en diversas poblaciones.

Cuadro 8. Estudios de asociación de *Bsm I* del gen *VDR* con la osteoporosis

Estudios	País	Conclusión
Morrison N, Qi J, Tokita A <i>Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles</i> 1994	Australia	Se observó una diferencia significativa entre el genotipo BB con una disminución de la DMO.
Langdahl BL, Gravholt CH, Brixen K, Eriksen EF. <i>Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and bone mass, bone turnover and osteoporotic fractures</i> 2000	Dinamarca	Encontraron que el alelo B se asoció con una baja DMO en la cadera, asociándose con las fracturas osteoporóticas.
Obermayer Pietsch B, Fruhauf G, Chararas K <i>Association of vitamin D receptor genotype BB with low density in hyperthyroidism</i> 2000	Austria	Observaron asociación entre el genotipo BB con baja masa ósea en pacientes con hipertiroidismo.
EI-Edel RH, Ghonaim MM, Abo-Salem OM, EI-Nemr FM. <i>Bone mineral density and vitamin D receptor polymorphism in beta-thalassemia major</i> 2010	Egipto	Se determinó que en pacientes con $\beta$ -talasemia que presentaban DMO baja el genotipo BB era estadísticamente significativo en comparación con los genotipos Bb y bb.
Wu W, Zhi XM, Li DF, Lin K, Xu L, Yang YH. <i>Vitamin D receptor gene polymorphism is not associated with bone mineral density of pre-menopausal women in Guangzhou</i> 2007	China	No encontraron relación entre los polimorfismos de <i>Bsm I</i> y los valores de la densidad mineral ósea.
Braga V, Sangalli A, Malerba G, Mottes M, Mirandola S, et. al. <i>Relationship among VDR (BsmI and FokI), COLIA1, and CTR polymorphisms with bone mass, bone turnover markers, and sex hormones in men</i> 2002	Italia	No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre la DMO y los genotipos de <i>Bsm I</i> .

## METODOLOGIA

Se trata de un estudio descriptivo, observacional, transversal y comparativo, de casos y controles.

Se realizó un estudio piloto, en el que se incluyeron los casos atendidos consecutivamente en el Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, durante 3 meses. Los pacientes con osteoporosis fueron seleccionados de acuerdo a los siguientes criterios: el diagnóstico de osteoporosis por la medición de su DMO con un valor de T igual o mayor a -2.5 DE, mujeres de más de 40 años las cuales no presentaran enfermedades óseas concomitantes, desordenes de tipo hormonal ni metabólicos que afectaran la DMO. El grupo de controles estuvo constituido por mujeres voluntarias de más de 40 años sin osteoporosis, ni la presencia de enfermedades óseas concomitantes. En ambos grupos el origen étnico de la población se documentó con al menos tres generaciones de residencia en México.

Previo consentimiento informado, se solicitó a las personas seleccionadas su autorización para participar en la investigación.

Con el propósito de realizar este trabajo de tesis se lograron obtener 40 muestras de sangre de pacientes con osteoporosis y 80 muestras de controles.

Para la genotipificación del polimorfismo *Bsm I* en ambos grupos de estudio, se utilizaron las técnicas de PCR – RFLP's.

## A) Extracción de DNA genómico

A partir de las muestras sanguíneas se obtuvo DNA genómico por medio de un método de la lisis inicial de los glóbulos rojos mediante solución hipotónica y la lisis total de las células y sus estructuras subcelulares mediante el empleo de detergentes con la posterior eliminación de la proteínas mediante precipitación salina y extracción con solventes orgánicos. La técnica se describe a continuación:

1. Se colocan 500  $\mu$ l de sangre periférica en un tubo eppendorf.
2. Se adicionan 500  $\mu$ l de solución de lisis. Agitar.
3. Se incuba durante 30 minutos a una temperatura de 4 °C.
4. Centrifugar a 14000 r.p.m. por 2 minutos. Se decanta el sobrenadante.
5. Lavar con 1 ml de solución de lisis. Agitar.
6. Centrifugar a 14000 r.p.m. por 2 minutos. Decantar el sobrenadante.
7. Resuspender el botón en 570  $\mu$ l de NaCl 5.0 mM. Agitar.
8. Adicionar 40  $\mu$ l de SDS al 10%. Agitar durante 5 minutos.
9. Adicionar 200  $\mu$ l de NaCl saturado. Agitar.
10. Centrifugar a 14000 r.p.m. por 10 minutos.
11. Recuperar la fase líquida.
12. Adicionar 600  $\mu$ l de cloroformo-alcohol isoamílico 49:1
13. Agitar por 2 minutos. Centrifugar a 14000 r.p.m. por 6 minutos.
14. Transferir la fase superior a un frasco que contenga 5 ml de etanol absoluto frío



Figura 9. Extracción de DNA a partir de muestras de sangre periférica.

15. Almacenar toda la noche a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
16. Con una micropipeta transferir cuidadosamente el DNA a un tubo eppendorf de 0.5 ml que contenga  $400\text{ }\mu\text{l}$  de etanol al 70%.
17. Centrifugar a  $14000\text{ r.p.m.}$  por 6 minutos.
18. Decantar el etanol.
19. Dejar secar el DNA a temperatura ambiente.
20. Resuspender en agua libre de DNAasas.



Figura 10. DNA después de su almacenamiento durante la noche a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$

Se verificó la calidad del DNA por medio de la preparación de gel de agarosa y se cuantificó la concentración por medio de espectrometría.

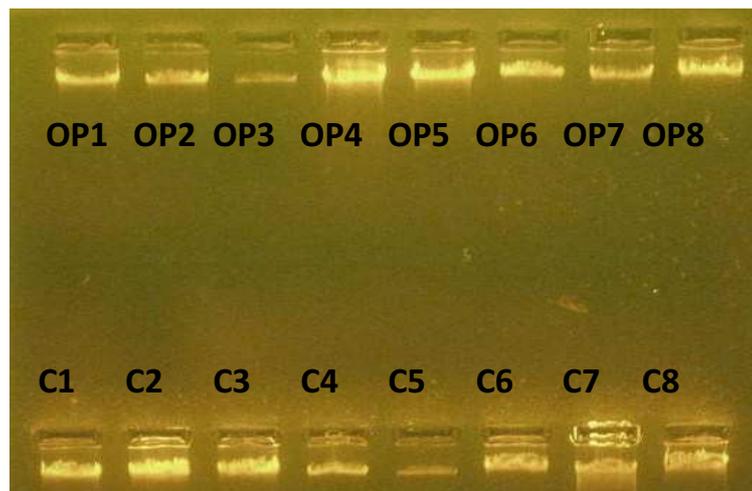


Figura 11. Gel de agarosa al 2% con muestras para verificar DNA obtenido de la extracción.

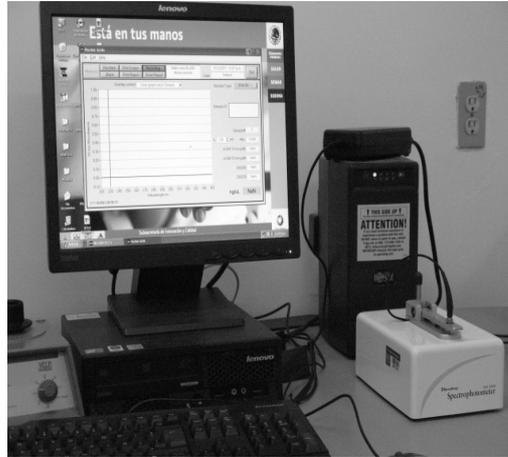


Figura 12. Cuantificación de DNA por espectroscopia en un Nanodrop

## B) Amplificación de DNA mediante PCR

Se llevó a cabo la amplificación del extremo 3' de *VDR* con los siguientes *primers*:

*Primer sentido*      5' CAACCA AGACTACAAGTACCGCGTCAGTGA 3'  
*Primer antisentido* 5' AACCAGCGGAAGAGGTCAAGG G 3'

Las concentraciones de los reactivos utilizados en la PCR fueron las siguientes:

- Taq. Master mix\* 11.25  $\mu$ L
- *Primer sentido* 0.25  $\mu$ L (0.25mM)
- *Primer antisentido* 0.25  $\mu$ L (0.25mM)
- DNA pacientes y controles 0.75  $\mu$ L. (75 ng)

\* Ampliqon III Taq DNA pol RED 1.1x Master Mix MgCl<sub>2</sub> 1.5 mM

La reacción se estandarizó en un termociclador MyCycler-Biorad con las siguientes condiciones:

Pre desnaturalización	Desnaturalización	Alineamiento	Extensión	Extensión final
94 °C- 2 minuto	94 °C- 30 seg.	62 °C- 30 seg.	72°C- 1 minuto	72°C- 7 minutos
35 ciclos				



Figura 13. Termociclador con el programa estandarizado para la amplificación de VDR

### C) Determinación de Alelos por RFLP 's

Posteriormente se llevó a cabo la digestión de los productos amplificados con la enzima de restricción *Bsm I* durante 3 horas a 65 °C.

Reactivo	μl
PCR	5.0
Buffer	1.5
Enzima <i>Bsm I</i> (5 Unidades/μl)	0.5
H <sub>2</sub> O	8.0



Figura 14. Termoblot con muestras para la realización de RFLP

En la secuencia normal de la región no traducida 3' de *VDR*, la enzima *Bsm I* genera un sitio de corte en el nucleótido de Adenina posicionado en el sitio 650 del fragmento amplificado, dando por resultado dos fragmentos de 650 pb y 175 pb, mientras que en el polimorfismo este corte por la endonucleasa se inhibe, identificándose así el polimorfismo como un fragmento de 825 pb. Cuando ambas cadenas del amplificado se cortan se trata de un homocigoto silvestre, con un patrón electroforético de dos bandas con 650 y 175 pb. Cuando ambas cadenas se conservan y se observa una única banda de 825 pb en la electroforesis, se trata de un homocigoto polimórfico y, cuando una cadena se conserva y otra no, dando un patrón de tres bandas de 825 pb, 650 pb y 175 pb, caracteriza a un genotipo heterocigoto.

#### **D) Análisis Estadístico**

Se utilizó la prueba de chi-cuadrada ( $X^2$ ) para calcular la diferencia entre las proporciones de los genotipos y alelos encontrados entre el grupo de estudio y el grupo control, con el propósito de saber si el alelo polimórfico, en su estado homocigoto o heterocigoto, se presentan en mayor proporción en los pacientes con osteoporosis.

Para determinar si el polimorfismo *Bsm I* tiene una asociación significativa con la osteoporosis, es decir para establecer si *Bsm I* es un factor predisponente, se utilizó la prueba *Odds Ratio*.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se estudiaron 80 controles y 40 casos, encontrando que el genotipo más frecuente en los controles fue de 60% y la frecuencia en el grupo de casos fue de 82%, como se muestra en la tabla 1.

La extracción de DNA de las muestras se verificó mediante un gel de agarosa al 2% como se muestra en la Figura 11.

Para verificar que la concentración era la requerida para el siguiente paso del procedimiento, la PCR, se cuantificó cada muestra mediante un método espectrofotométrico, las concentraciones de las muestras se encontraban entre los 80-120 ng/microlitros.

Todas las muestras fueron amplificadas por PCR obteniéndose un patrón en un gel de agarosa al 2% como se muestra en la Figura 11. Después de comprobar que el fragmento se encontraba en 825 pb (como se muestra en la figura 15) que era lo esperado se realizó su digestión mediante la endonucleasa *Bsm I*, mostrándose un patrón como el de la Figura 16.

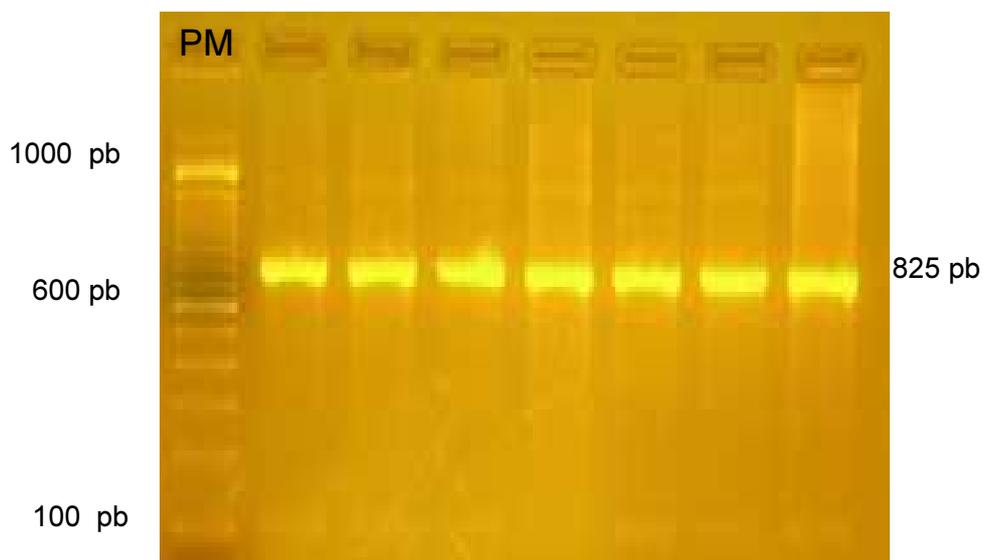


Figura 15. Amplificación del extremo 3' de *VDR*. PM. Marcador de peso molecular. 1-7 muestras de pacientes con osteoporosis.

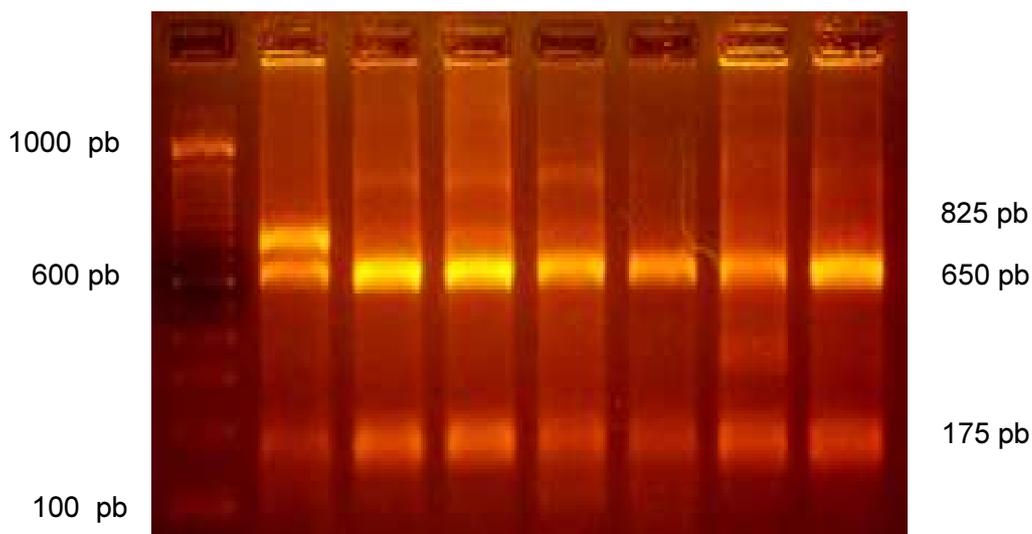


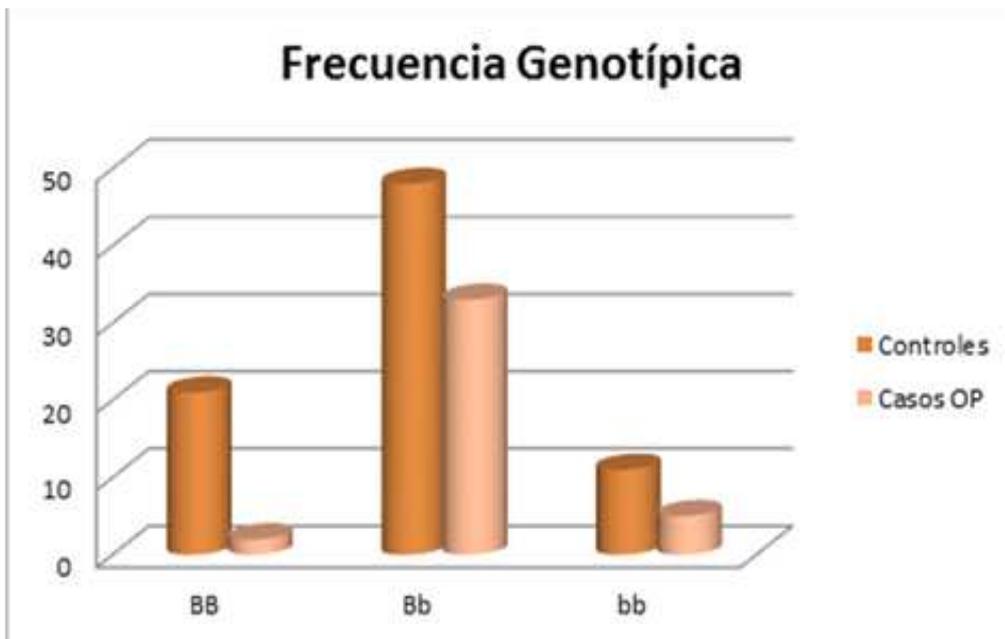
Figura 16. Digestión enzimática de BsmI. PM Marcador de peso molecular. 1. Paciente 1 Presenta el polimorfismo en estado heterocigoto: se observa una banda de 825 pb que corresponde a un alelo con inhibición del sitio de corte y por lo tanto el polimorfismo B de VDR, y otras dos bandas de 650 y 175 respectivamente pertenecientes al patrón normal del corte enzimático. 2-7 Pacientes 2 al 7 con ausencia de polimorfismo en ambos alelos siendo homocigoto silvestre.

### Diferencias Genotípicas

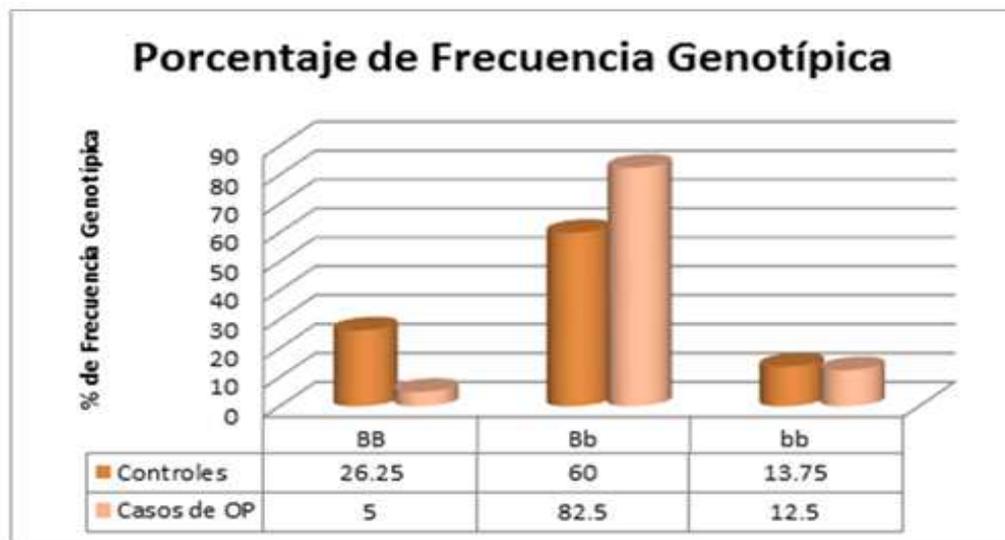
El análisis estadístico de las frecuencias genotípicas por el método de chi cuadrada ( $X^2$ ) con un nivel de significancia del 5%, mostró una diferencia significativa entre el genotipo BB (homocigoto polimórfico) y el Bb (heterocigoto) ( $X^2= 8.31$  comparada con  $X^2= 3.841$  con un intervalo de confianza de 95%), no así entre el genotipo BB (homocigoto polimórfico) y el genotipo bb (homocigoto silvestre) ( $X^2= 3.259$ ) Ver tabla 2.

Tabla 1. Frecuencias Genotípicas de casos y controles

Genotipo	Controles n= 80		Casos n=40	
	Número de casos	Frecuencia	Número de casos	Frecuencia
Homocigoto polimórfico (BB)	21	26%	2	5%
Heterocigoto (Bb)	48	60%	33	82%
Homocigoto silvestre (bb)	11	14%	5	13%



Gráfica 1. Se muestran el número de pacientes para cada genotipo en el grupo de casos con OP y casos control.



Gráfica 2. Se muestran los porcentajes de las frecuencias genotípicas en el grupo de casos con OP y el grupo de casos control.

## Comparación entre genotipos

Tabla 2. Se muestran los resultados obtenidos mediante la prueba  $\chi^2$

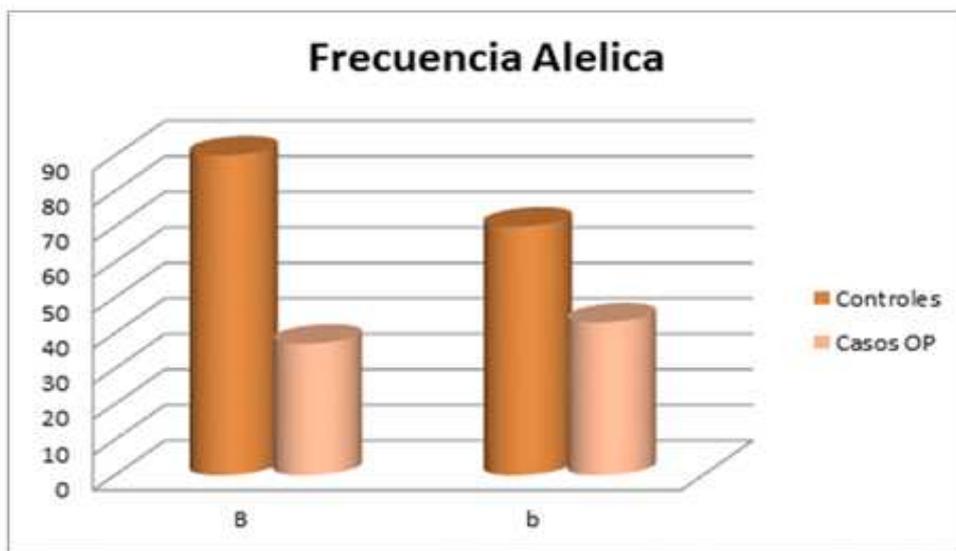
Genotipos		$\chi^2$
Homocigoto polimórfico vs Heterocigoto	BB vs Bb	8.239
Homocigoto polimórfico vs Homocigoto silvestre	BB vs bb	3.259
Heterocigoto vs Homocigoto silvestre	Bb vs bb	0.505
$\chi^2=3.841$ con un intervalo de confianza del 95%		

En el grupo de controles la frecuencia alélica fue de 56.25% para el alelo polimórfico y de 43.75% para el alelo silvestre mientras que para en el grupo de casos la frecuencia alélica fue de 46.25% para el alelo polimórfico y de 53.75% para el alelo silvestre, como se muestra en la Tabla 3.

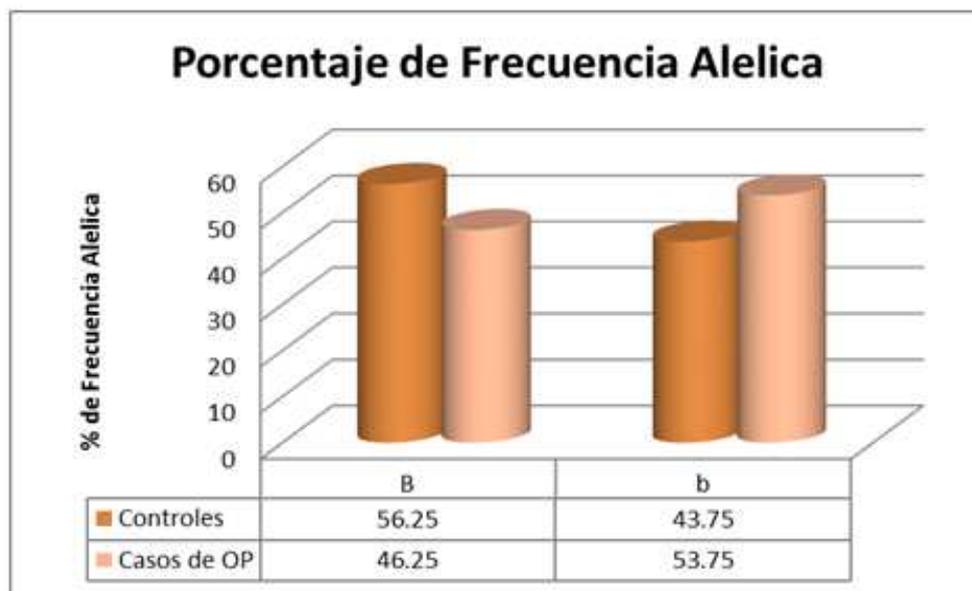
Para corroborar la asociación del polimorfismo con la enfermedad se utilizó la prueba Odds ratio, por el valor obtenido (ver Tabla 3) menor a 1, determina que no existe un riesgo relativo al presentarse el alelo polimórfico para presentar osteoporosis.

Tabla 3. Frecuencia Alélica y resultado de  $\chi^2$

Alelo	B		b		$\chi^2$
	Número	Porcentaje (%)	Número	Porcentaje (%)	
Controles	90	56.25	70	43.75	2.141
Casos	37	46.25	43	53.75	
$\chi^2=3.841$ con un intervalo de confianza del 95%					
<b>OR calculada 0.6693</b>					
<b>Probabilidad 40.09</b>					



Gráfica 3. Se muestra el número de frecuencia alélica de cada grupo; casos de OP y casos control



Gráfica 4. Se muestran los porcentajes de las frecuencias alélicas en el grupo de casos de OP y el grupo de controles.

Los resultados encontrados coinciden con los reportados en otras poblaciones como en Austria (34), en el cual se encontró que el genotipo BB estaba estadísticamente correlacionado con una menor DMO en pacientes que en controles y en Egipto (35), pacientes con beta-talasemia que presentan complicaciones óseas mostraron también significancia estadística con el genotipo BB en comparación con su grupo control.

Al realizar el estudio entre los genotipos BB y bb, así como Bb y bb, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo de estudio.

### **Diferencias Alélicas**

Con respecto a la distribución de las frecuencias alélicas entre los grupos, la prueba de  $X^2$  demostró que no existe diferencia significativa, como se muestra en la tabla 3 y gráfica 3.

### ***Bsm I* como alelo predisponente**

El resultado obtenido de la prueba de *Odds Ratio* (razón de productos) no pudo confirmar que *Bsm I* es un alelo de riesgo o predisponente de la osteoporosis (OR=0.6693) en este estudio piloto de casos y controles. Ver tabla 3.

## CONCLUSIONES

- En este estudio de población mexicana el polimorfismo *Bsm I* presentó una diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes que presentan osteoporosis y el grupo control, en este caso solo se encontró diferencia entre los genotipos BB (homocigoto polimórfico) y Bb (heterocigoto), por lo que se espera sirva como un factor de riesgo para la osteoporosis.
- Los alelos, B y b, de manera aislada no fueron estadísticamente diferentes por lo que no se considerarían como factor de riesgo por si solos.
- Los resultados obtenidos en el estudio demuestran que el polimorfismo *Bsm I*, no puede ser utilizado como marcador genético de susceptibilidad para la presencia de osteoporosis; ya que se requiere de un número mucho mayor de casos de OP y controles para de esta manera confirmar si el alelo normal es estadísticamente significativo al alelo polimórfico.

## PERSPECTIVAS

- Esperamos que en un futuro se pueda ampliar el tamaño de muestra de los grupos de estudio para determinar si existe una relación contundente de *Bsm I* con la osteoporosis. De esta manera el polimorfismo podrá ser utilizado como marcador genético de predisposición, lo que permitirá implementar medidas de prevención a las personas susceptibles.
- Es de suma importancia seguir buscando en la población mexicana otras variantes genéticas que estén implicadas en la presentación de la osteoporosis, su evolución y complicaciones, para un adecuado manejo del padecimiento que mejoren la calidad de vida de los pacientes.
- Se espera que en este tipo de proyectos se cuente con la participación de las diferentes instituciones del sector salud para ampliar el campo de estudio y la posibilidad de contar con mayores recursos económicos que sean adecuadamente utilizados.

## REFERENCIAS

1. ROY Yuen-chi Lau y Xia GUO. (2011) ***A Review on Current Osteoporosis Research: With Special Focus on Disuse Bone Loss***. Journal of Osteoporosis. Junio Pp. 1-6.
2. MONTES Del Pino J. (2010) ***Osteoporosis: Concepto e importancia. Cuadro clínico***. Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral.; 2 (supl 4). p. 15-20
3. ***Instituto Nacional de las Mujeres*** (2011)  
[http://estadistica.inmujeres.gob.mx/formas/fechas\\_conmemorativas/20-10.pdf](http://estadistica.inmujeres.gob.mx/formas/fechas_conmemorativas/20-10.pdf)
4. MORENO, Esteban, GARGALLO, M. y LÓPEZ de la Torre. (1997) Ed. Diaz de Santos ***Diagnóstico y tratamiento en enfermedades metabólicas***. Pp. 274
5. CLARK Patricia, Carlos F, VÁZQUEZ M. José L. (2010) ***Epidiology, costs and burden of osteoporosis in Mexico***. Arch Osteoporos.
6. DIAZ, Henríquez M. y GOMEZ Díaz J. (2010) ***La osteoporosis. Definición. Importancia. Fisiopatología y Clínica***. Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral. p. 3-7
7. **WHO Scientific Group On The Assessment Of Osteoporosis At Primary Health Care Level** (2004) p. 3-10
8. A. PIERCE, Benjamin (2009) ***Genética un enfoque conceptual***. Ed. Médica Panamericana. 3ra. ed. España.
9. MENDOZA, Victoria y Alfredo, REZA (2006) ***Enfermedades del metabolismo óseo y mineral***. Ed. Alfil. México Pp. 45-51.
10. OZEL, L. ATA, P, OZEL M.O, TOROS A.B., KARA M., UNAL E., et.al. (2011) ***Risk Factors for Osteoporosis After Renal Transplantation and Effect of Vitamin D Receptor Bsm I Polymorphism***. Transplantation Proceedings April, vol. 43, pp. 858-862.
11. HORST, S. Wanda, IGNASZAK, Magdalena, MARCINKOWSKA, Michalina, KACZMAREK, Marta, STAJGIS, Malgorzata, et. al. (2008) ***Association analysis of Vitamin D receptor gene polymorphisms with bone mineral density in young women with Graves´ disease***. Acta Biochimica Polonica Vol. 55, pp. 371-380.
12. TAK, S. Kuen, EUN, Il-Soo y SUB Jung (2010) ***Polymorphism in vitamin D receptor is associated with bone mineral density in patients with adolescent idiopathic scoliosis***. Eur Spine Journal Vol. 19 pp. 1545-1550.

13. KUMAR, Vinay, ABBAS, Abul, NELSON Fausto and Richard N. Mitchell (2008) ***Patología Humana***. Elsevier. España. p. 318
14. ***National Center for Biotechnology Information***  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7421>
15. MARCUS, Robert (2008) ***Osteoporosis. Vol. 1***. 3ra. Edición p. 28
16. ***International Osteoporosis Foundation***  
<http://www.iofbonehealth.org/facts-and-statistics.html>
17. Sociedad Española de Reumatología (2010) ***Manual de Enfermedades óseas***  
Editorial Medica Panamericana. 2da. Ed. Pp. 20-24, 218.
18. JOHNELL O and KANIS JA (2006) ***An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures***. *Osteoporos Int* 17:1726.
19. Boletín de la Escuela de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Chile  
***Enfrentamiento Clínico del Paciente con Osteoporosis***.
20. NARRO, R. José, RIVERO, S. Octavio y Joaquín LOPEZ (2010) ***Diagnóstico y tratamiento en la práctica médica***. Ed. Manual Moderno. 4ta. ed. México. Pp. 387-392.
21. ***Prevention And Management Of Osteoporosis*** Reporte de World Health Organization 2000
22. Boletín de la Escuela de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Chile  
***Utilidad de los Marcadores Bioquímicos en el Recambio Óseo***.
23. RALSTON Stuart H. and UITTERLINDEN Andre G. (2010) ***Genetics of Osteoporosis***. October *Endocrine Reviews*. Pp. 629-662
24. DEVLIN, Thomas (2004) ***Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas***. Ed. Reverté España 4ta. ed pp. 270
25. ***Genética, Nutrición y Enfermedad***. (2008) Ed. EDIMSA Editores Médicos España pp. 105-108
26. OLIVA, Rafael y José Manuel VIDAL (2006) ***Genoma Humano Nuevos avances en investigación, diagnóstico y Tratamiento***. Ed. Publicaciones 1Edicions de la Universitat de Barcelona pp. 49-56.
27. GIL, Ángel (2010) ***Tratado de Nutrición Tomo IV Nutrición Clínica***. Ed. Medica Panamericana México 2da. ed Pp 34

28. **Factores Genéticos Implicados en la susceptibilidad a la Artritis Reumatoide. Polimorfismos en genes candidatos y estudios de confirmación.** Tesis Doctoral Rebeca Diéguez González Facultad de Medicina y Odontología España
29. LEWIECKY, Michael (2011) **Sclerostin: a novel target for intervention in the treatment of osteoporosis.** Discovery Medicine. October Pp. 263-273
30. UITTERLINDEN, André, FANG, Yue, VAN MEURS, Joyce, POLS, Huibert and VAN LEEWUEN, Johannes (2004) **Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms** Gene an international journal on genes and genomes July Pp. 143-156.
31. DUSSO, Adriana. (2011) **Kidney disease and vitamin D levels: 25-hydroxyvitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D and VDR activation.** Official Journal of the International Society of Nephrology September Pp. 136-141.
32. MORRISON N, QI J, TOKITA A, KELLY P, CROFTS Linda (1994) **Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles** Nature May
33. LANGDAHL BL, GRAVHOLT CH, BRIKEN K, ERIKSEN EF. (2000) **Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and bone mass, bone turnover and osteoporotic fractures** European Journal of Clinical Investigation July Pp. 608-617.
34. OBERMAYER Pietsch B, FRUHAUF G, CHARARAS K, MIKHAIL-REINISH J, RENNER W, et. al. (2000) **Association of vitamin D receptor genotype BB with low density in hyperthyroidism** Journal of Bone and Mineral research Oct. Pp. 1950-1955.
35. EL-EDEL RH, GHONAIM MM, ABO-SALEM OM, EL-Nemr FM. (2010) **Bone mineral density and vitamin D receptor polymorphism in beta-thalassemia major** Pakistan Journal of Pharmaceutical sciences Jan Pp. 89-96.
36. WU W, ZHI XM, LI DF, LIN K, XU L, YANG YH (2007) **Vitamin D receptor gene polymorphism is not associated with bone mineral density of pre-menopausal women in Guangzhou** Journal of Southern Medical University Mar Pp. 364-366.
37. Braga V, Sangalli A, Malerba G, Mottes M, Mirandola S, et. al. (2002) **Relationship among VDR (Bsm1 and FokI), COL1A1, and CTR polymorphisms with bone mass, bone turnover markers, and sex hormones in men** Calcified Tissue International Jun Pp. 457-462

## GLOSARIO

**Ácido desoxirribonucleico ADN.-** Ácido nucleico formado por nucleótidos en los que el azúcar es desoxirribosa, y las bases nitrogenadas son adenina, timina, citosina y guanina. El ADN codifica la información para la reproducción y funcionamiento de las células y para la replicación de la propia molécula de ADN.

**Alelo.-** Cada una de las variantes alternativas de un gen en un locus determinado. Los diferentes alelos producen variaciones en los rasgos heredados, por ejemplo los grupos sanguíneos. Cada individuo tiene dos alelos de cada gen, un alelo heredado del padre y el otro de la madre.

**Apoptosis.-** Es el proceso ordenado por el que la célula muere ante estímulos extra o intracelulares. La apoptosis es fundamental en el desarrollo de órganos y sistemas, en el mantenimiento de la homeostasis del número de células y en la defensa frente a patógenos.

**Cifosis.-** curvatura de la columna torácica, de 45 grados o mayor que se puede apreciar en una placa de rayos X.

**Electroforesis.-** La electroforesis es una técnica para la separación de moléculas según la movilidad de estas en un campo eléctrico a través de una matriz porosa, la cual finalmente las separa por tamaños moleculares y carga eléctrica.

**Enzima de restricción.-** Son endonucleasas que reconocen una secuencia de ADN entre 4-8 bp. El sitio de reconocimiento se llama sitio de restricción, y la enzima rompe un enlace fosfodiéster en la cadena sentido y otro enlace fosfodiéster en la cadena antisentido.

**Gen.-** Secuencia completa de ácidos nucleicos necesaria para la síntesis de un producto génico funcional.

**Genética.-** La genética es la rama de la biología que se encarga del estudio de la variación y herencia en sucesivas generaciones a través de los genes.

**Genómica.-** La genómica se encarga del estudio de los genomas. Se considera a un genoma como el conjunto de información genética (ADN) de un organismo. A diferencia de la genética clásica, en la que a partir de un fenotipo se busca el o los genes responsables de dicho fenotipo, la genómica tiene como objetivo predecir la función de los genes a partir de su secuencia. Para conseguir este tipo de objetivos emplea

herramientas basadas en análisis genéticos masivos (del orden de miles de genes) frecuentemente de forma simultánea (en un reducido número de experimentos).

**Heterocigoto.-** Individuo que tiene dos alelos diferentes en un locus, uno en cada cromosoma. En el caso de una mutación patológica, un alelo es normal y otro anormal.

**Homocigoto.-** Individuo que tiene dos alelos idénticos en un mismo locus determinado, uno en cada cromosoma.

**Hueso cortical.-** El hueso cortical es un hueso denso o compacto, con gruesas capas de osteoide calcificado, que se ubica en la diáfisis de huesos largos y en los platillos vertebrales. En contraste, el hueso trabecular está compuesto de numerosas espículas óseas que atraviesan las cavidades medulares de los huesos planos y metáfisis de huesos largos y abunda en los cuerpos vertebrales.

**Hueso trabecular.-** O hueso esponjoso, es uno de los dos tipos de tejido óseo que forma los huesos. En comparación con el hueso compacto, tiene una superficie mayor, pero es menos denso, más suave, más débil y menos rígido. Por lo general se produce en los extremos de los huesos largos, en las proximidades de las articulaciones y en el interior de las vértebras. El hueso esponjoso está muy vascularizado y con frecuencia contiene la médula ósea roja, donde la hematopoyesis, o producción de células sanguíneas, tiene lugar. La principal unidad anatómica y funcional del hueso esponjoso es la trabécula.

**Marcador de peso molecular.-** Es un conjunto de moléculas de peso conocido utilizadas para proporcionar una estimación del tamaño de las moléculas sometidas a electroforesis en gel.

**Locus.-** Lugar o localización física de un gen específico en un cromosoma.

**Osteoblasto.-** Célula de forma cúbica, citoplasma basófilo y ricas en una isoenzima específica de la fosfatasa alcalina. Se halla en contacto directo con las superficies óseas formando grupos compactos de una sola capa de espesor. Los osteoblastos sintetizan el componente orgánico de la matriz ósea (colágeno tipo I, proteoglicanos, proteínas implicadas en la adhesión celular, osteocalcina y factores de crecimiento) y controlan el depósito de las sales minerales.

**Osteocito.-** Célula ósea madura, derivada de los osteoblastos, que se alojan en lagunas dentro de la matriz ósea calcificada, ajustándose a la forma de la laguna. Su núcleo es aplanado y su citoplasma escaso en organelos y muestra poco RER y un aparato de Golgi notablemente reducido. Aunque parece una célula inactiva, secreta sustancias necesarias para conservar el hueso.

**Osteoclasto.-** Célula multinucleada, de citoplasma acidófila y rica en anhidrasa carbónica y fosfatasa ácida resistente al tartrato. Derivan de la célula madre hematopoyética a través de células formadoras de colonias de granulocitos y macrófagos. Los osteoclastos reabsorben el hueso en dos fases: primero solubilizan el mineral y luego digieren la matriz orgánica.

**Osteopenia.-** La osteopenia es una condición donde la densidad mineral ósea es inferior a la normal. Es considerado por muchos médicos como un precursor de la osteoporosis. Sin embargo, no todas las personas diagnosticadas con osteopenia desarrollarán osteoporosis. Más específicamente, la osteopenia se define como una densidad mineral ósea T-score entre -1.0 y -2.5.

**Osteoporosis.-** La osteoporosis es una disminución de la masa ósea y de su resistencia mecánica que ocasiona susceptibilidad para las fracturas. La osteoporosis no tiene un comienzo bien definido y, generalmente, el primer signo visible de la enfermedad llega a ser una fractura de la cadera, la muñeca o de los cuerpos vertebrales que originan dolor o deformidad. Definida con una T-score -2.5.

**Polimorfismo.-** Se define cuando existen diferentes variantes alélicas de un mismo locus, con una frecuencia, en la población general, mayor o igual al 1%.

**Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP).-** Es una diferencia en las secuencias de ADN homólogas que pueden ser detectadas por la presencia de fragmentos de diferentes longitudes después de la digestión de las muestras de ADN en cuestión con endonucleasas de restricción específicas.

**Single Nucleotide Polymorphism (SNP).-** Polimorfismo de un solo nucleótido, el tipo más común de variación genética. Se ha estimado una frecuencia de un SNP por cada 1250 pares de bases, por lo que se calculan que existe un total de 2.5 millones de SNP en el genoma humano.