

Francisco José Rodríguez Velasco

ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE LOS POLIMORFISMOS COMUNES DEL GEN DEL VDR Y SU RELACIÓN CON LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN MUJERES ESPAÑOLAS POSTMENOPÁUSICAS

TESIS DOCTORAL

ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE LOS
POLIMORFISMOS COMUNES DEL GEN DEL VDR
Y SU RELACIÓN CON LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA
EN MUJERES ESPAÑOLAS
POSTMENOPÁUSICAS

Francisco José Rodríguez Velasco



TESIS DOCTORAL

***ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE LOS POLIMORFISMOS COMUNES DEL GEN DEL VDR
Y SU RELACIÓN CON LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN MUJERES ESPAÑOLAS
POSTMENOPÁUSICAS***

FRANCISCO JOSÉ RODRÍGUEZ VELASCO

DEPARTAMENTO DE ENFERMERÍA

AÑO 2013



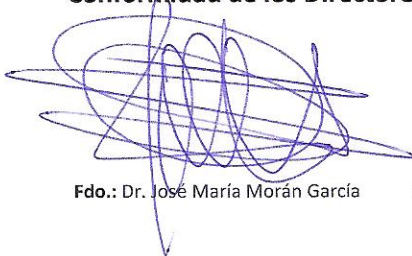
TESIS DOCTORAL

*ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE LOS POLIMORFISMOS COMUNES DEL GEN DEL VDR
Y SU RELACIÓN CON LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN MUJERES ESPAÑOLAS
POSTMENOPÁUSICAS*

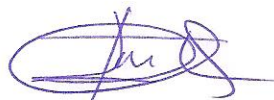
FRANCISCO JOSÉ RODRÍGUEZ VELASCO

DEPARTAMENTO DE ENFERMERÍA

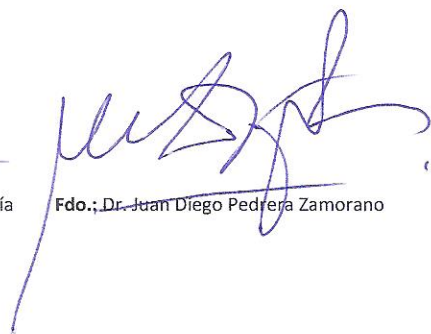
Conformidad de los Directores:



Fdo.: Dr. José María Morán García



Fdo.: Dr. Jesús María Lavado García



Fdo.: Dr. Juan Diego Pedreña Zamorano

AÑO 2013

Universidad de Extremadura

Departamento de Enfermería

***ESTUDIO DE LA PREVALENCIA DE LOS POLIMORFISMOS COMUNES DEL GEN
DEL VDR Y SU RELACIÓN CON LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN MUJERES
ESPAÑOLAS POSTMENOPÁUSICAS***

***Memoria presentada en el Departamento de Enfermería de la Universidad de
Extremadura, como aspirante al Grado de Doctor por la Universidad de Extremadura,
por D. Francisco José Rodríguez Velasco.***

*La Ciencia Humana consiste más en destruir errores
que en descubrir verdades.*
SÓCRATES

A Guadalupe.

A mis padres, Antonio y Salud, y a mi hermana, María.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es fruto del esfuerzo de muchas personas, las cuales de manera desinteresada han contribuido para llegar a su fin, no resultando posible expresar con palabras el enorme agradecimiento que siento hacia todas ellas.

A mis padres, Antonio y Salud por todo lo que me han enseñado en la vida, reconociendo los numerosos esfuerzos realizados para contribuir al desarrollo académico y personal de sus hijos, así como para que este momento se hiciese realidad algún día. A mi hermana, María, por compartir momentos de estudios inolvidables, así como por *soportarme* durante bastantes años.

A mis directores de tesis, el Dr. Juan Diego Pedrera Zamorano, por constituir un referente del trabajo bien hecho y de insaciable dedicación a la ciencia. Quien compartió generosamente conmigo su valiosa experiencia y conocimiento, depositando su confianza, brindándome la oportunidad de trabajar en este gran grupo humano. Al Dr. José María Morán García, por su *totipotencialidad*, supervisión, paciencia, entrega y horas de trabajo intenso desinteresado. Por sembrar la duda en la *verdad*, la crítica en el momento justo y lo posible en lo imposible. Al Dr. Jesús María Lavado García, por su apoyo, sus valiosos consejos y las fructíferas sobremesas "*científicas*" que hemos disfrutado juntos.

Al Dr. Raúl Roncero Martín por su disponibilidad, atención, entrega y comprensión. Al Dr. Julián Fernando Calderón García por el entusiasmo, entera disposición y capacidad reflexiva. Al Dr. Rafael Guerrero Bonmatty por su acompañamiento en este camino.

A la Dra. M^a de la Luz Canal Macías y a la Dra. Purificación Rey Sánchez, a las Profesoras D^a Trinidad Rodríguez Domínguez y D^a M^a Carmen Costa Fernández por su generosidad, colaboración y apoyo desinteresado.

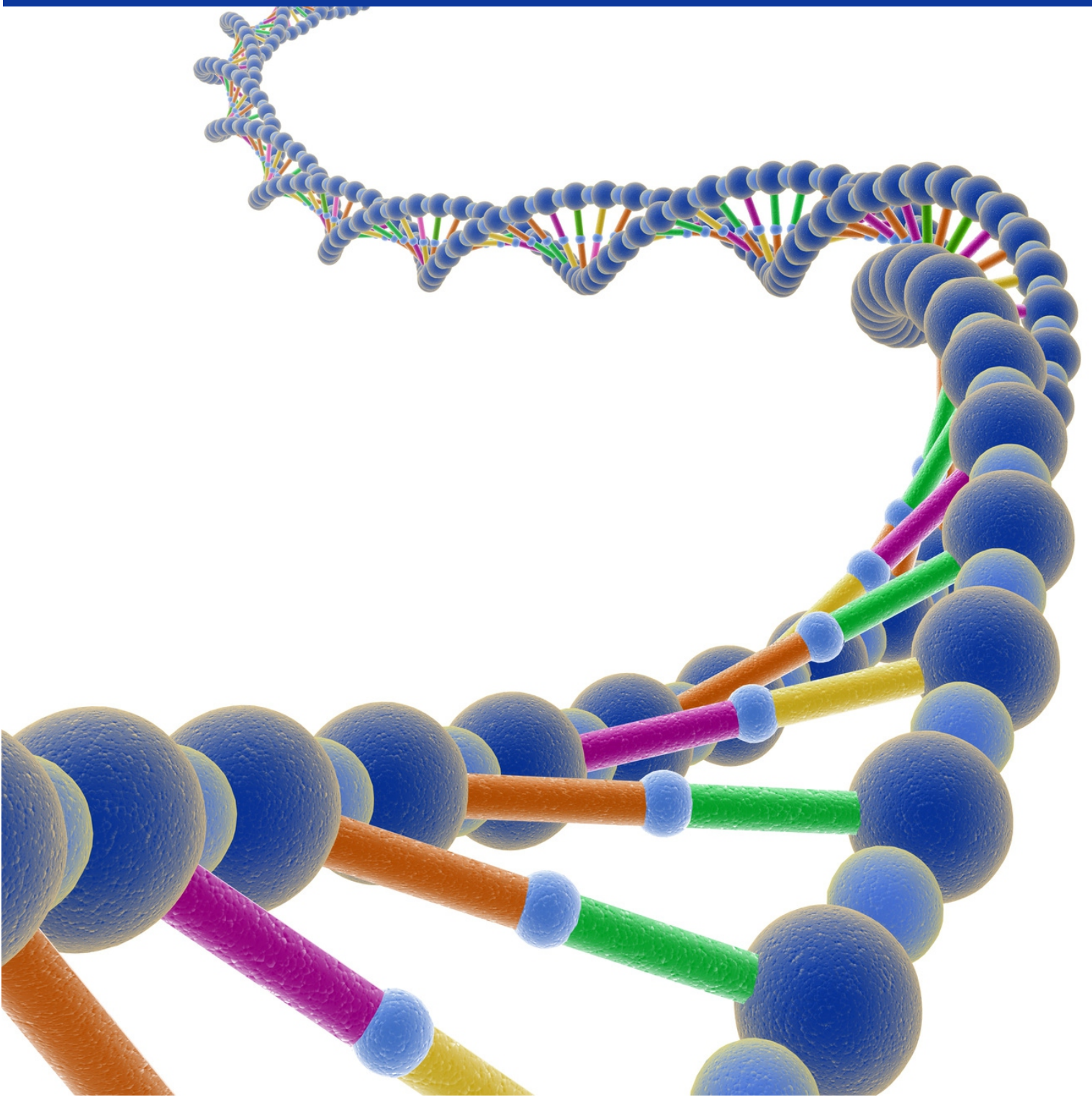
A Guadalupe, mi compañera de viaje y pilar insustituible en mi vida. Gracias por tu apoyo incondicional, por estar siempre a mi lado, en los buenos y en los malos momentos y por permitir que *nuestro* tiempo pudiese estar ocupado por el desarrollo de este trabajo. Éste no hubiese sido posible sin tu ayuda. Gracias por hacerme feliz.

A todos y cuantos ocupan un lugar especial en mi vida y que no he podido atender tanto como deseaba durante la elaboración de este trabajo, sabiendo disculpar mi ausencia.

A todos los que han estado presentes de alguna forma durante todo este tiempo y que generosamente han pensado en mí.

A todos, mi eterno agradecimiento.

ÍNDICE



ÍNDICE

ÍNDICE	11
Índice de Tablas	19
Índice de Figuras	25
Índice de Abreviaturas	27
RESUMEN / ABSTRACT	31
Resumen	33
Abstract.....	35
I. INTRODUCCIÓN	37
II. METABOLISMO MINERAL	43
2.1. Síntesis de la Vitamina D	45
2.2. Mecanismos de acción de la Vitamina D	49
2.2.1. Acción genómica de la vitamina D	51
2.2.2. Acción no genómica de la vitamina D	52
2.2.3. Funciones de la vitamina D	53
2.3. Regulación del Metabolismo Mineral. Fisiología de las hormonas calcitropas	56
2.3.1. Calcio, Fósforo y Magnesio	59
2.3.2. Calcitriol	61
2.3.3. Parathormona (PTH)	63
2.3.4. Calcitonina (CT)	65
III. RECEPTOR DE LA VITAMINA D (VDR)	67

3.1.	Estructura del Receptor de la Vitamina D (VDR).....	69
3.2.	Distribución del Receptor de la Vitamina D (VDR).....	71
3.3.	Regulación del Receptor de la vitamina D (VDR)	73
3.4.	Estructura del gen del Receptor de la Vitamina D (VDR).....	74
3.5.	Variantes del gen del Receptor de la Vitamina D.....	75
3.5.1.	Polimorfismos de la región 5'UTR.....	78
3.5.2.	Polimorfismos de la región codificante	79
3.5.3.	Polimorfismos de la región 3'UTR.....	80
3.6.	Consecuencias fisiológicas de los polimorfismos en el gen del VDR no relacionadas con la DMO.	81
3.6.1.	Efecto de los polimorfismos del gen del VDR sobre el sistema renal	82
3.6.2.	Efecto de los polimorfismos del gen del VDR sobre el cáncer	83
3.6.3.	Efecto de los polimorfismos del gen del VDR sobre la diabetes.....	85
3.6.4.	Otros efectos de los polimorfismos del gen del VDR sobre la salud humana	85
IV.	HUESO Y REMODELAMIENTO ÓSEO	89
4.1.	Hueso y remodelamiento óseo.....	91
4.1.1.	Matriz orgánica	92
4.1.2.	Células Óseas	93
4.1.3.	Remodelamiento Óseo	98
4.2.	Fases del remodelamiento óseo	100
4.3.	Regulación del remodelamiento óseo	104
4.4.	Evolución de la Densidad Mineral ósea.....	111
4.5.	Genética y Densidad Mineral Ósea.....	113
4.5.1.	Polimorfismos del gen del receptor de la vitamina D.....	115
4.5.2.	Polimorfismos de los genes receptores estrogénicos.....	118

4.5.3.	Polimorfismos del colágeno tipo 1.....	119
4.5.4.	Polimorfismos del gen del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-I)	120
V.	OSTEOPOROSIS.....	121
5.1.	Concepto y Generalidades sobre la Osteoporosis.....	123
5.1.1.	Clasificación de la Osteoporosis.....	125
5.2.	Osteoporosis y Menopausia	127
5.3.	Factores de riesgo de la Osteoporosis.....	129
5.3.1.	Factores de riesgo no modificables.....	130
5.3.2.	Factores de riesgo modificables.....	131
5.4.	Osteoporosis y Fracturas.....	132
5.4.1.	Factores de riesgo de fractura	134
5.5.	Evaluación del paciente con osteoporosis.....	135
5.5.1.	Evaluación clínica	137
5.5.2.	Medición de la masa ósea mediante DXA.....	138
5.5.3.	Marcadores bioquímicos del remodelado óseo.....	141
VI.	POLIMORFISMOS DEL GEN DEL VDR EN PACIENTES CON OSTEOPOROSIS POSTMENOPÁUSICA.....	143
6.1.	Resultados de la revisión sistemática de los polimorfismos asociados al gen del VDR y su relación con la DMO en mujeres postmenopáusicas.....	146
6.1.1.	Bsml.....	147
6.1.2.	Apal	148
6.1.3.	Fokl.....	149
6.1.4.	TaqI.....	150
6.1.5.	Interacciones.....	151
6.2.	Discusión de la revisión sistemática de los polimorfismos asociados al gen del VDR y su relación con la DMO en mujeres postmenopáusicas.....	152



VII.	JUSTIFICACIÓN.....	157
VIII.	OBJETIVOS.....	163
IX.	HIPÓTESIS.....	167
X.	MATERIAL Y MÉTODOS	171
10.1.	Muestra de estudio.....	173
10.1.1.	Subgrupos de la muestra de estudio	175
10.2.	Material y Métodos	176
10.3.	Procedimientos de la medida	176
10.3.1.	Índice de Masa Corporal	176
10.3.2.	Encuesta Dietética	177
10.3.3.	Análisis de la Densidad Mineral Ósea	178
10.3.4.	Análisis y evaluación de los polimorfismos del gen del VDR	180
10.4.	Análisis estadístico.....	184
10.5.	Consideraciones éticas.....	186
XI.	RESULTADOS	187
11.1.	Caracterización de la muestra de estudio: factores biológicos, antropométricos, dietéticos y de densidad mineral ósea.....	189
11.2.	Distribución de genotipos frecuentes del gen del VDR (<i>BsmI</i> y <i>Apal</i>) en la muestra de estudio.....	192
11.3.	Factores biológicos, antropométricos y densidad mineral ósea: distribución según el genotipo	194
11.4.	Relación entre la ingesta diaria de calcio y vitamina D, genotipo VDR y densidad mineral ósea.....	204

11.5.	Historia de fracturas, antecedentes y genotipo VDR.....	217
11.6.	Estudio de correlación entre DMO, ingesta de calcio y vitamina D y genotipo VDR	220
11.7.	Riesgo de osteoporosis y genotipo VDR	247
11.8.	Desarrollo de ecuaciones predictoras de la DMO en columna lumbar y cuello femoral en base al genotipo VDR.....	248
XII.	DISCUSIÓN	251
12.1.	Asociación de los polimorfismos <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> con la DMO en mujeres postmenopáusicas	254
12.2.	Factores condicionantes de la asociación entre los polimorfismos <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del gen del VDR y la DMO.....	257
12.3.	Polimorfismos <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del gen del VDR en población española: relación con la DMO.....	263
12.4.	Riesgo de osteoporosis, fractura y genotipo <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del gen del VDR en población española	264
XIII.	CONCLUSIÓN.....	267
XIV.	BIBLIOGRAFÍA	271
XV.	ANEXOS.....	321



Índice de Tablas

Tabla 1: Valores de referencia de la ingesta diaria de calcio revisadas en España.	108
Tabla 2: Factores locales reguladores del remodelado óseo.....	110
Tabla 3: Principales genes candidatos a la osteoporosis.	114
Tabla 4: Predicción del riesgo relativo de fracturas en función del área de medición de la DMO	125
Tabla 5: Etiología de la osteoporosis secundaria.	126
Tabla 6: Métodos de evaluación de la masa ósea.....	136
Tabla 7: Marcadores de remodelado óseo (MRO).....	142
Tabla 8: Distribución de artículos por nivel de evidencia y efecto del polimorfismo <i>BsmI</i>	148
Tabla 9: Distribución de artículos por nivel de evidencia y efecto del polimorfismo <i>Apal</i>	149
Tabla 10: Distribución de artículos por nivel de evidencia y efecto del polimorfismo <i>FokI</i>	150
Tabla 11: Distribución de artículos por nivel de evidencia y efecto del polimorfismo <i>TaqI</i>	151
Tabla 12: Distribución de artículos por nivel de evidencia y efecto del polimorfismo combinado del gen del VDR	152
Tabla 13: Factores antropométricos y sociodemográficos de la muestra de estudio.....	174
Tabla 14: Clasificación del estado nutricional a partir del IMC (OMS)	177
Tabla 15: Factores antropométricos, biológicos y de DMO de la muestra de estudio.....	189
Tabla 16: Distribución del T-score por áreas corporales.	190
Tabla 17: Distribución de valores DMO y T-score por áreas corporales en función del diagnóstico de la Organización Mundial de la Salud.	191
Tabla 18: Distribución de factores antropométricos y biológicos en función del diagnóstico de la Organización Mundial de la Salud.....	192
Tabla 19: Distribución de genotipos <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del gen del VDR en función del diagnóstico de la Organización Mundial de la Salud.....	193
Tabla 20: Prevalencia de genotipos combinados de los polimorfismos <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del VDR. ..	194
Tabla 21: Distribución de factores antropométricos y biológicos en función de los genotipos del polimorfismo <i>BsmI</i> del VDR.....	195



Tabla 22: Distribución de factores antropométricos y biológicos en función de los genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> del VDR.....	195
Tabla 23: Distribución de los valores DMO en función de los genotipos del polimorfismo <i>BsmI</i> del VDR.	197
Tabla 24: Distribución de los valores DMO en función de los genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> del VDR.	197
Tabla 25: Distribución de valores DMO por áreas corporales en función del polimorfismo <i>BsmI</i> del VDR y el diagnóstico de la Organización Mundial de la Salud.	198
Tabla 26: Distribución de valores DMO por áreas corporales en función del polimorfismo <i>Apal</i> del VDR y el diagnóstico de la Organización Mundial de la Salud.	199
Tabla 27: Distribución de los valores T-score en función de los genotipos del polimorfismo <i>BsmI</i> del VDR.	201
Tabla 28: Distribución de los valores T-score en función de los genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> del VDR.	201
Tabla 29: Distribución de los valores Z-score (ajustados por edad) en función de los genotipos del polimorfismo <i>BsmI</i> del VDR.....	202
Tabla 30: Distribución de los valores Z-score (ajustados por edad) en función de los genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> del VDR.	202
Tabla 31: Distribución de los valores T-score en función de los genotipos combinados de los polimorfismos <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del VDR.	203
Tabla 32: Distribución de los valores Z-score (ajustadas por edad) en función de los genotipos combinados de los polimorfismos <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del VDR.	204
Tabla 33: Distribución de los valores T-score por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo <i>BsmI</i> del VDR y la ingesta de calcio diarias.	206
Tabla 34: Distribución de los valores T-score por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> del VDR y la ingesta de calcio diarias.	207
Tabla 35: Distribución de los valores Z-score por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo <i>BsmI</i> del VDR y la ingesta de calcio diarias.	209
Tabla 36: Distribución de los valores Z-score por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> del VDR y la ingesta de calcio diarias.	210

Tabla 37: Distribución de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo <i>BsmI</i> del VDR y la ingesta de calcio diarias.	211
Tabla 38: Distribución de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> del VDR y la ingesta de calcio diarias.	212
Tabla 39: Distribución de los valores DMO, T-score y Z-score por áreas corporales en función de los genotipos combinados de los polimorfismos <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del VDR y la ingesta de calcio diarias (I).	214
Tabla 40: Distribución de los valores DMO, T-score y Z-score por áreas corporales en función de los genotipos combinados de los polimorfismos <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del VDR y la ingesta de calcio diarias (II).....	215
Tabla 41: Distribución de los valores DMO, T-score y Z-score por áreas corporales en función de los genotipos de los polimorfismos <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del VDR y la ingesta de Vitamina D diarias (III).....	216
Tabla 42: Distribución de antecedentes de fracturas según el polimorfismo <i>BsmI</i> del VDR.	217
Tabla 43: Distribución de antecedentes de fracturas según el polimorfismo <i>Apal</i> del VDR.	218
Tabla 44: Distribución de antecedentes de fracturas según el polimorfismo combinado <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del VDR.	219
Tabla 45: Correlaciones bivariadas parciales de Pearson de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo <i>BsmI</i> del VDR y la ingesta diaria de Calcio.	220
Tabla 46: Correlaciones bivariadas parciales de Pearson de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> del VDR y la ingesta diaria de Calcio.....	221
Tabla 47: Correlaciones bivariadas parciales de Pearson de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos combinados del polimorfismo <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del VDR y la ingesta diaria de Calcio.	222
Tabla 48: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por edad e IMC de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo <i>BsmI</i> del VDR y la ingesta diaria de Calcio.	223



Tabla 49: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por edad e IMC de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> del VDR y la ingesta diaria de Calcio.	224
Tabla 50: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por Edad e IMC de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos combinados del polimorfismo <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del VDR y la ingesta diaria de Calcio.	225
Tabla 51: Correlaciones bivariadas parciales de Pearson de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo <i>BsmI</i> del VDR y la ingesta diaria de Vitamina D.	226
Tabla 52: Correlaciones bivariadas parciales de Pearson de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> del VDR y la ingesta diaria de Vitamina D.	227
Tabla 53: Correlaciones bivariadas parciales de Pearson de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos combinados del polimorfismo <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del VDR y la ingesta diaria de Vitamina D.	228
Tabla 54: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por edad e IMC de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo <i>BsmI</i> del VDR y la ingesta diaria de Vitamina D.	229
Tabla 55: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por edad e IMC de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> del VDR y la ingesta diaria de Vitamina D.	230
Tabla 56: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por Edad e IMC de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos combinados del polimorfismo <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del VDR y la ingesta diaria de Vitamina D.	231
Tabla 57: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por ingesta de Calcio diaria de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo <i>BsmI</i> del VDR y la ingesta diaria de Calcio.	237
Tabla 58: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por ingesta de Calcio diaria de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> del VDR y la ingesta diaria de Calcio.	238

Tabla 59: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por ingesta de Calcio diaria de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos combinados del polimorfismo <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del VDR y la ingesta diaria de Calcio. (I)	239
Tabla 60: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por ingesta de Calcio diaria de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos combinados del polimorfismo <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del VDR y la ingesta diaria de Calcio. (II)	240
Tabla 61: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por ingesta de Calcio diaria de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos combinados del polimorfismo <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del VDR y la ingesta diaria de Calcio. (III)	241
Tabla 62: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por Edad e IMC a partir de la ingesta de Calcio diaria de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo <i>BsmI</i> del VDR y la ingesta diaria de Calcio.....	242
Tabla 63: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por Edad e IMC a partir de la ingesta de Calcio diaria de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo <i>Apal</i> del VDR y la ingesta diaria de Calcio.	243
Tabla 64: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por Edad e IMC a partir de la ingesta de Calcio diaria de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos combinados del polimorfismo <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del VDR y la ingesta diaria de Calcio. (I).....	244
Tabla 65: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por Edad e IMC a partir de la ingesta de Calcio diaria de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos combinados del polimorfismo <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del VDR y la ingesta diaria de Calcio. (II).....	245
Tabla 66: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por Edad e IMC a partir de la ingesta de Calcio diaria de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos combinados del polimorfismo <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> del VDR y la ingesta diaria de Calcio. (III).....	246
Tabla 67: Desarrollo de ecuaciones predictoras de la DMO en base al genotipo VDR.	249
Tabla 68: Distribución de muestras y equilibrios Hardy-Weinberg en estudios con población española.	256



Índice de Figuras

Figura 1: Molécula de vitamina D ₂ y D ₃	46
Figura 2: Metabolismo de la vitamina D y el Calcio.	48
Figura 3: Regulación del metabolismo del Mineral.....	58
Figura 4: Sistema hormonal de la Vitamina D.....	63
Figura 5: Efectos de la PTH sobre el Calcio	65
Figura 6: Dominios funcionales del receptor de la vitamina D.	71
Figura 7: Representación esquemática de los diferentes niveles de organización estructural de los estudios de los polimorfismos del gen del VDR.....	77
Figura 8: Estructura del gen y de la proteína VDR, junto con la localización de los polimorfismos comunes.....	78
Figura 9: Matriz ósea degradada por la activación osteoclástica.	101
Figura 10: Fases del remodelamiento óseo en la superficie del hueso trabecular.	103
Figura 11: Representación gráfica y cálculo de T-score y Z-score.....	139
Figura 12: Densitómetro NORLAND EXCELL [®] del Laboratorio GIEMO.	180
Figura 13: Espectrofotómetro Biowave II WPA [®] del Laboratorio GIEMO.	183
Figura 14: Correlación parcial ajustada por edad, IMC y años desde la menopausia del consumo de Calcio diario y la DMO en Columna Lumbar (L2-L4), según genotipo <i>BsmI</i>	235
Figura 15: Correlación parcial ajustada por edad, IMC y años desde la menopausia del consumo de Calcio diario y la DMO en Cuello Femoral, según genotipo <i>BsmI</i>	236

Índice de Abreviaturas

- ADN:** Ácido Desoxirribonucleico.
- ApoE:** Apolipoproteína E.
- ARN:** Ácido Ribonucleico.
- ARNm:** ARN mensajero.
- ATP:** Adenosín Trifosfato.
- BMP:** Proteínas Morfogenéticas Óseas.
- CaBP:** Proteína de Unión al Calcio.
- CaR:** Receptor-Sensor de Calcio.
- CaT1:** Canales específicos de Calcio.
- Cbfa1:** *Core-Binding Factor α -1*.
- CF:** Cuello Femoral.
- CFU-GM:** Unidad Formadora de Colonias de Granulocitos-Macrófagos.
- cm²:** Centímetros cuadrados.
- CMO:** Contenido Mineral Óseo.
- CSF-1:** Factor de Estimulación de Colonias 1.
- DBD:** Dominio de Unión al ADN.
- DBP:** Proteína Transportadora de Vitamina D.
- DEP:** Proteína Enlazadora de la Vitamina D.
- DXA:** Absorciometría de Rayos X de Doble Energía.
- DMO:** Densidad Mineral Ósea.
- ER α :** Receptor de Estrógenos tipo alfa.
- ER β :** Receptor de Estrógenos tipo beta.
- EVOS-EPOS:** Estudio Europeo de Osteoporosis Vertebral – Estudio Prospectivo Europeo de Osteoporosis.
- FATR:** Fosfatasas Ácidas Tartrato Resistentes.
- GH:** Hormona Somatotropa.
- GMP_c:** Guanosín Monofosfato Cíclico.
- GPT:** Guanosín Trifosfato.

HWE: *Hardy-Weinberg Equilibrium.*

IGF-I: Factor de Crecimiento Insulínico tipo 1.

IGF-II: Factor de Crecimiento Insulínico tipo 2.

IL-6: Interleucina-6.

IL-1: Interleucina-1.

IL-11: Interleucina-11.

IMC: Índice de Masa Corporal.

kb: mil pares de bases.

KDa: kiloDalton.

kg: kilogramo.

KeV: Kilo electrón Voltio.

L2: segunda vértebra lumbar.

L3: tercera vértebra lumbar.

L4: cuarta vértebra lumbar.

LBD: Dominio de Unión al Ligando.

m²: metros cuadrado.

mg: miligramos.

mSv: miliSievert.

µm: micrómetros.

MAP Quinasas: *Mitogen-Activated Protein Kinases.*

ml: mililitros.

mRem: miliRem

MRO: Marcadores de Remodelado Óseo.

NCBI: National Center for Biotechnology Information.

ng: nanógramo.

NHANES III: *National Health and Examination Survey III.*

nm: nanómetro.

n.s.: no significativo.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OPG: Osteoprotegerina.

PCR: Polymerase Chain Reaction.

PDGF: Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas.

PGH2: Prostaglandina H-2.

pH: concentración de $[H_3O^+]$ – *pondus Hydrogenii*.

PKC: *Protein Kinase C*.

PMO: Pico de Masa Ósea.

PPAR: Receptores Activadores de la Producción de Peroxisomas.

PTH: Parathormona.

RANK: Receptor Activador del Factor Nuclear Kappa B.

RANKL: Ligando del Receptor Activador para el Factor Nuclear Kappa B.

RDA: *Recommended Dietary Allowances*.

RFLP: *Restriction Fragment Length Polymorphism*.

RXR: Receptor del 9-cis Retinoide X.

SNPs: *Single Nucleotide Polymorphism*.

SRA: Sistema Renina-Angiotensina.

TGF- β : Factor de Crecimiento Transformante beta.

TNF: Factor de Necrosis Tumoral.

TW: Triángulo de Ward.

UI: Unidades Internacionales.

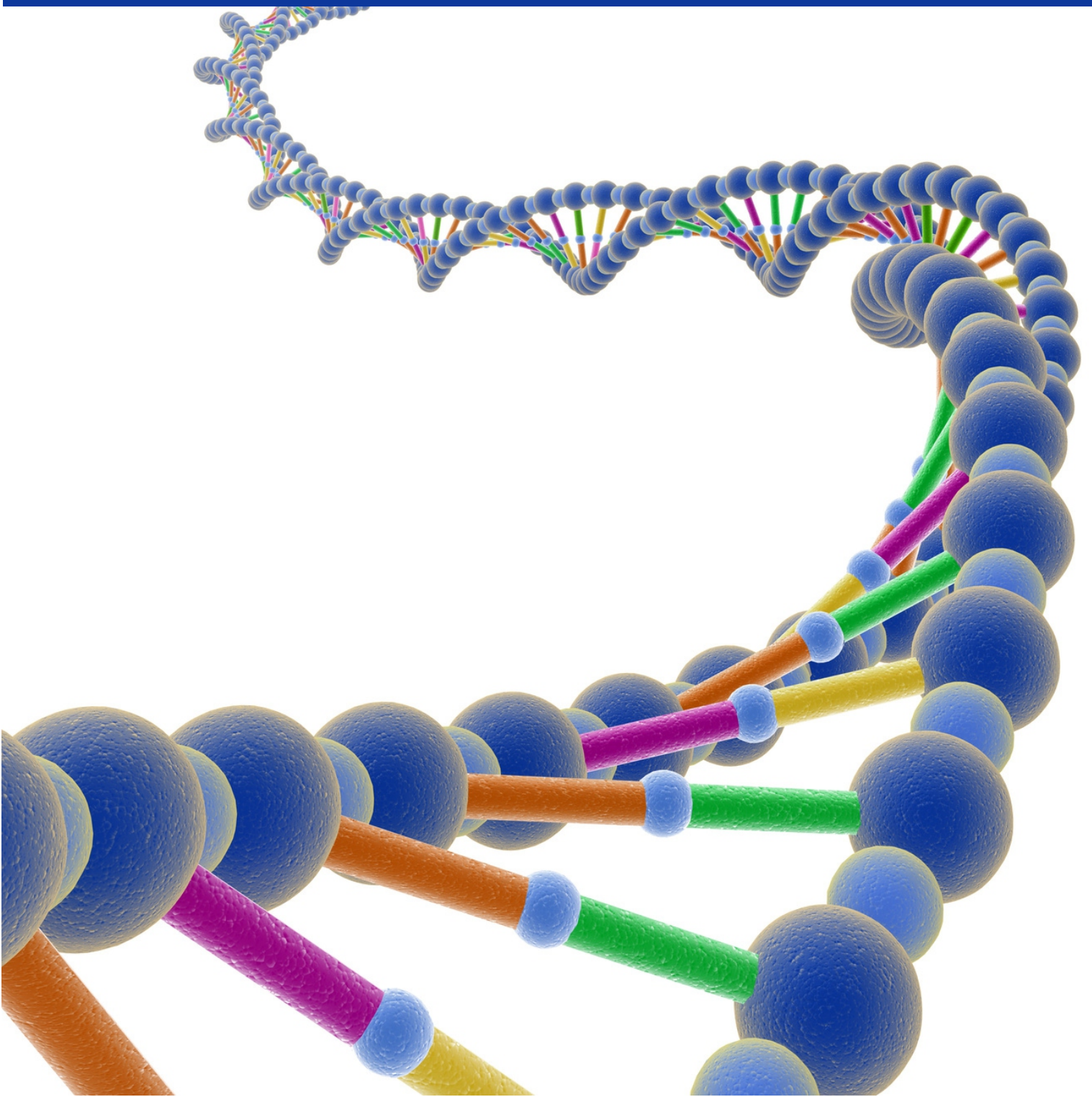
UTR: *Untranslated trailer/region*.

UV_B: Luz Ultravioleta de corto alcance.

VDR: Receptor de la Vitamina D.

VDRE: Elementos de Respuesta a la Vitamina D.

RESUMEN / ABSTRACT



Resumen

La osteoporosis es el trastorno metabólico óseo más frecuente en todo el mundo. Así mismo, la postmenopausia es la época de la vida de la mujer en la que se ha identificado una mayor disminución en la masa ósea y aumento de fracturas, constituyendo un problema sanitario de primera magnitud debido a su alta prevalencia, coste sanitario y social.

Durante los últimos 15 años, han sido muchos los estudios que han centrado sus objetivos en la identificación de marcadores genéticos, así como en polimorfismos de estos, implicados en la susceptibilidad a la osteoporosis, presentando resultados contradictorios. Muy pocos estudios han sido realizados en la población española, constituyendo estos resultados no forzosamente extrapolables a dicha población, ya que provienen de muestras étnicas muy diferentes con situaciones ambientales diversas. Se han identificado multitud de genes que pueden estar implicados en este trastorno, entre ellos el gen del receptor de la vitamina D (VDR); aunque sus mecanismos de influencia sobre la masa ósea no han sido completamente aclarados, resultan fundamentales para poder identificar correctamente a las mujeres en riesgo de presentar un peor pronóstico óseo, así como para instaurar un tratamiento preventivo precoz.

La ventaja principal del presente estudio es la homogeneidad étnica de las participantes, así como el tamaño muestral utilizado, ya que constituye el segundo mayor hasta la fecha en población española. En nuestro estudio no se ha observado ninguna relación significativa entre la densidad mineral ósea (DMO), medida en

columna lumbar (L2, L3, L4, L2-L4), cuello femoral, trocánter o triángulo de Ward, y la presencia de los polimorfismos *BsmI* y *Apal* del gen del receptor de la vitamina D en mujeres españolas postmenopáusicas. Tampoco se han encontrado evidencias de presencia de fracturas o incremento del riesgo asociado, relacionadas con los polimorfismos estudiados.

Los diferentes estudios realizados parecen indicar que la expresión del gen del VDR está modulada por factores medioambientales, relacionados con la homeostasis del calcio. En esta línea, nuestros resultados parecen confirmar que la ingesta de calcio pueda ser un factor ambiental que de alguna manera modifique el efecto que los polimorfismos genéticos estudiados ejerzan sobre la DMO en mujeres postmenopáusicas. En nuestro caso, los genotipos *bb* y *Aa* (polimorfismos *BsmI* y *Apal*, respectivamente) presentan ventajas frente a los otros genotipos, bajo la ingesta adecuada de calcio y una vez ajustado por edad e índice de masa corporal (IMC), ya que presentan correlaciones positivas y significativas con la DMO.

R

A partir de modelos matemáticos, el estudio de regresión multivariante permitió establecer ecuaciones predictoras de la DMO en columna lumbar (L2-L4) y cadera (cuello femoral) en base a los polimorfismos *BsmI* y *Apal* estudiados. El mejor ajuste al modelo teórico se obtuvo en el cuello femoral con el genotipo *BB*. La utilización de estos modelos presentan una elevada utilidad desde el punto de vista preventivo de la osteoporosis, así como de las fracturas de etiología osteoporótica.

Abstract

Osteoporosis is a common metabolic disorder worldwide. Also, postmenopause is a woman's life period, characterized by that a high decrease in bone mass and increased fracture risk, turning into a significative health problem associated to elevated prevalence, plus health and social costs.

During the past 15 years, there have been many studies that have focused their targets on identify genetic markers, as well as its polymorphisms implicated in susceptibility to osteoporosis, with contradictory results. Only a few studies have been conducted in the Spanish population and hence, worldwide results results do not necessarily may be extrapolated to these population, as they come from very different ethnic samples with diverse environmental situations.

There have been identified many genes that might be involved in the disorder, including the vitamin D receptor (VDR) gene; although their influence on the mechanism of bone disease have not been completely clarified. Anyway, it has been proposed that improving the knowledge in this field will result in better identification of women at risk and will help to establish early preventive treatment.

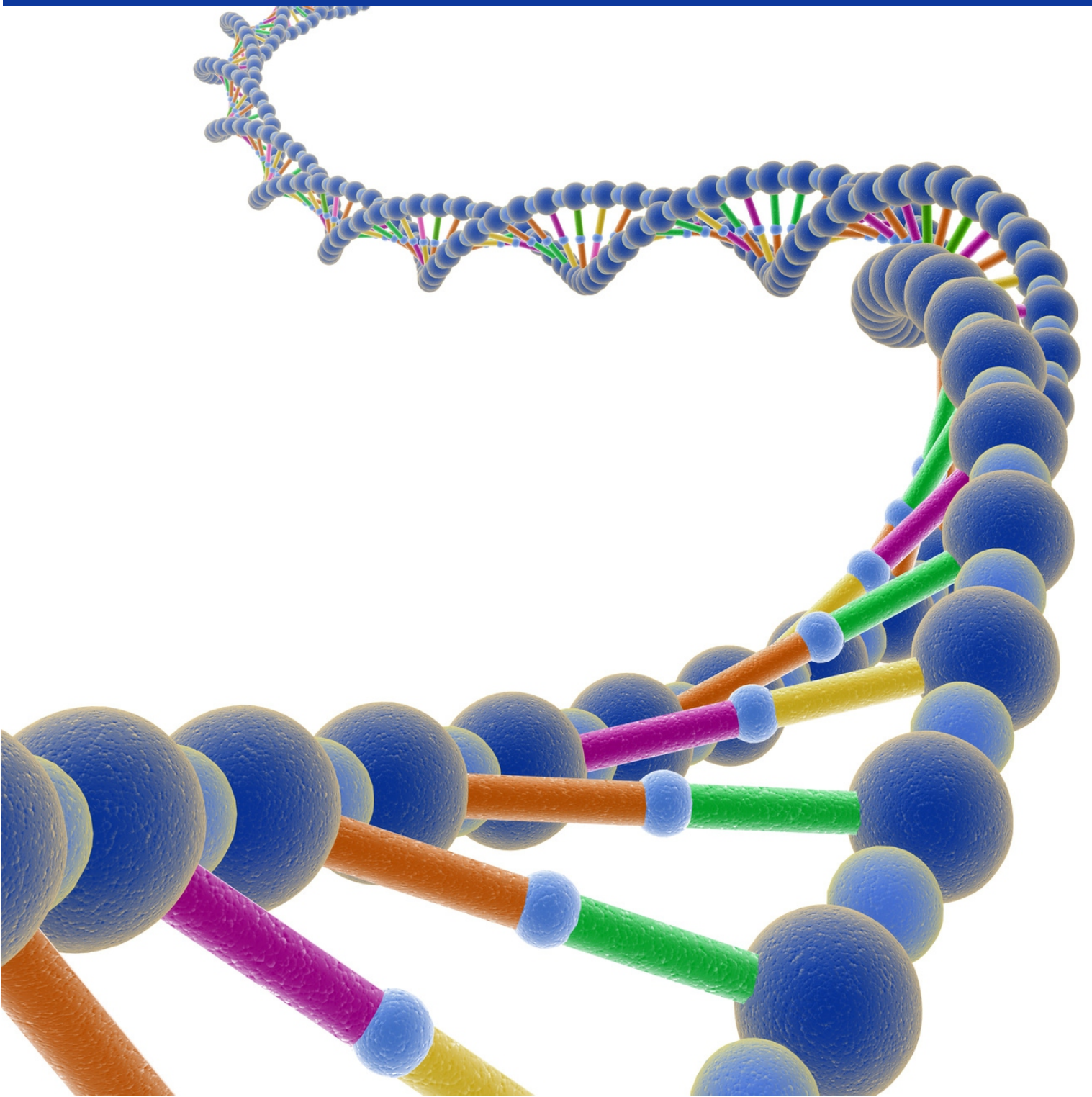
The main advantage of our study is the ethnic homogeneity of the participants as well as the sample size, as it's the second largest until date with postmenopausal Spanish women. In our study we have observed no significant relationship between bone mineral density (BMD) measured at the lumbar spine (L2, L3, L4, L2-L4), femoral

neck, trochanter and Ward's triangle, and the presence of polymorphisms *BsmI* and *ApaI* of the vitamin D receptor gene in Spanish postmenopausal women. We haven't also found evidence of polymorphism's associated fracture risk in the studied sample.

Different studies suggest that the VDR gene expression is modulated by environmental factors, relating to calcium homeostasis. Consistently, our results seem to confirm that calcium intake may be an environmental factor that somehow modify the effect of genetic polymorphisms in postmenopausal women. In our study, *bb* and *Aa* genotypes (*BsmI* and *ApaI* polymorphisms, respectively) have advantages over the other genotypes, under adequate calcium intake and after adjusting for age and BMI (potential confounding factors).

Based on mathematical models, multivariate regression analysis allowed us to establish predictive equations of BMD at the lumbar spine (L2-L4) and hip (femoral neck) based on *BsmI* and *ApaI* polymorphisms studied. The best fit to the theoretical model was obtained in the femoral neck with the *BB* genotype. We consider that the use of these models have high utility from the point of view of prevention of osteoporosis, and osteoporotic fractures.

INTRODUCCIÓN



La osteoporosis es una enfermedad esquelética sistémica caracterizada por una DMO baja y deterioro de la microarquitectura del hueso, que conduce a una fragilidad ósea mayor y a fracturas de alto riesgo (Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis, 1993). Es el trastorno óseo metabólico más común del mundo, que afecta a una de cada tres mujeres y uno de cada ocho hombres mayores de 50 años (W. F. Li et al., 2010). La osteoporosis en la postmenopausia es un problema de salud de gran importancia debido a su alta prevalencia y a los grandes costes sociales en la salud debido a sus manifestaciones clínicas, sobre todo fracturas. Unos 200 millones de personas en todo el mundo padecen este trastorno. Sólo en Europa, Estados Unidos y Canadá, el tratamiento de la enfermedad tiene un costo directo anual de 54.000 millones de dólares, debiéndose agregar otros diez millones en costos indirectos. Los costos directos de esta enfermedad en Europa llegaron a 48.000 millones de euros en 2000, sólo en gastos de hospital, significando un aumento del 33% en tres años. En España, la osteoporosis es la enfermedad metabólica ósea más prevalente.

La vitamina D desempeña un papel importante en la homeostasis del calcio, el metabolismo óseo y la absorción intestinal de calcio. Estudios realizados en gemelos (Christian, Yu, Slemenda, & Johnston, 1989; Pocock et al., 1987) y entre familiares (Seeman et al., 1989; Tylavsky, Bortz, Hancock, & Anderson, 1989) han permitido estimar que los factores genéticos representan hasta un 50-90% del total de los factores determinantes de la masa ósea (Eisman, 1995; Eisman et al., 1995; Ralston & de Crombrughe, 2006) contribuyendo significativamente a: la adquisición del pico de masa ósea (R. A. Evans et al., 1988; Pocock, et al., 1987; Seeman, et al., 1989), *turnover* (Kelly et al., 1991; Tokita et al., 1994), así como a la pérdida de masa ósea a lo largo de

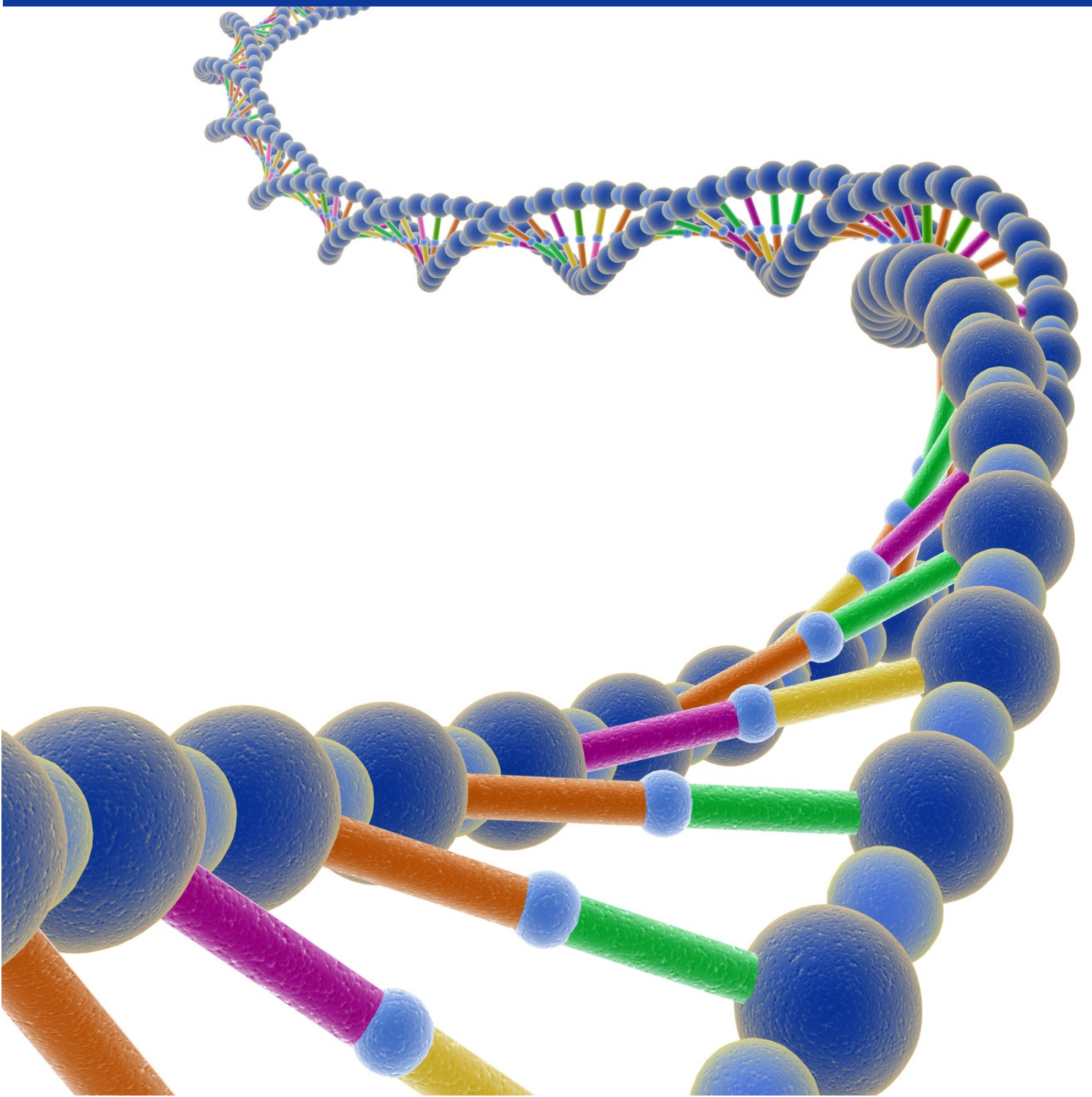
la vida (Flicker et al., 1995). Cuatro polimorfismos (*BsmI*, *TaqI*, *Apal* y *FokI*) del gen del receptor de la vitamina D (VDR) han sido estudiados y asociados más frecuentemente a la DMO y a la osteoporosis. El gen del VDR ubicado en el brazo largo del cromosoma 12 (12q12.11) es un miembro de la superfamilia de los receptores genéticos. Morrison et al. indicaron por primera vez que los polimorfismos del gen del VDR podrían predecir la DMO en columna y cuello femoral en las mujeres caucásicas (Morrison et al., 1994). Así, establecieron una hipótesis por la cual los alelos del gen del VDR son funcionalmente diferentes y contribuyen a la variabilidad fisiológica de los niveles de osteocalcina (la proteína no colágena más abundante del hueso) y un marcador específico del recambio óseo (Morrison, Yeoman, Kelly, & Eisman, 1992). La osteocalcina es inducida por el calcitriol a través del VDR. La diferencia funcional de los alelos se expresa en el grado en que el gen de la osteocalcina es inducido a través de la activación transcripcional del VDR.

Aunque se han publicado numerosos estudios sobre los polimorfismos en el gen del VDR, los resultados son contradictorios, posiblemente debido a las variaciones en el diseño de los estudios, tamaño de muestra pequeña, diferentes orígenes étnicos y factores ambientales. Los estudios controlados y metanálisis publicados recientemente acerca de la participación de los polimorfismos del gen del VDR sobre la DMO en mujeres postmenopáusicas resultan aún más dispares (Ardawi, Qari, Rouzi, Maimani, & Raddadi, 2011; Creatsa et al., 2011; Estrada et al., 2012; Horst-Sikorska et al., 2012; Jia et al., 2012; Kurt et al., 2012a; Y. Li, Xi, Li, & Wang, 2011; Qin, Dong, Zeng, Liu, & Liao, 2012; Stathopoulou et al., 2011; Yasovanthi et al., 2011; Yoldemir, Yavuz, Anik, Verimli, & Erenus, 2011a). El VDR modula la transcripción de otros genes (por ejemplo, la proteína de unión al calcio y la osteocalcina) que son esenciales para la absorción de calcio y la formación ósea. El mecanismo por el cual el gen del VDR influye sobre la masa ósea aún no ha sido aclarado completamente (Ioannidis et al., 2002).

El hecho de que exista disparidad en los resultados sobre la importancia de este gen, sugiere que el control de la masa ósea es de tipo poligénico (Durusu Tanriover et al., 2010; Kizaki et al., 1991). Sobre la base de las consideraciones anteriores, la osteoporosis está considerada como un rasgo genético "complejo". Los factores de riesgo genético, ciertos alelos o variantes génicas, serán transmitidos de una generación a la siguiente, pero la expresión fenotípica de estos factores dependerá de la interacción con otras variantes génicas y con factores ambientales. Además de los polimorfismos del gen del VDR, otros genes y vías, tales como la vía de señalización de estrógenos, Wnt/ β -catenina, la superfamilia del factor de crecimiento transformante, el receptor activador de la vía de señalización factor κ B nuclear (RANK), pueden afectar a la DMO y modular el efecto de los polimorfismos del gen del VDR en la DMO. Una de las razones actuales más probables podrían ser los distintos niveles hormonales, lo cual puede influir en el efecto de los polimorfismos del gen del VDR en la DMO. Además, los factores ambientales, tales como la dieta, la actividad física, el tabaquismo y el consumo de alcohol, han demostrado tener influencia en la DMO y la osteoporosis. Por lo tanto, estos factores gen-medio ambiente pueden actuar como factores de confusión que afectan a la asociación entre los polimorfismos del VDR y la DMO (Y. Li, et al., 2011). Por otra parte, los diferentes genotipos pueden tener también diferentes efectos en distintas partes del esqueleto, pudiendo ser este uno de los motivos por los que algunos trabajos no encontraron asociación entre los polimorfismos del gen del VDR y la DMO (J. G. Kim et al., 2003).

Resulta necesario investigar si los polimorfismos del gen del VDR podrían influir en la patogenia de la osteoporosis, con el propósito de poder encontrar un marcador que delimite aquellas mujeres que presentarán un peor pronóstico óseo, permitiendo instaurar un tratamiento más precoz con el objetivo de prevenir la pérdida de masa ósea.

METABOLISMO MINERAL



2.1. Síntesis de la Vitamina D

La vitamina D, es en realidad un sistema hormonal, formado por diferentes metabolitos interrelacionados. Todos estos metabolitos tienen actividad de vitamina D y están también relacionados con la hormona principal del metabolismo óseo y mineral, como es la parathormona (PTH).

Los metabolitos del sistema hormonal de la vitamina D derivan de un precursor común, el colecalfiferol o vitamina D₃ (Figura 1), que puede ser ingerido en la dieta (absorbida en el 60-80% en el intestino delgado), o bien sintetizarse en la piel a partir de un derivado del colesterol (7-dehidrocolesterol) por reacciones de isomerización y gracias a la acción de la luz ultravioleta de corto alcance (UV_B) y la temperatura (Fernández Martín, González Suárez, & Cannata Andía, 2003). El 7-dehidrocolesterol da lugar a 9, 10-seco esterol, conocido como provitamina D₃, por la acción de radiaciones electromagnéticas contenidas en el espectro de 290-315 nm (Figura 2). La molécula resultante se isomeriza en vitamina D₃ con la temperatura de la piel para pasar después al torrente sanguíneo y transportarse en unión no covalente con una α -globulina denominada “*proteína enlazadora de la vitamina D*” (DEP), a pesar de que el mecanismo específico responsable del transporte de la vitamina D₃ a la sangre es desconocido. La eficiencia de este proceso varía ampliamente, dependiendo principalmente de la edad del individuo y la latitud en que éste resida. Holick et al. han demostrado, por ejemplo, que a igual exposición solar sujetos de edades entre 62 a 80 años producen menos del 30% de Vitamina D₃ que adultos jóvenes de 22 a 30 años,

lo cual se explicaría por una disminución, relacionada con la edad, en la cantidad de provitamina D₃ (Holick, 2006a, 2007a).

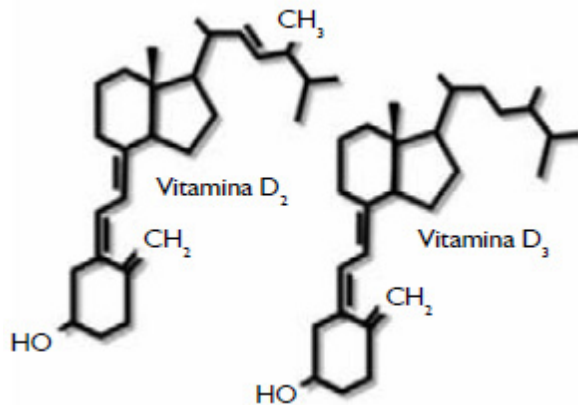


Figura 1: Molécula de vitamina D₂ y D₃

Cuando la vitamina D₃ es ingerida, se incorpora a los quilomicrones, siendo absorbida en un 80% por el sistema linfático y entrando en la circulación unida a la DEP (Bischoff et al., 2001). Para que ésta pueda ser biológicamente activa, se requieren dos hidroxilaciones en secuencia:

1. La primera reacción enzimática se produce en el hígado donde la vitamina D se hidroxila en el carbono 25 para dar lugar a la [25(OH)D₃] o calcidiol. El calcidiol tiene una vida media larga (3-4 semanas), considerándose hoy día el mejor marcador de los depósitos de vitamina D en el organismo (Zehnder et al., 2002).

2. La 25(OH)D₃ es el sustrato de la 1α-hidroxilasa, que cataliza la síntesis de la [1,25 (OH)₂D₃] o calcitriol principalmente en el riñón, aunque hoy en día se conoce que esta enzima también se expresa en otros órganos y tejidos del organismo (Vaisanen, Perakyla, Karkkainen, Steinmeyer, & Carlberg, 2002). El calcitriol es el metabolito más activo de la vitamina D₃ (más de 100 veces mayor que el calcidiol) pero tiene una vida media corta (pocas horas). Además del hígado y riñón, se ha descrito la síntesis de vitamina D₃ a nivel local catalizada por la 1α-hidroxilasa presente en células dendríticas, queratinocitos (Brown & Slatopolsky, 1999), macrófagos (M. Brown, 1999), células de la mucosa del colon (Brown et al., 1999) y células endoteliales (Brown, Dusso, & Slatopolsky, 1999).

El calcitriol sintetizado en el riñón por la 1α-hidroxilasa mitocondrial es transportado en la sangre principalmente por la proteína transportadora de vitamina D (DBP) (85%) aunque también se une a la albúmina (15%) y a las lipoproteínas (D. C. Huang, Papavasiliou, Rhim, Horst, & Kremer, 2002). Aunque no se conoce todavía el mecanismo por el cual el calcitriol entra en la célula diana, sí se sabe que una vez dentro de la misma éste puede bien inactivarse por acción de la 24-hidroxilasa mitocondrial o bien unirse a su receptor, el receptor de vitamina D o VDR que se encuentra libre en el citoplasma celular. La unión de su ligando activa al VDR, que se fosforila (Chatterjee, 2001) y entra en el núcleo donde se va a unir al receptor del 9-cis retinoide X (RXR) para formar el complejo VDR-RXR. Este complejo reconoce y se une específicamente al ADN (ácido desoxirribonucleico) en secuencias promotoras de diferentes genes, llamadas elementos de respuesta a la vitamina D (VDRE), además de

reclutar numerosos factores de transcripción y otros reguladores que en último término harán que aumente o disminuya la tasa de transcripción de los genes diana.

Un regulador importante en la síntesis de la Vitamina D es el fósforo ingerido en la dieta. La restricción de fosfatos y la hipofosfatemia en combinación con la PTH producen un aumento en la 25, 1 α -hidroxilasa D₃ y por ello de la Vitamina D en el suero. Las concentraciones altas de fosfatos disminuyen los niveles de Vitamina D por inhibición de la 25-OH-D-1 α -hidroxilasa (Rochel, Wurtz, Mitschler, Klaholz, & Moras, 2000).

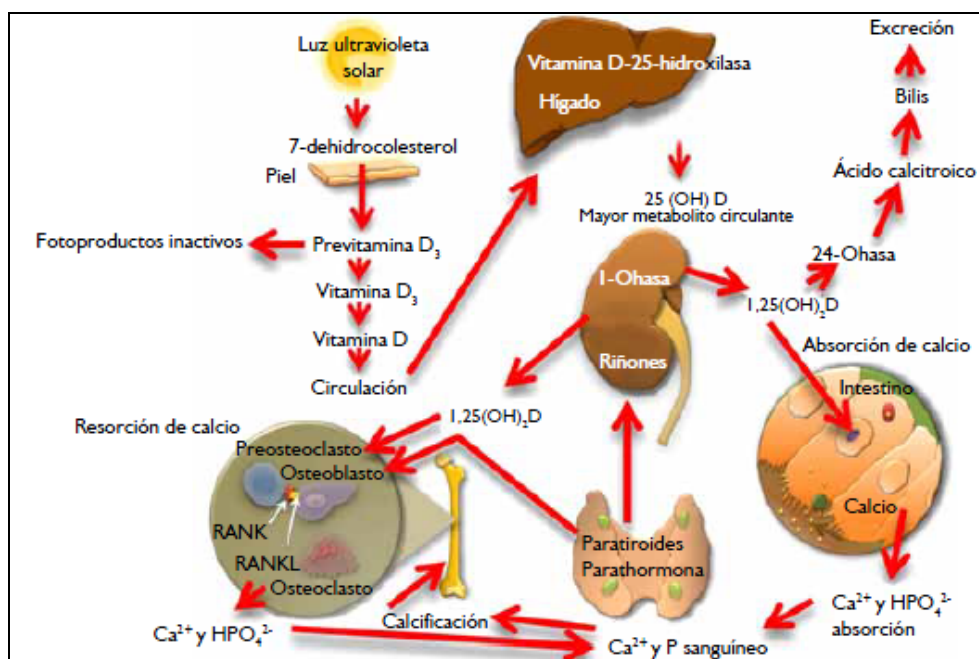


Figura 2: Metabolismo de la vitamina D y el Calcio.

Tomado de Barba Evia (Barba Evia, 2011) y modificado de Francis (Francis, Anderson, Patel, Sahota, & van Staa, 2006).

2.2. Mecanismos de acción de la Vitamina D

Los mecanismos de acción de la Vitamina D en los diferentes órganos diana, tales como el hueso, donde aumenta tanto la resorción como la formación ósea; el intestino, donde aumenta la absorción de calcio; el riñón, donde estimula su propia síntesis y la paratiroides, donde inhibe la síntesis y la secreción de PTH, dependerán de diferentes factores tales como: los niveles de metabolitos (calcidiol y calcitriol), la presencia de comoduladores (coactivadores y correpresores) y los aspectos cuantitativos y cualitativos del gen del VDR.

La principal función fisiológica de la vitamina D es mantener el calcio y el fósforo en concentraciones adecuadas para procesos celulares tales como la calcificación ósea, la diferenciación celular y la excitabilidad neuromuscular. Para el mantenimiento de las concentraciones de calcio iónico, dentro de los límites normales en el líquido extracelular, la vitamina D estimula la absorción intestinal de calcio y promueve la formación de osteoclastos maduros, los cuales movilizarán calcio desde el hueso al extracelular en la fase de resorción ósea del remodelamiento óseo. Estas acciones son ejercidas principalmente por el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ o calcitriol. Éste es una hormona esteroidea que actúa a nivel del intestino a través de una vía genómica. El complejo $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -VDR (vitamina D-receptor de la vitamina D) se une a una serie de secuencias reguladoras del ADN nuclear y controla la transcripción de ARNm específicos que a su vez controlan la síntesis de proteínas específicas como la fosfatasa alcalina, osteocalcina, la osteopontina y, en el intestino, la calbindina-D (esta última promueve la absorción de calcio por difusión facilitada). El calcitriol,

además de regular la expresión genética, también tiene acciones no genómicas que incluyen la capacidad de estimular el paso de calcio a través de la membrana plasmática, aunque los mecanismos implicados no están suficientemente claros. La $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ incrementa la absorción de fósforo, ocurriendo la mayor absorción en el yeyuno e íleon; la de calcio principalmente en el duodeno, aun cuando tanto el calcio como el fósforo se absorben a nivel del intestino delgado (Holick, 2003). El mecanismo de acción para facilitar el transporte de calcio en el intestino implica la síntesis de la *proteína de unión al calcio* (CaBP, *calcium binding protein*) (Brown, Krits, & Armbrecht, 2005). La entrada de calcio ocurre en contra del gradiente, estando controlada por canales específicos de calcio llamados CaT1 y calmodulina, unidos a una miosina específica. El transporte de calcio en la célula está regulado por proteínas ligadoras de calcio llamadas calbindinas. Una gran parte del transporte se produce dentro de las vesículas. La salida de calcio de la célula a través de la membrana basocelular precisa energía, y está mediada por ATP (adenosín trifosfato), que precisa una bomba de calcio o CaATPasa. El calcitriol induce tanto las calbindinas como la CaATPasa, pero la regulación de entrada de calcio no depende tanto de la síntesis proteica. Mecanismos similares modulan la reabsorción de calcio en el túbulo distal del riñón, con proteínas involucradas homólogas aunque no idénticas.

El $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ actúa a nivel celular activando el VDR (cuya afinidad por $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ es 1.000 veces mayor que para $25(\text{OH})\text{D}_3$). El VDR es miembro de una súper familia de receptores nucleares, la cual también incluye el receptor para hormonas tiroideas y glucocorticoides, estrógenos, andrógenos, ácido retinoico así como receptores activadores de la producción de peroxisomas (PPAR). La secuencia exacta por la cual el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ interactúa con su

receptor y causa activación en la transcripción de genes específicos, cuyos productos están involucrados en respuestas biológicas causadas por la vitamina D, no está aclarada totalmente. Sin embargo, es bien sabido que el VDR tiene mayor actividad transcripcional al formar un complejo heterodimérico con el receptor del ácido retinoico (RXR). Este complejo (RVD-RXR) es el que interacciona con elementos de respuesta específica para vitamina D dentro del ADN. Los VDR se encuentran en los osteoblastos, donde la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ promueve su diferenciación y regula la producción de proteínas tales como el colágeno tipo I, la fosfatasa alcalina y la osteocalcina. También induce en las membranas celulares el RANKL (*receptor activator of NF kappa B ligand*) e inhibe la de colágeno tipo I y de OPG (osteoprotegerina) (Kondo, Kitazawa, Maeda, & Kitazawa, 2004). De esa manera, el calcitriol regula tanto la formación como la resorción óseas.

En adultos sanos el depósito corporal total de vitamina D depende principalmente de la síntesis cutánea de colecalciferol o D₃ y de la ingesta dietética de vitamina D. La importancia relativa de ambos factores varía según la edad y la residencia geográfica del individuo, pero una reducción en cualquiera de estas dos fuentes puede llevar a un estatus anormal de vitamina D (Taymans et al., 1999).

2.2.1. Acción genómica de la vitamina D

La respuesta biológica de la vitamina D en las células diana ocurre según el modelo de transactivación de genes de las hormonas esteroideas.

Como se ha dicho anteriormente, la unión de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ con el VDR, sufre un cambio conformacional que permite que dicho receptor se pueda traslocar al núcleo donde forma el heterodímero habitualmente con el RXR (Brown et al., 1989). Dicho heterodímero se une a regiones promotoras de genes específicos en los tejidos diana (VDREs), formando complejos con proteínas adicionales coactivadoras y correpresoras de la transcripción pudiendo incrementar o disminuir la expresión de los genes diana. Así, está descrito que el VDR se distribuye ampliamente en multitud de tipos celulares como el hueso, justificando la gran variedad de acciones de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ en el organismo (Bouillon, Okamura, & Norman, 1995). Estas acciones pueden clasificarse en:

- **Respuestas clásicas de la vitamina D:** regulación de la concentración del calcio y fósforo en la sangre por la acción de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ en los intestinos y hueso.
- **Respuestas no clásicas de la vitamina D:** regulación de la secreción hormonal, regulación de la función inmune, proliferación y diferenciación celular de diversos tipos celulares.

2.2.2. Acción no genómica de la vitamina D

Existen acciones de los metabolitos de la vitamina D, que son demasiado rápidas para implicar cambios en la expresión génica, tales como el transporte rápido de Ca^{2+} (Nemere, Yoshimoto, & Norman, 1984),

la activación del metabolismo del fosfoinositol (Bourdeau, Atmani, Grosse, & Lieberherr, 1990; Lieberherr, Grosse, Duchambon, & Druke, 1989), el incremento de la concentración de Ca^{2+} en el citosol (Hruska, Bar-Shavit, Malone, & Teitelbaum, 1988; Lucas, Rouillet, Duchambon, Lacour, & Druke, 1989), el incremento de los niveles de GMP_c (Vesely & Juan, 1984), la activación de la vía PKC (Sylvia et al., 1996), la activación de las MAP Quinasas (Berndt et al., 2003), así como la apertura de los canales de Cl^- (Zanello & Norman, 1996).

2.2.3. Funciones de la vitamina D

La vitamina D permite el mantenimiento de los niveles de calcio extracelular de una manera estrictamente regulada, vital para la integridad de la fisiología celular y del esqueleto. Su déficit provoca raquitismo en humanos jóvenes en edad de crecimiento, y osteomalacia en adultos. El mantenimiento de los niveles séricos de calcio es regulado fundamentalmente por la vitamina D, evitando así la tetania producida por hipocalcemia y favoreciendo la mineralización ósea. El déficit de vitamina D, desde un punto de vista clínico, es considerado como un factor de riesgo importante para la aparición de osteoporosis. Los resultados de dos estudios de metanálisis de ensayos clínicos controlados muestran que la toma de altas dosis de vitamina D reduce el riesgo de fracturas en un 29% y de caídas en un 19% (Bischoff-Ferrari et al., 2010). Sin embargo, esta asociación es hoy día controvertida, ya que existen estudios que han demostrado un riesgo elevado de caídas en mujeres

ancianas a las que se les administró una dosis alta de vitamina D (500.000 UI) única anual (Sanders et al., 2010).

El sistema endocrino de la vitamina D, también es un potente modulador de la función paratiroidea. La deficiencia de ésta provoca hiperplasia de la glándula paratiroides, así como un incremento de la síntesis y secreción de PTH. En el riñón, el principal efecto de la vitamina D es el control de su propia síntesis y degradación, inhibiendo la 1α -hidroxilasa y estimulando la expresión de la 24-hidroxilasa, induciendo la expresión de megalina en el túbulo proximal (Nykjaer et al., 1999).

Existen acciones en otros órganos diana como son el páncreas, el hígado y la piel, denominadas *acciones no clásicas de la vitamina D*, ligadas a la presencia del VDR en diferentes tipos celulares (Brown, Dusso, et al., 1999), no implicadas en la homeostasis cálcica (Holick, 1995). Entre estas acciones se encuentran la regulación de la proliferación y diferenciación celular y la regulación de la secreción hormonal y de la función inmune. Los linfocitos y macrófagos, además de tener VDR también expresan la 1α -hidroxilasa, por lo que poseen capacidad de síntesis del $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ de forma local en determinadas circunstancias (Monkawa, Yoshida, Hayashi, & Saruta, 2000; Morgan et al., 1996). La vitamina D puede estimular la proliferación celular de otro tipo de células como condrocitos (Krohn et al., 2003) y células del endometrio (Delissalde et al., 1998). Además, existen evidencias que demuestran la relación entre la vitamina D y la disminución del riesgo de cáncer de pecho (Garland, Garland, & Gorham, 1999; Ruggiero et al., 1998), próstata (Ma et al., 1998)

y colon (Gallieni et al., 1995; Garland, et al., 1999; Martinez & Willett, 1998).

En esta línea, distintas evidencias sugieren que la vitamina D desempeña importantes actividades no calcémicas no relacionadas con el metabolismo óseo que podrían tener implicaciones fisiológicas y patológicas significativas en distintas enfermedades inmunes, cáncer, así como en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (Arnson, Amital, & Shoenfeld, 2007; Cantorna, 2000; Deluca & Cantorna, 2001; Giovannucci, 2005; Holick, 2007b; Mathieu & Badenhoop, 2005; Mathieu, Gysemans, Giuliatti, & Bouillon, 2005). Se han encontrado evidencias que sugieren que el VDR se encuentra presente en las células presentadoras de antígenos siendo estos capaces de secretar y sintetizar $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ya que poseen 1- α -hidroxilasa. Cuando los valores de vitamina D son inadecuados, estas células presentadoras de antígenos (macrófagos y células dendríticas) sólo son capaces de producir cantidades limitadas de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Este hecho explicaría el deterioro de la función y activación de los macrófagos asociado a una alta prevalencia de infecciones en niños con raquitismo (Mathieu et al., 2004).

Por otra parte, se ha asociado un peor pronóstico de mortalidad asociado al cáncer en los grupos con mayor riesgo de deficiencia de vitamina D. Los grupos étnicos (como los afroamericanos) con menores niveles de vitamina D, presentan una mayor mortalidad debida a cánceres tanto en hombres como en mujeres (Giovannucci, 2005). Así, existe una relación entre la expresión del VDR y el riesgo de cáncer. Además, la

expresión del receptor de la vitamina D en el tejido del colon es normalmente baja, elevándose esta cantidad en las primeras etapas de la progresión tumoral resultando un fenómeno autocrino/paracrino que controlaría la evolución de la enfermedad.

En la línea de los efectos anteriores, la mayor información del rol protector de la vitamina D, proviene de los pacientes con insuficiencia renal crónica terminal con afectación de enfermedad cardiovascular. La vitamina D participa en la regulación del Sistema Renina Angiotensina (SRA), siendo el calcitriol un regulador negativo del SRA (Y. C. Li et al., 2002), observándose una reducción en la actividad de la renina, en los niveles de angiotensina II y en los niveles de la presión sanguínea.

2.3. Regulación del Metabolismo Mineral. Fisiología de las hormonas calciotropas

El objetivo de la homeostasis mineral es la regulación de las concentraciones en el líquido extracelular de calcio, fósforo y magnesio, así como en los compartimentos intracelulares, con la finalidad de proporcionar una absorción y retención adecuadas cubriendo las necesidades estructurales esqueléticas. Por todo ello, resulta imprescindible para el organismo mantener dichas concentraciones entre límites muy estrechos a través de un sistema de regulación homeostática que consigue mantener sus niveles séricos de forma constante.

Los tres iones mencionados anteriormente desarrollan en el organismo importantes funciones reguladoras: el *calcio* actúa como regulador de la secreción y acción de diversas hormonas y enzimas citosólicas, interviene en la permeabilidad de membranas, en el sistema de coagulación sanguínea, en la placa neuromuscular y en la conducción nerviosa. Además, es el catión principal en la estructura de huesos y dientes (Haskell & Brown, 1999), siendo su concentración en el líquido extracelular rigurosamente preservada en el organismo. El principal depósito del *fósforo* es el esqueleto, y forma parte de la regulación de diversas enzimas, fosfolípidos de membrana, los nucleótidos del ADN y ARN (ácido ribonucleico), así como de la composición de los enlaces de alta energía de ATP y GTP (guanósín trifosfato). Participa en el borde de resorción de las células en cepillo intestinales. Por último, el *magnesio* es uno de los reguladores principales de la hormona paratiroidea, y participa como cofactor en reacciones enzimáticas dependientes de ATP, así como en los procesos de transcripción, replicación y traducción del código genético.

Con el fin de mantener un sistema constante de regulación homeostática, intervienen las hormonas calciotropas (calcitriol o vitamina D activa [1,25(OH)₂D₃], hormona paratiroidea (PTH) y calcitonina), modulando la absorción, eliminación y depósito, a tres niveles: intestino, hueso y riñón (Figura 3). Un 40% de todo el calcio plasmático se encuentra unido a la albúmina, un 10% a diferentes aniones (citrato, fosfato y bicarbonato) y un 50% se encuentra de forma libre o ionizada. Los cambios en los niveles de calcio iónico son los que participan en la homeostasis, estando sometidos a control hormonal, por una parte, y modificando la síntesis y/o secreción de las hormonas calciotropas, por otra. Las funciones del calcio en contractilidad muscular, neurotransmisión, estabilización de membranas y sistema de

coagulación son tan importantes que todo el sistema de regulación está orientado a mantener el 1% de su concentración total presente en los tejidos blandos y líquidos corporales dentro de los límites normales. El calcio iónico es la fracción biológicamente activa y puede sufrir variaciones importantes con los cambios de pH y proteínas. El 70% del fósforo del plasma y de las células se encuentra como fósforo orgánico, compuesto por fosfolípidos y ésteres de fosfato; un 10% del fósforo en plasma circula unido a proteínas. El resto, el fósforo inorgánico, es el que se encuentra bajo control homeostático (Hankes, Schmaeler, Jansen, & Brown, 1999).

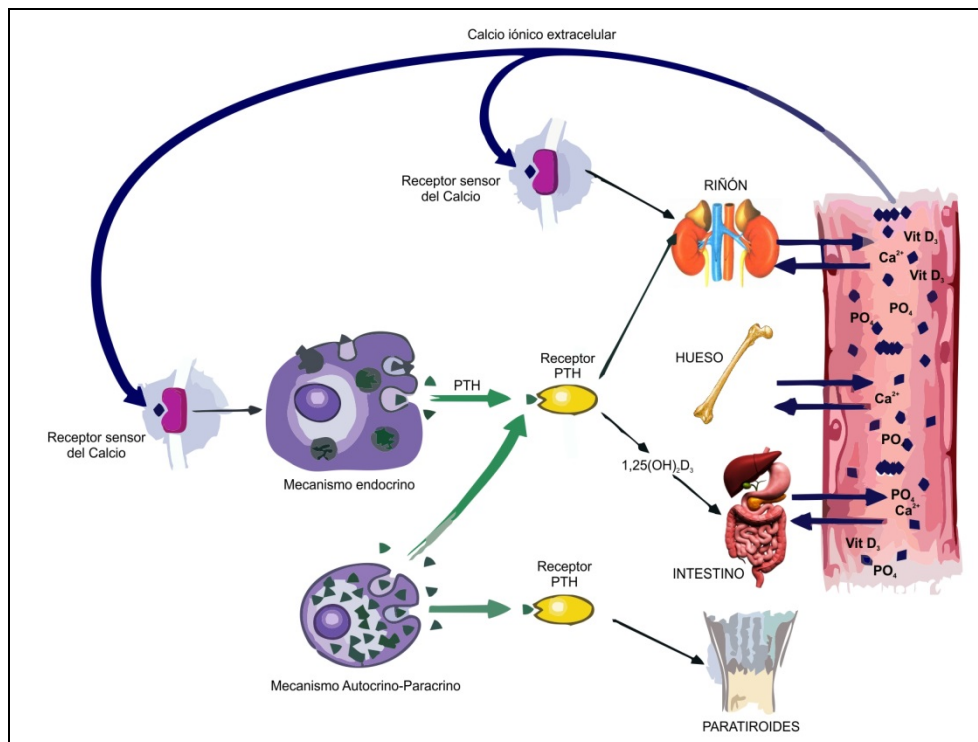


Figura 3: Regulación del metabolismo del Mineral

2.3.1. Calcio, Fósforo y Magnesio

El **calcio** es el catión más abundante del organismo, encontrándose el 99% en la fase mineral del hueso en forma de cristales de hidroxiapatita (1.000 g en el adulto). El 50% se encuentra en forma de calcio iónico libre en plasma, un 10% ligado a aniones (citrate, bicarbonato) y en un 40% ligado a proteínas (fundamentalmente albúmina). La absorción de calcio es realizada a lo largo de todo el intestino delgado, aunque fundamentalmente se realiza en el yeyuno. El depósito de calcio en el hueso depende de la capacidad de absorción intestinal y de la eliminación intestinal, encontrándose los requerimientos fisiológicos establecidos principalmente sobre la base de las necesidades del hueso (Gueguen, 2001). Por ello, aportes inferiores a 450 mg/día han demostrado ser insuficientes para mantener un adecuado ritmo de masa ósea, ya que hay que tener en cuenta que solo el 40% del mismo es absorbido en el intestino, siendo secretado en parte por el líquido gastrointestinal. En caso de disminución de la ingesta de calcio, existiría un descenso de la absorción del mismo, bajando su concentración sérica, estimulando la PTH, aumentando ésta la resorción ósea, la reabsorción intestinal de calcio y la producción renal de calcitriol.

Se ha demostrado que la ingestión diaria de un único elemento no tiene efecto directo sobre la disminución de la masa ósea, incluso si este nutriente es el calcio (Pedrera et al., 2001); aunque otros estudios demuestran que el aumento del contenido de calcio en la alimentación durante la infancia y adolescencia permite una adecuada adquisición de

masa ósea (Chan, Hoffman, & McMurry, 1995; Recker et al., 1992). Dosis altas de calcio no comportan un aumento en la absorción intestinal de éste¹, ya que parece existir un gradiente por encima del cual ya no se absorbería más calcio (Matkovic, Fontana, Tominac, Goel, & Chesnut, 1990). La ingesta de micronutrientes, tales como el boro, cobre o selenio son de vital importancia para el metabolismo óseo (Palacios, 2006; M. Yamaguchi & Uchiyama, 1987). A pesar de ello, la ingestión en grandes cantidades de estos elementos también puede ejercer un efecto nocivo sobre el metabolismo óseo. La ingestión de selenio a altas dosis tiene un efecto negativo sobre el hueso, pudiendo evitarse con la ingestión de zinc (Guglielmi, Scalzo, de Terlizzi, & Peh, 2010).

En contraste con el calcio, todos los productos alimenticios comunes (leche, huevos, cereales y hortalizas) son ricos en **fósforo**, cuyo consumo medio oscila entre 1300 hasta 1600 mg/día en Europa; el 60-70% del fósforo contenido en los alimentos es absorbido vía intestinal (mediada por la vitamina D), existiendo una eliminación renal del 5-15%. En España, la ingesta media ha sido descrita en numerosos estudios, recomendando su ingesta diaria en 1200 mg (Pedrera-Zamorano et al., 2009; Pedrera, et al., 2001; Rico et al., 2002). La PTH es el principal regulador de la eliminación final de fosfatos, a partir de la inhibición de la reabsorción tubular del mismo.

¹ Incluso dosis elevadas de calcio pueden desarrollar depósitos elevados del mismo en la matriz ósea, provocando una pérdida de elasticidad ósea, así como un aumento de la probabilidad de fracturas.

El **magnesio** es absorbido vía intestinal, proporcionalmente al contenido calórico de la dieta. En plasma circula el 1% del magnesio corporal total, quedando el 55% reservado en forma iónica y un 20% unido a proteínas, constituyendo el hueso el principal depósito de magnesio (alrededor del 70%). El magnesio ha sido involucrado en el mecanismo sensor del calcio de la PTH, participando en la regulación del calcio.

2.3.2. Calcitriol

Los factores que van a condicionar los niveles de vitamina D activa o calcitriol se pueden agrupar en tres grandes grupos (Groff & Grooper, 1999). En *primer lugar*, los relacionados con la *síntesis de vitamina D por la acción de la radiación ultravioleta* (edad, exposición solar y contenido de melanina) (Figura 4). En *segundo lugar*, la *afectación directa por los factores nutricionales* directamente relacionados con los hábitos dietéticos. En *tercer lugar*, los *factores con capacidad para modificar el metabolismo de la vitamina D*, tanto a nivel de su absorción y reabsorción intestinal como a la concurrencia de enfermedades hepáticas y renales que puedan afectar a la capacidad de la 25-hidroxilación y 1 α -hidroxilación, así como el consumo de medicamentos que aceleren su catabolismo.

Como se ha comentado anteriormente, el calcitriol o $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, se produce fundamentalmente en el túbulo renal a partir de la acción de la 1α -hidroxilasa sobre el $25(\text{OH})\text{D}_3$ producido en el hígado². Para ejercer su acción debe unirse al VDR. Así, el calcitriol cumple las siguientes funciones: en el *intestino*, estimula la absorción de calcio y fósforo, promoviendo la síntesis de proteínas transportadoras, actuando directamente sobre el contenido lipídico de la membrana; en el *riñón*, aumenta la reabsorción tubular de calcio; en el *hueso* favorece la resorción ósea, aportando fósforo y calcio al plasma, promoviendo la diferenciación y maduración de los osteoclastos³ así como la maduración de los osteoblastos⁴ (Raisz, 1993); en la *paratiroides*, actúa sobre su receptor (VDR), reduciendo a nivel transcripcional la síntesis de PTH⁵.

² La producción renal de calcitriol se regula por los niveles de PTH, fósforo y calcio.

³ La diferenciación y maduración de los osteoclastos promovida por el calcitriol resulta un efecto sinérgico con la PTH, mediados a su vez por los osteoblastos y las células del estroma (Key, Weichselbaum, & Carnes, 1988; Shevde, Anklesaria, Greenberger, Bleiberg, & Glowacki, 1994).

⁴ Como consecuencia de la diferenciación y maduración de los osteoclastos, así como de la maduración de los osteoblastos, se estimula la síntesis proteica y la mineralización.

⁵ Ante la deficiencia de calcitriol, se reduce el efecto inhibitor de la PTH, aumentando la síntesis de ésta.

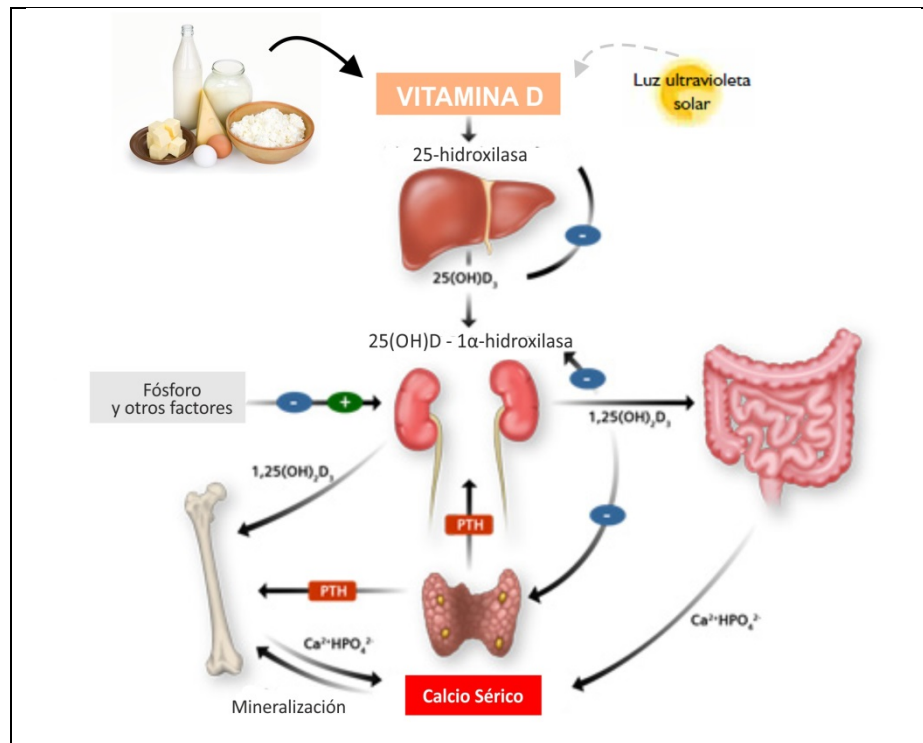


Figura 4: Sistema hormonal de la Vitamina D

2.3.3. Parathormona (PTH)

La PTH es una hormona polipeptídica, formada por 84 aminoácidos, de los cuales el fragmento activo lo forman 34 aminoácidos amino-terminales. Su síntesis y liberación ocurre en las glándulas paratiroides, siendo su principal regulador el calcio⁶. Pequeñas variaciones de calcio

⁶ Cuando el calcio sérico disminuye, las glándulas paratiroides detectan los cambios de concentración a través del *receptor sensor del calcio* (CaR) y estimula la síntesis y liberación de PTH. El CaR, es un receptor transmembrana acoplado a proteínas G, que activa una serie de señales intracelulares (fosfolipasas, C, A₂ y D), cuyo resultado final es la estimulación de la síntesis y liberación de PTH.

sérico producen grandes cambios en la concentración de PTH, siguiendo una función sigmoideal inversa (Garland, et al., 1999). La PTH eleva los niveles de calcio por tres mecanismos (Figura 5):

1. *Estimulando la resorción ósea en presencia de niveles fisiológicos de calcitriol.* La PTH activa la remodelación ósea en el hueso, promoviendo la salida de calcio y fósforo al torrente sanguíneo⁷.
2. *Incrementando indirectamente la absorción intestinal de calcio.* La PTH estimula la 1α -hidroxilasa, favoreciendo la síntesis renal de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ y favoreciendo la absorción intestinal de fósforo y calcio.
3. *Aumentando la reabsorción tubular de calcio a nivel del túbulo distal y colector.*

Así mismo, la síntesis y/o secreción de la PTH, se encuentra regulada por los siguientes factores: el descenso de *calcio iónico* en suero se detecta a través de las glándulas paratiroides (por la actuación del CaR o Receptor-Sensor de Calcio), estimulando la síntesis y liberación de PTH; el *calcitriol* inhibe a nivel transcripcional la síntesis de PTH y aumenta la expresión de receptores de vitamina D (VDR), así como del CaR en la glándula paratiroides; los niveles elevados de *fósforo* (hiperfosforemia) estimula los niveles de ARNm de PTH, ejerciendo su acción sobre la síntesis de PTH a nivel postranscripcional, actuando de forma

⁷ La movilización de calcio al torrente sanguíneo aumenta la concentración de calcio sérico, actuando sobre el CaR, disminuyendo la concentración de PTH.

independiente a los cambios en los niveles de calcio y calcitriol. Contrario a su papel de favorecer la resorción ósea, se ha descubierto el papel estimulador de la PTH en la formación ósea, a través de la síntesis de IGF-I y TGF- β (Canalis, McCarthy, & Centrella, 1989).

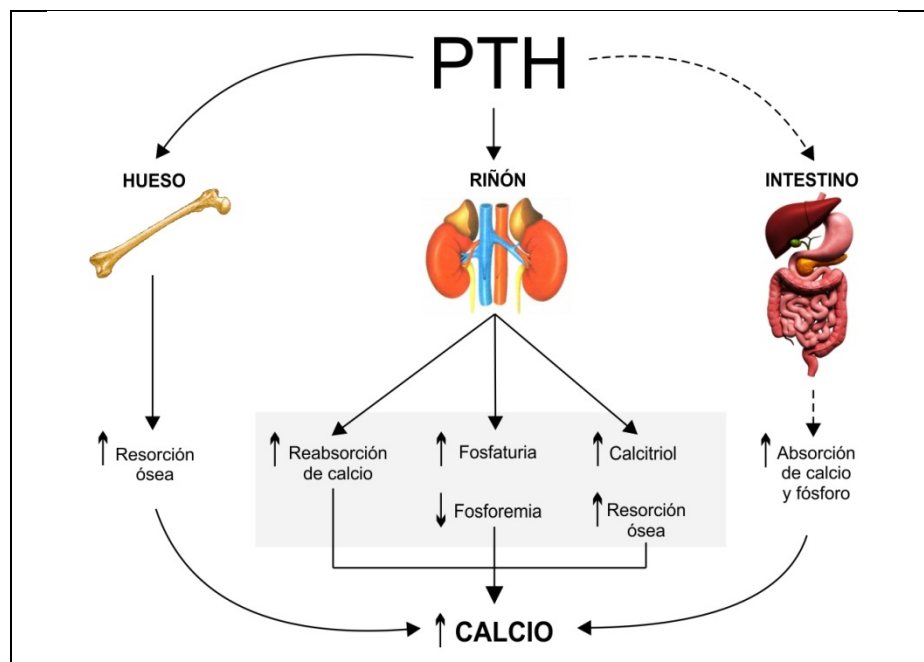


Figura 5: Efectos de la PTH sobre el Calcio

2.3.4. Calcitonina (CT)

La calcitonina es una hormona polipeptídica sintetizada por las células C tiroideas (parafoliculares) participantes en la regulación de la

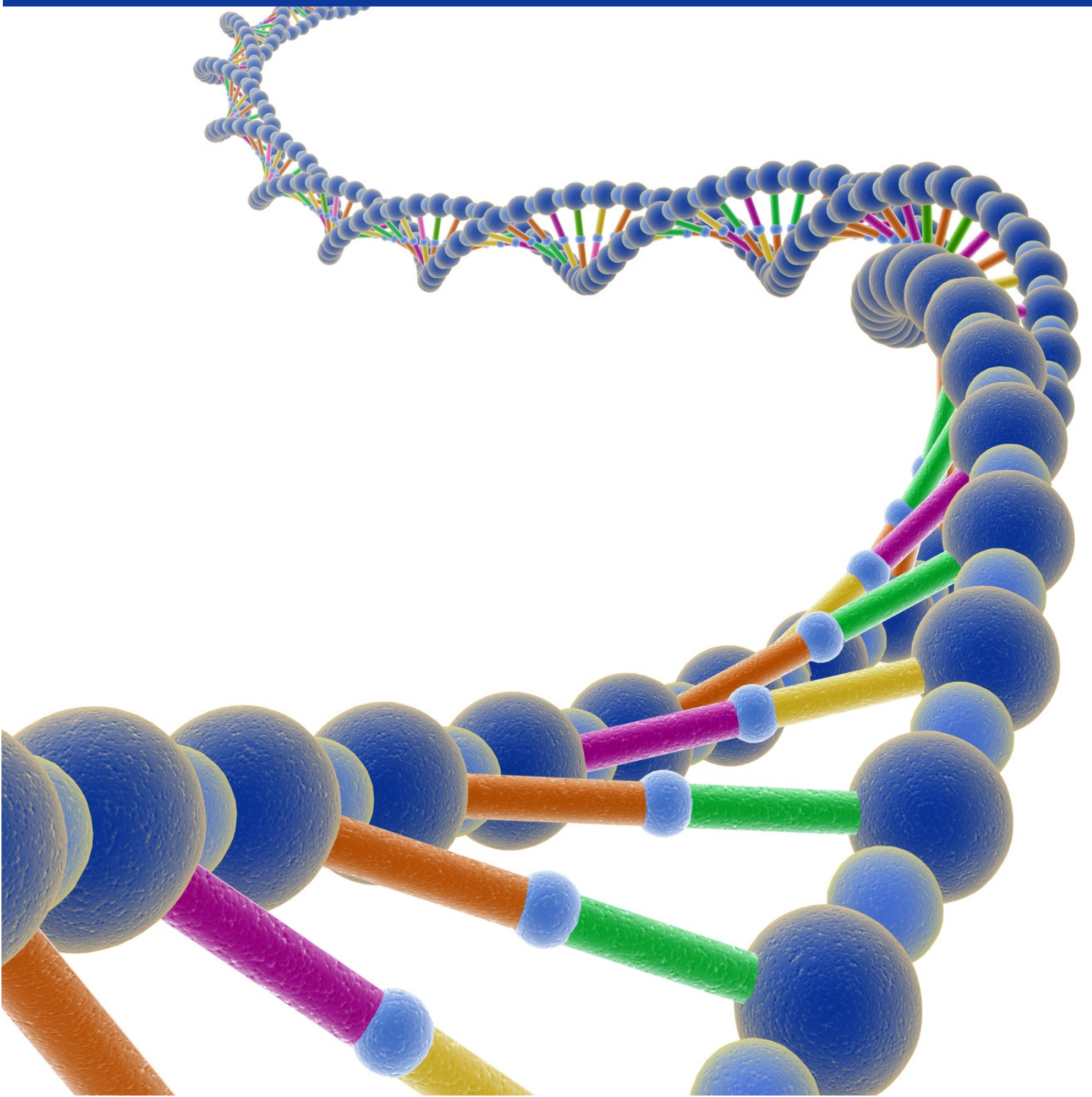
homeostasis mineral en un sentido contrariamente opuesto a la PTH y a la vitamina D⁸. Su secreción se estimula por el calcio y el efecto hipocalcemiante, concretamente en situaciones agudas, encontrándose mediado por su efecto inhibitorio sobre los osteoclastos activos (Finch, Brown, & Slatopolsky, 1999). El efecto biológico más importante es inhibir la resorción ósea osteoclástica, disminuyendo la actividad de los osteoclastos e incrementando su apoptosis⁹. A nivel renal disminuye la reabsorción tubular de calcio, contribuyendo a un balance negativo del mismo. Se sabe que la acción inhibitoria de la Calcitonina sobre la actividad osteoclástica es transitoria, ya que los osteoclastos parecen volverse “impermeables” a la calcitonina en pocos días (Prieto, 1999).

La calcitonina también actúa a nivel de receptores específicos del aparato digestivo, microcirculación y sistema nervioso. Por todo ello, su papel en la regulación fisiológica no está claramente definida, ya que se han descrito otros posibles efectos de la calcitonina como estimulante de osteoblastos tales como el aumento de IGF-I, entre otros (Finch, et al., 1999).

⁸ Mientras la PTH y la vitamina D responden a situaciones con niveles séricos bajos de calcio favoreciendo su elevación, la calcitonina es la hormona hipocalcemiante por excelencia.

⁹ Como resultado de la acción de la CT, el calcio sérico disminuye. La CT actúa sobre la membrana del osteoclasto, contrayéndose e inhibiendo la resorción. Provoca la disolución de los osteoclastos maduros en células mononucleares, ejerciendo un mecanismo inhibitorio a nivel de células precursoras de osteoclastos.

RECEPTOR DE LA VITAMINA D (VDR)



3.1. Estructura del Receptor de la Vitamina D (VDR)

La vitamina D₃ ejerce su acción biológica a través de la unión a su receptor (*Vitamin D Receptor*). La proteína VDR es una fosfoproteína de 427 aminoácidos y 48 kDa en la que se reconocen 2 dominios fundamentales (Figura 6), uno de unión al ADN (DBD) y otro de unión al ligando (calcitriol) (LBD).

El VDR es un receptor nuclear, miembro de la superfamilia de los receptores de las hormonas esteroideas y tiroideas. Como otros miembros de esta superfamilia, el VDR actúa como factor de transcripción ligando-inducido (R. M. Evans, 1988; Haussler et al., 1988), regulando la expresión de genes involucrados en la mayoría de las acciones biológicas de la vitamina D₃.

La estructura del VDR consta de diversas regiones (dominios con respecto a su acción) bien definidas que pueden funcionar de forma autónoma:

1. **Dominio de unión al ADN** (Baker et al., 1988). Se encuentra cercano al N-terminal de la proteína; su importancia radica en requerir una secuencia específica de ADN para su unión, para así poder dar lugar a la respuesta genómica del 1,25(OH)₂D₃. El dominio es rico en cisteína y consta de dos dedos de zinc, localizados entre los aminoácidos 24 y 91 de la proteína, responsables de la unión del VDR al ADN (Garnero & Delmas, 1998). La zona situada entre los aminoácidos 91 y 115 contiene varias regiones helicoidales, pudiendo estar relacionada con

contactos con el ADN. Entre los aminoácidos 49 y 55, existe una secuencia de 5 aminoácidos básicos que podrían tener contactos directos con el ADN, siendo requeridos para la localización nuclear de este VDR. En esta función se ha relacionado la secuencia entre los aminoácidos 79 y 105. Por ello, este dominio podría ser la unidad funcional requerida para la óptima retención del VDR en el núcleo como resultado de la interacción entre el VDR y el ADN.

2. **Dominio de unión a la hormona** (Somjen et al., 1986). En este dominio parecen existir tres zonas principales que abarcan desde los aminoácidos 227-240, 268-316 y 396-422, dentro de la zona de tipo sándwich que incluye a las α -hélices y algunas cadenas β , formando una estructura tridimensional. Las hélices 4, 5, 11 y 12 y algunas cadenas β son las responsables de la unión al ligando (Adams & Gacad, 1985).
3. **Dominio relacionado con la dimerización**. Este dominio comparte zonas con el dominio de unión al ADN y zonas con el dominio de unión a la hormona. Abarca desde los aminoácidos 91-92, 244-263 y 317-395.
4. **Lugar de unión a proteínas nucleares correguladoras del complejo transcripcional moduladoras del nivel de transcripción de los genes diana**. Consta de dos regiones principales, la primera constituida por los aminoácidos 244-263 (propias del dominio relacionado con la dimerización)¹⁰ y la segunda constituida por los

¹⁰ En esta región se encuentra la lisina 246, aminoácido altamente conservado entre los miembros de la superfamilia de receptores nucleares.

aminoácidos 410-427¹¹. Los aminoácidos lisina, glutamina, y leucina contenidos en este dominio participan en el mecanismo de transcripción del VDR, involucrando a otras proteínas o coactivadores.

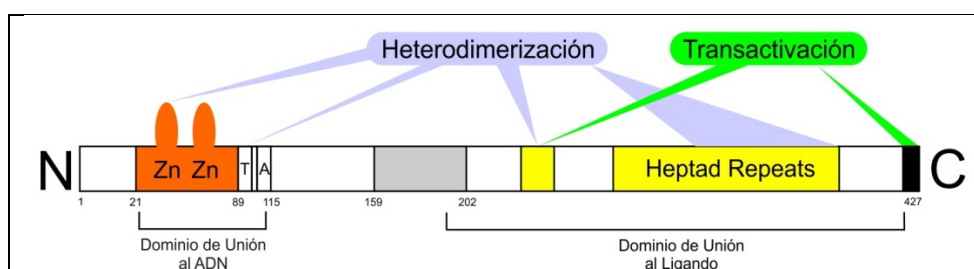


Figura 6: Dominios funcionales del receptor de la vitamina D.
Modificado de Dusso (Dusso, Brown, & Slatopolsky, 2005)

3.2. Distribución del Receptor de la Vitamina D (VDR)

Los niveles intracelulares de VDR se regulan tanto por ligandos del VDR como por hormonas y factores de crecimiento que no unen VDR (Russell, Bar, Sherwood, & Hurwitz, 1993). La regulación, que afecta al control de la transcripción y la estabilización del ARNm del VDR así como a la síntesis y degradación de la proteína, es específica en cada tejido o célula ya que según se ha podido evidenciar, el calcitriol regula al alza la transcripción del VDR en las glándulas paratiroides y el riñón, pero no en el intestino (Sandgren, Bronnegard, & DeLuca, 1991). En cualquier caso, el VDR se encuentra

¹¹ En esta región se incluyen los aminoácidos glutamina 420 y la leucina 427.

distribuido tanto en tejidos implicados en la homeostasis del calcio, como en la mucosa intestinal (Pike, 1982), paratiroides (Hughes & Haussler, 1978), osteoblastos (Colston & Feldman, 1979), así como en las células de los túbulos proximal y distal del riñón (Simpson & DeLuca, 1980). A su vez, existen receptores en otros tejidos como el músculo (Bischoff, et al., 2001), el páncreas (Kream, Jose, Yamada, & DeLuca, 1977), la epidermis (Brumbaugh & Haussler, 1975), órganos reproductores y neuronales (Faraco, Morrison, Baker, Shine, & Frossard, 1989; Goff, Reinhardt, Beckman, & Horst, 1990; Stumpf & Denny, 1989; Stumpf, Sar, Clark, & DeLuca, 1982), en el cerebro (Somjen, et al., 1986), en los pulmones (Sandgren, et al., 1991), así como en el sistema hematopoyético (Kizaki, et al., 1991).

La cantidad de VDR en la célula diana depende también de muchos otros factores, como el estado de proliferación y diferenciación de la célula, las rutas celulares activadas en un determinado momento así como de la expresión diferencial de cofactores que intervienen en las acciones del VDR como factor de transcripción (Russell, et al., 1993). La respuesta de un tejido a la estimulación por el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ depende tanto del número de receptores de la vitamina D presentes, como de los niveles circulantes del $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Goff, et al., 1990).

La calidad del VDR es tan importante como la cantidad y disponibilidad de éste. Además de 14 mutaciones diferentes asociadas con raquitismos resistentes a vitamina D (Saijo et al., 1991), también se han descrito en los humanos más de 14 polimorfismos diferentes en el gen del VDR que pueden

actuar modulando la respuesta a la vitamina D₃ en los diferentes órganos diana (Kizaki, et al., 1991).

3.3. Regulación del Receptor de la vitamina D (VDR)

La regulación de la tasa de transcripción de los VDRE por el complejo Vitamina D – VDR requiere: 1) heterodimerización del VDR activado con el receptor retinoide X (RXR); 2) unión del heterodímero con los VDRE en la región promotora de los genes diana; 3) interacciones adicionales proteína-proteína con componentes del complejo de inicio transcripcional y con moduladores nucleares de la actividad transcripcional (Garnero & Delmas, 1998).

Así mismo, los factores que influyen en la actividad del complejo Vitamina D – VDR incluyen: 1) la tasa de captación celular y catabolismo del calcitriol; 2) los niveles de VDR; 3) modificaciones post-traduccionales del VDR; 4) disponibilidad nuclear de otros componentes transcripcionales (Garnero & Delmas, 1998).

Los niveles intracelulares de VDR resultan del balance entre su síntesis y degradación. Existe tanto una regulación homóloga por el calcitriol y otros ligandos del VDR, como una regulación heteróloga por factores hormonales y de crecimiento que no se unen al VDR. Estos factores influirían en la tasa de transcripción del gen del VDR y/o en la estabilidad de su ARNm (Garnero &

Delmas, 1998). El regulador mejor conocido es el calcitriol. La unión con el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ estabiliza el VDR y prolonga su vida media (Delissalde, et al., 1998). En tejido paratiroideo, los niveles altos de calcitriol inducen sobreexpresión del VDR. Por otra parte, la disminución de calcitriol estimularía la proliferación de las células paratiroides (Miyamoto et al., 1997).

El VDR libre está en equilibrio entre el citoplasma y el núcleo. Una vez unido al calcitriol, el complejo calcitriol-VDR se trasloca rápidamente al núcleo, donde interacciona con secuencias específicas del ADN de los genes respondedores a la vitamina D_3 regulando su tasa de transcripción e inhibiendo simultáneamente a la del gen de la PTH (Dusso & Brown, 1998).

En animales de experimentación hay datos que sugieren que la acción del calcitriol en la regulación del VDR podría estar mediada por el calcio (Morgan, et al., 1996).

3.4. Estructura del gen del Receptor de la Vitamina D (VDR)

El gen del VDR en humanos, se localiza en el brazo largo del cromosoma 12 (12q13-14) (Gómez Alonso, Naves, Díaz-Corte, Fernández Martín, & Cannata Andía, 1998; Martínez & Willett, 1998) y comprende una región de aproximadamente 100 kb de ADN aunque sólo 4,63 kb son los que codifican la proteína (A. J. Brown, 1999; Ruggiero, et al., 1998). Está formado por 11 exones, de los cuales 8 son codificantes (Miyamoto, et al., 1997), y sus

intrones asociados, así como varias regiones no codificadoras en posición 5' (Garnero & Delmas, 1998). Se han descrito distintos polimorfismos del gen en las regiones no codificadoras, pudiendo modificar su funcionalidad sin alterar la estructura final del receptor (Dusso & Brown, 1998) (Figura 8).

En la zona 5' no codificante se encuentran los exones 1A, 1B, 1C, como consecuencia del proceso de transcripción alternativo de estos exones se puede formar tres tipos de especies de ARNm (Hughes et al., 1988). Los exones del 2 al 9 codifican la estructura de la proteína producto de este gen, que es el VDR. El exón 2 codifica un primer dedo de zinc de la proteína que está formado por 21 aminoácidos y el exón 3 codifica el segundo dedo de zinc formado por 16 aminoácidos. El gen que codifica al VDR humano, se caracteriza por la ausencia de la caja TATA y abundante GC (Dyanan & Tjian, 1983). Se ha descrito una mutación en el exón 2, pudiendo ser detectado por la enzima de restricción *FokI*, la cual modifica el codón inicial ATG por ACG (T/C) y que presenta 3 aminoácidos extras (metionina, treonina y serina) en la estructura del VDR (Stumpf, et al., 1982). Así mismo, utilizando las enzimas de restricción *BsmI*, *ApaI* y *TaqI*, se han identificado en el gen del VDR humano polimorfismos en la región no codificable (exón 7, exón 8 y exón 9).

3.5. Variantes del gen del Receptor de la Vitamina D.

La caracterización e identificación de cientos de miles de *loci* *polimórficos* distribuidos a lo largo de los 3.250 millones de nucleótidos (SNPs) que constituyen nuestro genoma (Levy et al., 2007; Sachidanandam et al.,

2001), constituye una de las contribuciones más importantes de la secuenciación del genoma humano (Lander et al., 2001; Venter, 2003; Venter et al., 2001). Se estima que los SNPs son responsables aproximadamente de tres millones de las diferencias promedio individuales.

Un polimorfismo es una variante genética que aparece al menos en el 1% de los cromosomas de una población. Las secuencias polimórficas (conocidas como *loci polimórficos*, *loci anónimos*, *marcadores anónimos*, *marcadores polimórficos* o *secuencias anónimas*) son secuencias de ADN que, normalmente, no codifican para un producto génico, se distribuyen de forma más o menos aleatoria a lo largo del genoma y presentan la característica de ser polimórficas. Estas variantes polimórficas pueden estar localizadas en regiones reguladoras o codificantes de un gen, o bien en regiones intergénicas. Las variantes localizadas en un gen pueden inducir cambios en el patrón de expresión del gen o introducir cambios en la proteína. Si las variaciones se localizan en un exón pueden generar la alteración en la secuencia de un codón de forma que este siga codificando el mismo aminoácido o bien que el codón codifique un aminoácido diferente alterando la secuencia de la proteína, resultando una alteración en la función biológica (Figura 7).

La mayor parte de las variaciones polimórficas están localizadas en regiones intergénicas, sin efectos fenotípicos observables. Aunque dichas variaciones pueden actuar como marcadoras de las secuencias adyacentes, dando como resultado “desequilibrios de ligamientos” (Reich et al., 2001), una pequeña proporción de las variaciones polimórficas afectan a regiones codificadoras (exones) o a regiones reguladoras (intrones) de un gen, alterando

la estructura del producto génico, el grado de expresión de un gen o la ausencia de expresión de éste. Por todo esto, resulta de gran interés el conocimiento de la relación de vecindad entre polimorfismos contiguos en una determinada región genómica. Esta relación de vecindad entre polimorfismos, se obtiene a partir del estudio del desequilibrio de ligamiento de la región y el establecimiento del patrón de bloques de la misma. Los SNPs contenidos en un mismo bloque presentan un alto desequilibrio de ligamiento entre ellos y muy bajo desequilibrio de ligamiento con SNPs que se encuentra fuera de ese bloque (Fang et al., 2005; Nejentsev et al., 2004).

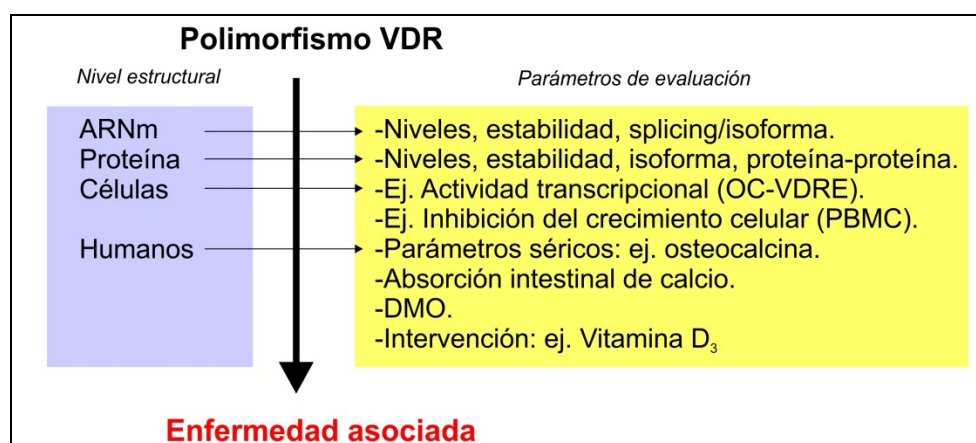


Figura 7: Representación esquemática de los diferentes niveles de organización estructural de los estudios de los polimorfismos del gen del VDR.

OC-VDRE, Osteocalcina-Elementos de respuesta a Vitamina D; PBMC, células mononucleares en sangre periférica; DMO, Densidad Mineral Ósea

Tomado de Uitterlinden (Uitterlinden, Fang, Van Meurs, Pols, & Van Leeuwen, 2004)

Estos cambios polimórficos pueden distribuirse en la población, causando una variabilidad genética subyacente, y aunque en ningún caso suponen una disfunción grave (ya que otros genes pueden suplir la función perdida o bien la variación no ejerce efectos deletéreos), pueden manifestarse

como variabilidad fenotípica. Se estima que los polimorfismos se encuentran distribuidos en el genoma humano en una frecuencia de un SNP por cada 250-300 nucleótidos (aproximadamente un 0,35% del total de nucleótidos, estimado a partir de la existencia de 11,5 millones de SNPs distribuidos a lo largo de todo el genoma humano) (Jorde, Bamshad, & Carey, 2011).

Se han detectado polimorfismos de la proteína VDR en la región 5'UTR, región codificante y región 3'UTR, presentando algunos de estos polimorfismos un efecto directo sobre la estructura o expresión del VDR o bien sobre la estabilidad del ARNm. Sin embargo, otras variantes polimórficas no han presentado efectos directos sobre la función de la proteína VDR (Figura 8).

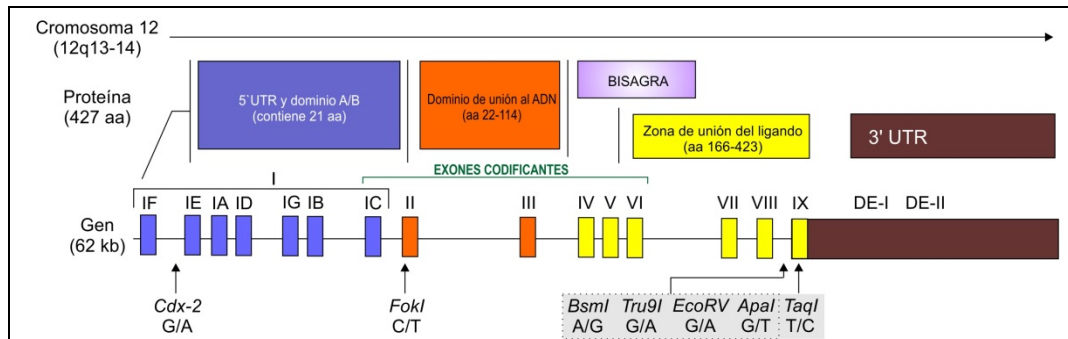


Figura 8: Estructura del gen y de la proteína VDR, junto con la localización de los polimorfismos comunes. Modificado de Uitterlinden (Uitterlinden, et al., 2004)

3.5.1. Polimorfismos de la región 5'UTR

Se ha identificado un lugar de unión para el factor de transcripción CDX-2 en la región promotora del VDR, este factor de transcripción es

específico de células intestinales, participando en la regulación de la expresión del VDR en dichas células. Así mismo, la proteína CDX-2 juega un papel importante en el desarrollo y diferenciación del intestino (Freund, Domon-Dell, Kedinger, & Duluc, 1998), así como con en los procesos de absorción de calcio a nivel intestinal (Yamamoto et al., 1999). El polimorfismo rs11568820-A/G, está localizado en la zona de unión al factor de transcripción CDX-2 en el gen del VDR, alterando así su afinidad y dando lugar a cambios en los niveles de expresión del VDR en las células intestinales (Arai et al., 2001).

Así mismo, también se ha detectado otro polimorfismo en esta región, denominado rs4516035-A/G (Halsall, Osborne, Pringle, & Hutchinson, 2005), implicado en la polarización de los linfocitos T (Boonstra et al., 2001; Rengarajan, Szabo, & Glimcher, 2000).

3.5.2. Polimorfismos de la región codificante

Se ha encontrado el polimorfismo rs1073810-C/T, localizado en la región codificante del VDR que modifica la secuencia de sitio de inicio de transcripción del exón 2, consistente en un cambio de base C por T que introduce una diana de restricción para la enzima *Fok-I*¹². Así, cuando la variante C está presente (alelo *F*) se pierde el codón de inicio de

¹² La nomenclatura utilizada para los polimorfismos de tipo RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) hace referencia a la ausencia (se denota con letras mayúsculas) o presencia (se denota con letras minúsculas) de la diana de restricción.

transcripción (ATG > ACG), dando lugar a una proteína más corta, utilizándose un lugar de inicio de transcripción alternativo localizado en el codón 4.

3.5.3. Polimorfismos de la región 3'UTR

En esta región del gen del VDR, se han identificado una gran variabilidad genética debida a la presencia de varios polimorfismos. Esta variabilidad ha sido ampliamente discutida en la literatura, así como la posición que ocupa cada uno en la región 3'UTR. Morrison et al. hablan de 13 polimorfismos (Morrison, et al., 1994), mientras que Durrin et al. describen 7 de estos (Durrin, Haile, Ingles, & Coetzee, 1999). Así mismo, en esta región también existen polimorfismos de tipo RFLP como *Apa-I* (rs7975232) (Faraco, et al., 1989), *BsmI* (rs1544410) (Morrison, et al., 1992), *Taq-I* (rs731236) (Morrison, et al., 1992) y *Tru9I* (rs757343) (Ye, Reis, & Velho, 2000) y *EcoRV* (rs4516035) (Mocellin & Nitti, 2008). Estos polimorfismos están ubicados en la región 3' del intrón 9 y exón 10 del gen del VDR.

Se ha localizado un polimorfismo de tipo microsatélite conocido como *PolyA* (rs17878969), que consiste en la repetición de un número variable de adeninas que oscilan entre repeticiones de 15 a 18 (formas cortas de *PolyA*) y repeticiones de más de 20 (formas largas de *PolyA*).

La región 3' UTR del gen del VDR está relacionada con la estabilidad del ARNm y, por tanto, con el nivel de expresión del VDR. Así, los polimorfismos *Apal*, *BsmI* y *TaqI* presentan una alta asociación debido fundamentalmente al alto desequilibrio de ligamiento que presenta dicha región. Este desequilibrio de ligamiento también afecta al polimorfismo *PolyA*, conociéndose la existencia de una proteína de unión especialmente afín a secuencias *PolyA* largas, pudiendo facilitar la traslocación del ARNm mediante la interacción con otras proteínas (Mangus, Evans, & Jacobson, 2003).

3.6. Consecuencias fisiológicas de los polimorfismos en el gen del VDR no relacionadas con la DMO.

Debido a que la vitamina D a través de su receptor VDR interviene en multitud de procesos biológicos, es posible encontrar alteraciones en los niveles de expresión o función de dicho receptor debido a la presencia de variantes polimórficas del gen relacionadas con distintas enfermedades. Es complejo establecer causalidad entre las asociaciones de los polimorfismos del gen del VDR, presentándose resultados contradictorios en multitud de los estudios realizados. Las consecuencias fisiológicas de los polimorfismos del gen del VDR relacionadas con la DMO y el metabolismo mineral óseo son comentadas en el apartado 4.5 y VI (páginas 113 y 143 respectivamente).

3.6.1. Efecto de los polimorfismos del gen del VDR sobre el sistema renal

El efecto de los polimorfismos del gen del VDR en la insuficiencia renal, ha sido explorado ampliamente debido al complejo papel fisiológico desempeñado por la vitamina D. La interacción del calcitriol con su receptor inhibe la síntesis de PTH y de células paratiroideas (Patel, Ke, & Hsu, 1994; Szabo, Merke, Beier, Mall, & Ritz, 1989). Tsukamoto et al. (Tsukamoto et al., 1996) reportaron una mayor incidencia del alelo *b* del polimorfismo *BsmI* en pacientes sometidos a hemodiálisis con hiperparatiroidismo secundario. La asociación del genotipo *BsmI* con los niveles de PTH también ha sido estudiado en pacientes trasplantados de riñón, estando el genotipo *bb* relacionado con niveles mayores de PTH (Giannini et al., 2002; Messa et al., 1998) y una mejor recuperación postquirúrgica de la DMO, 3 meses después de dicho trasplante (Falkiewicz et al., 2005; Torres et al., 1996).

La asociación entre la insuficiencia renal y el resto de polimorfismos del gen del VDR no ha sido tan ampliamente estudiada como en el caso del polimorfismo *BsmI*. Existe un estudio en el que se relaciona el genotipo *FF* del polimorfismo *FokI*, con altos niveles de PTH en pacientes prediálisis (Vigo Gago et al., 2005). Sin embargo, estos autores sostienen que antes de la aparición de la insuficiencia renal, los pacientes con el genotipo *FF* tuvieron una fuerte supresión de los niveles de PTH. Además de todo ello, el genotipo *AA* del polimorfismo *Apal* ha sido relacionado con niveles mayores de PTH y osteocalcina en pacientes prediálisis (Yokoyama et al., 2001).

Otros estudios han relacionado a los polimorfismos del gen del VDR con la nefrolitiasis. En esta línea, Ruggiero et al. (Ruggiero, Pacini, Amato, Aterini, & Chiarugi, 1999) relacionaban el genotipo *bb* del polimorfismo *BsmI*, con una excreción urinaria de calcio superior al resto de genotipos, y por tanto, a un aumento del riesgo de formación de cálculos. Confirmando el estudio anterior, Mossetti et al. (Mossetti et al., 2003) publicaron un estudio en el que se muestra una disminución de la excreción de citrato urinario en los individuos con el genotipo *bb*, aunque estos resultados no han sido confirmados en otros estudios. Nishijima et al. encontraron una asociación entre el alelo *T* del polimorfismo *TaqI* con una mayor excreción de calcio (Nishijima et al., 2002), y por tanto, a una mayor formación de cálculos, aunque nuevamente existen resultados contradictorios (Ozkaya et al., 2003).

3.6.2. Efecto de los polimorfismos del gen del VDR sobre el cáncer

Se ha descrito una asociación controvertida y en algunos casos contradictoria entre la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ y la susceptibilidad al padecimiento de cáncer, tales como próstata, colon y mama. En 1996, se publicó un estudio que evidenciaba una relación del polimorfismo *TaqI* y un mayor riesgo de cáncer de próstata (Taylor et al., 1996); resultados que fueron confirmados años después en pacientes europeos (Correa-Cerro et al., 1999). Ingles et al. (Ingles et al., 1997) publicaron uno de los primeros estudios sobre la relación entre el polimorfismo *PolyA* del gen del VDR y el cáncer de próstata en población estadounidense. Sin embargo, otros

estudios no han encontrado esta asociación en población estadounidense (Cheteri et al., 2004; Kibel, Isaacs, Isaacs, & Bova, 1998), europea (Gsur, Feik, & Madersbacher, 2004) o japonesa (Furuya, Akakura, Masai, & Ito, 1999; Habuchi et al., 2000); incluso un metanálisis que utilizó 28 estudios no encontró relación con ningún polimorfismo del gen del VDR y la susceptibilidad al padecimiento del cáncer de próstata (Ntais, Polycarpou, & Ioannidis, 2003).

Aunque la mayoría de estudios no han encontrado una relación entre el polimorfismo *TaqI* y el riesgo de cáncer de mama (Dunning et al., 1999; Newcomb et al., 2002), muy pocos han establecido una fuerte relación (Curran et al., 1999); evidenciando otros estudios un aumento del riesgo de metástasis (Lundin, Soderkvist, Eriksson, Bergman-Jungstrom, & Wingren, 1999; Schondorf et al., 2003). Este mismo polimorfismo también parece presentar evidencias de un aumento del riesgo de padecer carcinoma renal (Ikuyama et al., 2002). El número de estudios que no encuentran una asociación entre el polimorfismo *FokI* y el riesgo de padecer cáncer de mama son más numerosos (Bretherton-Watt et al., 2001; Curran, et al., 1999; Guy et al., 2004), quedando relegada dicha asociación exclusivamente a ciertos grupos raciales. El genotipo *FF* de este polimorfismo ha sido asociado a un menor riesgo de melanoma maligno (Hutchinson et al., 2000).

Parece existir relación entre el polimorfismo *BsmI* del gen del VDR y el padecimiento de cáncer de colon (H. S. Kim et al., 2001; Speer et

al., 2000); a pesar de ello, esta relación ha resultado contradictoria en el polimorfismo *FokI* (Ingles et al., 2001; Peters et al., 2001).

3.6.3. Efecto de los polimorfismos del gen del VDR sobre la diabetes

El polimorfismo *BsmI* ha sido relacionado con la susceptibilidad de presentar diabetes tipo I en los indios del Sur (McDermott et al., 1997), en pacientes taiwaneses (Chang et al., 2000), croatas (Skrabic, Zemunik, Situm, & Terzic, 2003), y japoneses (Motohashi et al., 2003). No encontrándose asociación en muestras finlandesas (Turpeinen et al., 2003) y chilenas (Angel, Santos, Carrasco, Albala, & Perez-Bravo, 2004). Este polimorfismo también se ha asociado al padecimiento de diabetes tipo II en alemanes (Ortlepp, Lauscher, Hoffmann, Hanrath, & Joost, 2001) y húngaros (Speer et al., 2001), sin embargo esta relación no se ha mantenido en muestras francesas (Ye et al., 2001), bangladesí (Hitman et al., 1998) o polaca (Malecki et al., 2003).

3.6.4. Otros efectos de los polimorfismos del gen del VDR sobre la salud humana

También han sido estudiadas otras asociaciones de los polimorfismos del gen del VDR con enfermedades cardiovasculares, inmunológicas, dermatológicas, etc. Aunque dichas asociaciones resultan aún más controvertidas que las descritas anteriormente.

Se han observado mayores niveles de presión arterial en hombres y mujeres sanos portadores del alelo *b* del polimorfismo *BsmI* (Borras et al., 2003). El aumento de susceptibilidad a la estenosis valvular aórtica calcificada (Ortlepp et al., 2001), junto con un aumento del espesor de la capa íntima-media de la arteria carótida (Kammerer et al., 2004), y el padecimiento de infarto de miocardio en individuos con el alelo *B* (Ortlepp et al., 2005) también han sido descritas, a pesar de no encontrarse ninguna asociación entre dicho alelo y la gravedad de la enfermedad coronaria (Ortlepp, von Korff, Hanrath, Zerres, & Hoffmann, 2003).

En estudios con muestras de pacientes con esclerosis múltiple se observó una mayor presencia de los haplotipos *Ab* (Fukazawa et al., 1999; Niino et al., 2000) y un aparente efecto diferencial entre los polimorfismos *TaqI* (Tajouri et al., 2005) y *FokI* (Partridge et al., 2004) respecto al riesgo de padecer esclerosis múltiple. Se ha encontrado una asociación entre el polimorfismo *FokI* y la ocurrencia de enfermedad de Graves, junto con un aumento del riesgo de sufrir dicha enfermedad asociado a los alelos *B* del polimorfismo *BsmI* y *A* del polimorfismo *Apal* (Ban & Taniyama, 2000; Ban, Taniyama, & Katagiri, 2000). Sin embargo otros estudios muestran nuevamente resultados contradictorios evidenciando un efecto protector del genotipo *AA* y *BB* frente al padecimiento de la enfermedad de Graves (Stefanic et al., 2005).

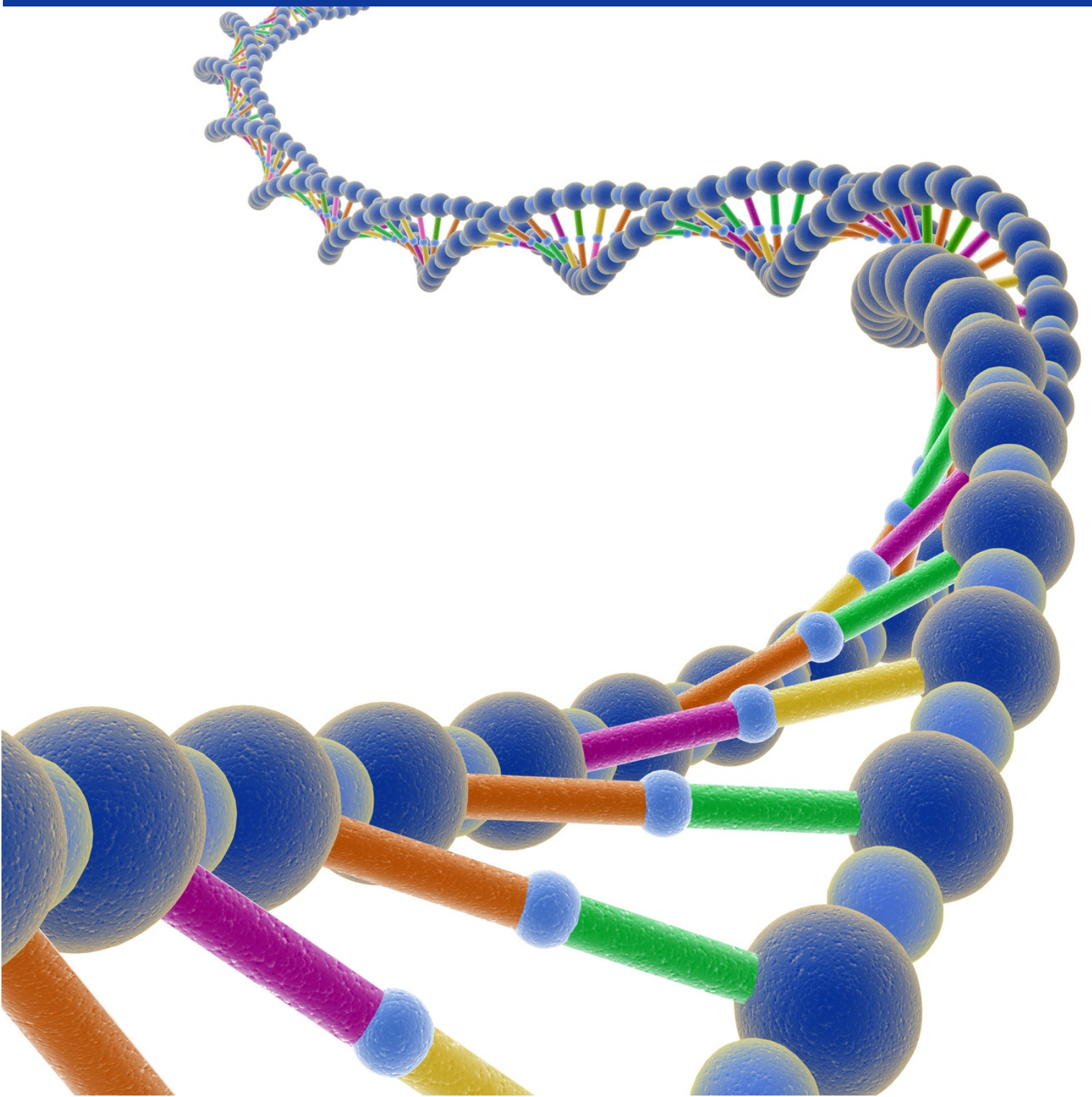
Otras enfermedades relacionadas con el sistema inmune han sido relacionadas con los individuos que portan los diferentes polimorfismos del gen del VDR. El padecimiento de lupus eritematoso

sistémico estableció una asociación directa con el polimorfismo *BsmI*, resultando la presencia del alelo *B* relacionada con el aumento de incidencia de dicha enfermedad (C. M. Huang, Wu, Wu, & Tsai, 2002; Ozaki et al., 2000).

El factor protector de la presencia del alelo *A* del polimorfismo *Apal*, también ha sido asociado a la psoriasis, aumentando dicha protección frente al padecimiento de la enfermedad en combinación con el alelo *F* del polimorfismo *FokI* (Halsall, et al., 2005).

El padecimiento de otras enfermedades tales como tuberculosis (Bellamy et al., 1999; Selvaraj, Narayanan, & Reetha, 2000; Wilkinson et al., 2000), o enfermedad de Crohn (Simmons, Mullighan, Welsh, & Jewell, 2000) también han sido asociadas a estos polimorfismos del gen del VDR, aunque dichas asociaciones presentaban mayor presencia de factores de confusión resultando sus efectos controvertidos.

HUESO Y REMODELAMIENTO ÓSEO



4.1. Hueso y remodelamiento óseo

El esqueleto mantiene la estructura física de los vertebrados sirviendo como soporte y lugar de inserción muscular, así como contribuye a la protección de órganos vitales y médula ósea; por otra parte, participa en la regulación homeostática iónica esencial para la vida, especialmente en la reserva de iones tales como el calcio y el fósforo. Así mismo, el hueso es un tejido conectivo formado por una matriz extracelular mineralizada y células: osteocitos, osteoblastos y osteoclastos. Desde el punto de vista anatómico, el hueso se clasifica en compacto (localizado en la parte cortical de los huesos largos) y esponjoso, trabecular o plexiforme (localizado en la parte interna del hueso en el límite de la médula ósea) (Cundy & Reid, 1995).

El hueso cortical o compacto está compuesto por una serie de unidades de láminas óseas dispuestas concéntricamente entre sí en número de 8 a 15, suponiendo casi cuatro veces el volumen del hueso trabecular, distribuyéndose principalmente en la zona diafisaria de los huesos largos. El hueso esponjoso o trabecular está compuesto por un sistema de trabéculas, formando una red tridimensional orientada en función de las cargas que reciben, orientándose las fibras colágenas de éstas en función de dichas fuerzas, estando paralelas en cada capa y cambiando de orientación de una capa a otra. Las cavidades formadas por la red trabecular es el asiento de la médula ósea. El hueso esponjoso resulta ser el más activo metabólicamente, caracterizándose por una gran capacidad de remodelado óseo.

El **componente orgánico** más abundante de la matriz ósea es el colágeno tipo I, el cual supone un 90-98% del mismo, quedando el 2-10% restante integrado por proteínas no estructurales secretadas por los osteoblastos como son la osteocalcina (marcador bioquímico de la actividad osteoblástica), los factores de crecimiento y las sialoproteínas. Algunos de estos factores de crecimiento son las proteínas morfogenéticas óseas (BMP), el factor β de transformación de crecimiento, el factor de crecimiento plaquetario, el factor de crecimiento fibroblástico, y el factor de crecimiento insulínico (IGF-1). Por otro lado, el **componente inorgánico** fundamental de la matriz extracelular son los cristales de hidroxiapatita $[3Ca_3(PO_4)_2(OH)_2]$, formados principalmente por calcio y fosfato, cuya unión a las fibras colágenas confiere al hueso las características principales de rigidez, flexibilidad y resistencia. La unión entre el colágeno y la hidroxiapatita es la responsable de las propiedades mecánicas óseas. Los cristales minerales del hueso corresponden al 99% del calcio del organismo, al 85% del fósforo y el 40-50% del sodio (R. Baron, 2003; Comín et al., 1999).

4.1.1. Matriz orgánica

La sustancia osteoide o matriz orgánica está formada por las diferentes proteínas que se presentan a continuación, representando 1/3 del peso óseo (Fernandez-Tresguerres-Hernandez-Gil, Alobera-Gracia, del-Canto-Pingarron, & Blanco-Jerez, 2006a):

- Colágeno (Tipo I, Tipo II, Tipo V y Tipo XII): este representa un 90% del total de proteínas formadoras de la matriz orgánica.

- Proteoglicanos (Condroitín sulfato, Decorina, Biglicano y Hialuronano).
- Glicoproteínas (Osteonectina, Fosfatasa Alcalina, etc.).
- Proteínas Plasmáticas (Albúmina, α -2-SH-glicoproteína).
- Factores de crecimiento (IGF I, TGF- β y Platelet growth factor).

Actualmente debe considerarse a la matriz mineralizada extracelular como algo más que un reservorio de calcio y fósforo, ya que constituye la reserva de proteínas que participan en la regulación de la diferenciación celular, así como en la integridad y función del tejido óseo (Young, 2003).

4.1.2. Células Óseas

Los dos tipos celulares más importantes son los osteoclastos y los osteoblastos, constituyendo el componente celular del hueso, siendo los responsables del remodelado óseo. Ambos derivan de estirpes celulares diferentes, mientras que los osteoblastos proceden de un precursor mesenquimal pluripotencial de la médula (Masi & Brandi, 2001), los osteoclastos derivan de un precursor del compartimento hematopoyético denominado unidad formadora de colonias de granulocitos-macrófagos (CFU-GM), no pudiendo desarrollarse en ausencia de las células del mesénquima. Así, existe una estrecha relación entre este tipo de células justificando un estrecho acoplamiento entre la resorción y la formación,

de manera que en condiciones normales la masa ósea se mantiene estable (Parfitt, Mundy, Roodman, Hughes, & Boyce, 1996).

Los **osteoblastos** son células voluminosas con gran núcleo, formadoras de hueso, responsables de la producción de la matriz ósea mediante la producción de osteoide, sustancia esta última que a su vez sufre el proceso de mineralización. Tal y como se ha dicho anteriormente, los osteoblastos derivan de células mesenquimales precursoras llamadas preosteoblastos, presentes en la superficie perióstica y endóstica de los huesos largos, así como de células fibroblásticas del sistema reticuloendotelial. También pueden diferenciarse a osteoblastos, los pericitos o células murales de los vasos sanguíneos (Parfitt, 2000). Se consideran células con diferenciación terminal, ya que son incapaces de dividirse aunque conservan en parte la capacidad de proliferar en respuesta a diferentes señales moleculares y a la activación de diferentes genes (Harada & Rodan, 2003), dando origen a cinco estirpes celulares distintas: osteoblastos, fibroblastos, condroblastos, adipocitos y mioblastos (Friedenstein, 1976). Es sabido que la diferenciación hacia la estirpe osteoblástica está controlada por genes pertenecientes a la familia Hedgehog (J.E. Aubin & Liu, 1996; A. Yamaguchi, Komori, & Suda, 2000), siendo esencial el factor de transcripción Cbfa1 (*core-binding factor α -1*, también conocido por Runx2) (Ducy, Zhang, Geoffroy, Ridall, & Karsenty, 1997; Hoshi, Komori, & Ozawa, 1999; Komori et al., 1997) y las proteínas morfogenéticas óseas (A. Yamaguchi, et al., 2000). El protoplasma es basófilo, con un aparato de Golgi bastante desarrollado y con numerosas mitocondrias, lo que le permite sintetizar la fracción orgánica de la matriz ósea (fibras de colágeno tipo I, proteínas no colágenas y factores de

crecimiento). La membrana plasmática es rica en fosfatasas alcalinas¹³ y tiene receptores para prostaglandinas (Klein-Nulend et al., 1995) y PTH, así como expresión de receptores esteroideos para la vitamina D y estrógenos junto con varias moléculas de adhesión (integrinas¹⁴) y receptores para las citoquinas del sistema RANK-RANKL-Osteoprotegerina (Civitelli et al., 1993; Mundy, Chen, & Oyajobi, 2003). A pesar de ello, la membrana plasmática del osteoblasto carece de receptores para la calcitonina. Estas células también participan en la primera fase de la resorción ósea, ya que poseen receptores de superficie para factores endocrinos y paracrinicos inductores de colagenasa, dejando expuesta la matriz ósea mineralizada, liberando factores que atraen a los osteoclastos. En la fase final de la formación ósea, los osteoblastos se pueden convertir en osteocitos o células de revestimiento (Mackie, 2003).

Los osteoblastos se transforman en **osteocitos** al quedar atrapados en la matriz mineralizada que han formado éstos tras la mineralización de la sustancia osteoide en las lagunas osteocíticas, pudiendo quedar éstas parcialmente vacías en algunos estados como la osteonecrosis y en el tejido óseo osteoporótico (R. Baron, 2003). De la misma manera, los osteocitos, mantienen el contacto entre sí a través de numerosos canículos conocidos como conductos calcóforos, llenos de fluido óseo extracelular. La forma del osteocito es variable, dependiendo

¹³ Las concentraciones séricas de fosfatasas alcalinas son signo indirecto de formación ósea.

¹⁴ Algunos estudios destacan la importancia de las integrinas en el proceso de osteogénesis (Marie, 2002), en la transmisión de estímulos mecánicos entre osteoblastos y osteocitos, así como en la regulación de la apoptosis (Plotkin, Manolagas, & Bellido, 2002).

de su localización y del tipo de hueso ya sea este maduro o inmaduro. Los osteocitos disminuyen de volumen (alrededor de un 30%) y aumentan su profundidad cuanto más maduro es el hueso, resultado de la disminución de organelos para la síntesis de proteínas. Cada osteocito emite unos 50 procesos o anastomosis celulares, lo que le permite una participación activa en señales mecanosensitivas¹⁵ así como en el intercambio con su microambiente (Aarden, Burger, & Nijweide, 1994). Se cree que la función principal del osteocito es controlar el remodelado óseo, detectando las variaciones mecánicas de las cargas (mecanotransducción) (Lanyon, 1993).

Las **células de revestimiento** corresponden a osteoblastos que han concluido la síntesis de la matriz ósea, presentando forma aplanada con escasos organelos. En el adulto pueden cubrir hasta el 80% de las superficies trabeculares y endocorticales, estando separadas del límite mineralizado óseo por una capa fina de tejido conectivo. Por efecto de diversos estímulos, las células de revestimiento dejan libre la superficie ósea, permitiendo la llegada de osteoclastos. Estas células habitualmente no presentan actividad mitótica, pero pueden transformarse de nuevo en osteoblastos al ser estimuladas (Bignon et al., 2003; Chouteau et al., 2003).

¹⁵ Se han considerado a los osteocitos como sensores del estrés mecánico en el remodelamiento óseo.

Los **osteoclastos** constituyen las células responsables de la resorción ósea. Como se ha comentado anteriormente, derivan de precursores hematopoyéticos que dan lugar a monocitos y macrófagos. Son células gigantes (100 μm) con complejos aparatos de Golgi alrededor de cada núcleo, redondeadas y multinucleadas (pudiendo contener entre 6 y 50 núcleos) con un protoplasma rico en fosfatasas ácidas tartrato resistente (FATR). Están situadas en contacto con el hueso calcificado en cavidades formadas como resultado de la resorción ósea llamadas lagunas de Howship, dispuestas de manera aislada o en grupos poco numerosos. Presentan una estructura de la membrana plasmática típica, con borde rizado o en cepillo altamente móvil¹⁶. La unión de la célula a la matriz ósea se realiza a través de receptores de integrinas que precisan de activación por diversas moléculas señal para facilitar la adhesión y motilidad celular. La membrana del osteoclasto crea un pH ácido mediante la producción de hidrogeniones que solubiliza los minerales óseos, segregando una proteasa ácida que extrae los componentes orgánicos de la matriz por proteólisis ácida (Mundy, 1993). Así mismo, la PTH promueve la resorción mineral ósea estimulando a los osteoclastos a secretar ácido al micro ambiente (Bushinsky, 1995). La comunicación entre los osteoclastos y las demás células óseas es realizada de forma indirecta mediante intermediadores químicos, factores de unión de la matriz y factores paracrinós (Pierce, Lindskog, & Hammarstrom, 1991). En el remodelamiento óseo del hueso cortical, los osteoclastos parten de los canales de Havers o de Volkman excavando túneles cilíndricos

¹⁶ Esta estructura en borde rizado o en cepillo se considera la responsable de la erosión y destrucción del hueso.

correspondientes a unidades estructurales ósea corticales llamadas osteonas. Sin embargo, la participación de los osteoclastos en el remodelado óseo del hueso esponjoso es diferente, ya que éstos labran excavaciones poco profundas y de base ancha en la superficie de las trabéculas teniendo como resultado formaciones convexas.

4.1.3. Remodelamiento Óseo

El hueso constituye un tejido metabólicamente activo en continuo proceso de remodelado, el cual supone la renovación del 3-4% del hueso cortical y entre el 25-30% del hueso trabecular en un año, lo que supone la renovación total del esqueleto al cabo de 10 años (Davies & Hosseini, 2000). Este proceso se realiza mediante la acción sucesiva, o acoplamiento, de osteoblastos y osteoclastos sobre una misma superficie ósea. Al conjunto de osteoblastos y osteoclastos que de forma coordinada intervienen durante un ciclo de remodelado se denominan *unidades multicelulares básicas*; así mismo, estas unidades también están integradas por un aporte vascular, nervioso y de tejido conjuntivo adecuado para el recambio óseo (Jilka, 2003). Se calcula que la vida media de estas *unidades multicelulares básicas* se sitúa entre seis y nueve meses, pudiendo permanecer activas en un determinado momento hasta 2 millones de dichas unidades. Las unidades de remodelado óseo renuevan al cabo de un año un 3-4% del hueso cortical y un 25-30% del hueso trabecular. En determinadas situaciones, un elevado recambio óseo implica una resorción elevada excediendo los límites de la formación ósea, disminuyendo la masa ósea y contribuyendo al adelgazamiento de la

arquitectura trabecular aumentando la porosidad cortical y alterando la composición material del mismo (Seeman, 2003).

Se conoce como **recambio óseo**, al volumen total de hueso que es renovado por unidad de tiempo, siendo directamente proporcional al número de *unidades multicelulares básicas* activas. Así mismo, la diferencia resultante entre el volumen de hueso formado y el volumen de hueso reabsorbido por unidad de tiempo se denomina **balance óseo**¹⁷. Este proceso se rige por la conocida "*Ley de Wolff*", realizándose siempre de forma que la estructura ósea recién formada se adapte mejor a los estímulos mecánicos que actúan sobre el hueso, contribuyendo como mecanismo reparador en caso de fracturas (Tobin, 1968). La resistencia del hueso al estrés es moderada, por lo que acumula daño constantemente durante la actividad normal, hecho que conlleva a una remodelación ósea permanente para mantener la integridad estructural esquelética (Manolagas, Kousteni, & Jilka, 2002; Serrano & Mariñoso, 1990).

El pico de masa ósea máxima se alcanza a los 30 años de edad, dependiendo de factores genéticos y ambientales. Desde los 30 a los 40 años, el balance óseo en condiciones normales permanece invariante siendo igual a cero (Parfitt, et al., 1996; Serrano & Mariñoso, 1990); a

¹⁷ El balance óseo corresponde a la suma del hueso ganado o perdido en cada ciclo de remodelamiento óseo. Por tanto, si la resorción y la formación óseas son similares, dicho balance es igual a cero, permaneciendo invariable en el tiempo el volumen total o masa ósea.

partir de los 40 años la masa ósea disminuye progresivamente instaurándose un balance negativo.

Por tanto, aunque la principal función del remodelamiento óseo es el mantenimiento de las características mecánicas del hueso a través de la restitución de zonas dañadas, también es responsable de la organización espacial del hueso a la carga mecánica experimentada en cada momento, contribuyendo a la homeostasis mineral, especialmente al balance fosfocálcico.

4.2. Fases del remodelamiento óseo

En el ciclo de renovación ósea se distinguen cinco fases (Figura 10): quiescencia, resorción, inversión, formación y quiescencia, completándose este proceso entre 3 a 5 meses (Compston, 2001; Eriksen, 1986).

En la **fase quiescente**, el hueso se encuentra en condiciones de reposo. Los factores por los cuales se inicia el proceso de remodelado aún no son conocidos.

La **fase de activación** comienza con el reclutamiento de precursores mononucleares de la serie promonocítica presentes en la médula y en la sangre circulante (Figura 9). Durante el proceso de osteoclastogénesis, los

precursores de la serie monocito-macrófago se diferencian a osteoclastos en la superficie ósea o cerca de ésta por acción de dos factores hematopoyéticos (RANKL y el factor de estimulación de colonias CSF-1) que inducen la expresión de los genes propios de la estirpe osteoclástica: catepsina K, FTR, y $\beta 3$ integrina (Boyle, Simonet, & Lacey, 2003; Goto, Yamaza, & Tanaka, 2003). En respuesta a la activación de RANK por su ligando específico, el osteoclasto se polariza, sufriendo una serie de cambios de estructura que le preparan para el proceso de resorción (Munoz-Torres, de la Higuera Lopez-Frias, & Fernandez Garcia, 2004). Los osteoclastos diferenciados liberan distintas enzimas proteolíticas junto con hidrogeniones, favoreciendo un pH ácido y contribuyendo a la desmineralización de la matriz y posterior degradación por las enzimas proteolíticas. Al quedar expuesta la superficie mineralizada, se produce la atracción de los osteoclastos circulantes procedentes de la circulación sanguínea próxima. Los productos de la degradación son procesados en el interior del osteoclasto y liberados a la circulación.

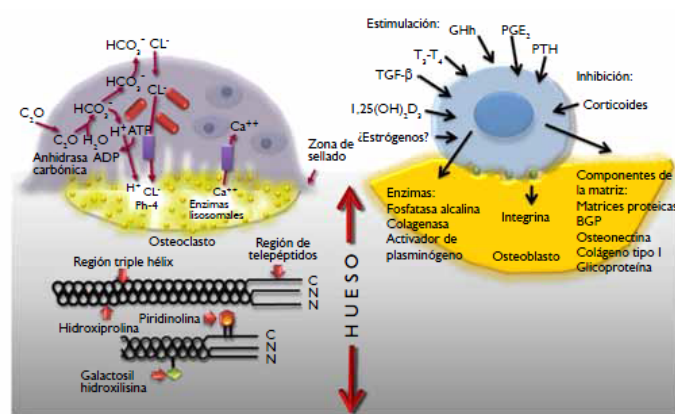


Figura 9: Matriz ósea degradada por la activación osteoclástica.
Tomado de Barba Evia (Barba Evia, 2011)

En la **fase de resorción**, los osteoclastos comienzan a disolver la matriz mineral junto con la descomposición de la matriz osteoide. Los macrófagos concluyen este proceso, permitiendo la liberación de los factores de crecimiento contenidos en la matriz, fundamentalmente de PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas), TGF- β (factor transformante del crecimiento β), IGF-I y II (factores análogos a la insulina I y II). La fase de resorción finaliza con la apoptosis osteoclástica.

En la **fase de formación**, en las zonas reabsorbidas se produce el fenómeno de agrupamiento proteoblástico, debida a la atracción provocada por los factores de crecimiento que se liberaron en la matriz, los cuales actúan como quimiotácticos (TGF- β , colágeno tipo I, PDGF, IGF-I e IGF-II) estimulando su proliferación (Dallas, Rosser, Mundy, & Bonewald, 2002; Lind et al., 1995). Las células mesenquimales pluripotenciales precursoras de osteoblastos se diferencian y proliferan a través de la activación de los diferentes genes comentados anteriormente (Kawaguchi, Mee, & Smith, 2005). Los proteoblastos sintetizan una sustancia cementante sobre la que se va a adherir el nuevo tejido. Tras completar este período, la mitad de los osteoblastos mueren sufriendo un proceso de apoptosis, mientras que la otra mitad se transforman en células de superficie (*lining cells*) encargadas de cubrir el hueso recién formado a través de la producción de factores locales (Interleucina-6, Interleucina-11) (Elias, Tang, & Horowitz, 1995; Manolagas & Jilka, 1995), quedando enterradas en ocasiones en el tejido óseo, transformándose posteriormente en osteocitos. Los procesos de apoptosis que afectan a las células óseas regulando su vida media, son considerados un importante determinante de la masa y resistencia ósea (Xing & Boyce, 2005).

La **fase de mineralización** comienza a los 30 días del depósito de osteoide, finalizando a los 130 días en el hueso cortical y los 90 días en el hueso trabecular. A continuación comienza nuevamente la fase de reposo o quiescente (Fernandez-Tresguerres Hernandez, 2006).

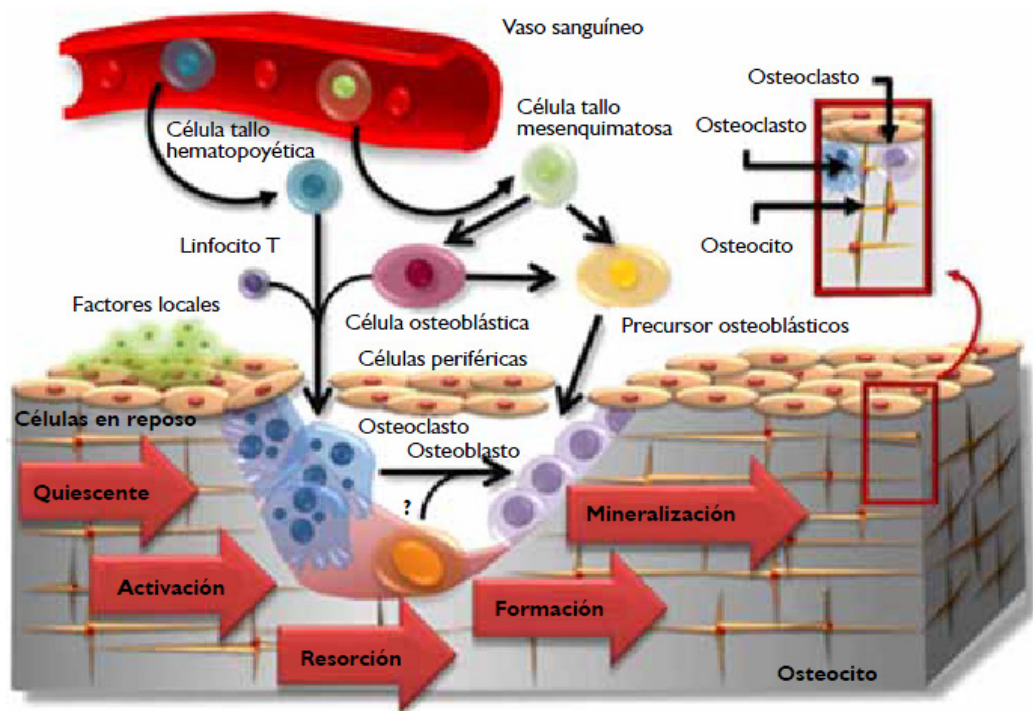


Figura 10: Fases del remodelamiento óseo en la superficie del hueso trabecular. Tomado de Barba Evia (Barba Evia, 2011)

4.3. Regulación del remodelamiento óseo

En la regulación del remodelado óseo intervienen un conjunto de interacciones entre hormonas sexuales, PTH, hormonas tiroideas, hormonas del crecimiento, glucocorticoides y $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. El control local del remodelado óseo se lleva a cabo a través de diversos factores de crecimiento producidos por las células óseas y medulares adyacentes (células hematopoyéticas, macrófagos y linfocitos). Así, el balance entre la resorción y la formación ósea está influido por una serie de factores relacionados entre sí, los cuales pueden clasificarse en: genéticos, mecánicos, vasculares, nutricionales, hormonales y locales.

Los **factores genéticos** son determinantes en el pico de masa ósea, ya que entre el 60 y 80% de ésta se encuentra determinada genéticamente (Grant & Ralston, 1997), resultando estos factores una gran contribución sobre la DMO en todos los lugares del esqueleto (Pocock, et al., 1987). Aparte de los efectos de los polimorfismos del gen del VDR sobre la DMO (mencionados en los apartados 2.2.1, 3.5, 3.6, 4.5, y VI; en las páginas 51, 75, 81, 113 y 143, respectivamente), resulta importante mencionar que ratones con alteraciones en los oncogenes c-src y c-fos desarrollan osteoporosis, por lo que estos genes también parecen implicados en los mecanismos de control de la resorción (Z. Q. Wang et al., 1992). También se han encontrado otros mecanismos relacionados con mutaciones genéticas en los receptores de estrógenos ER α y Er β (Khosla et al., 2004), diferencias en la transcripción del RANK (Suda et al., 1999), y polimorfismos del gen de la OPG asociados con diferentes fracturas por osteoporosis (Langdahl, Carstens, Stenkjaer, & Eriksen, 2002). Estudios

realizados en gemelos, señalan que la predisposición genética puede afectar en una menor DMO de las hijas de mujeres con osteoporosis (Seeman, et al., 1989), y en hombres y mujeres con parientes de primer grado que tienen osteoporosis (Soroko, Barrett-Connor, Edelstein, & Kritz-Silverstein, 1994). Algunos autores consideran que el pleno potencial genético de la DMO se consigue cuando el esqueleto no ha sido limitado por los factores nutricionales y/o mecánicos.

Los **factores mecánicos** pueden contribuir al correcto desarrollo del hueso; se estipula que la acción muscular transmite al hueso una tensión que es detectada por la red de osteocitos del interior del fluido óseo, produciendo mediadores como IGF-I, prostaglandinas y óxido nítrico, estimulando la actividad de los mismos y la de los osteoblastos, teniendo como resultado una mayor formación ósea (Henderson, White, & Eisman, 1998; Klein-Nulend, Roelofsen, Sterck, Semeins, & Burger, 1995). De forma contraria, la falta de actividad muscular, el reposo o la ingravidez tendrían un efecto deletéreo sobre el hueso, acelerando su resorción (Morey & Baylink, 1978). Este hecho fue corroborado por Zanker et al. (Zanker et al., 2003; Zanker, Osborne, Cooke, Oldroyd, & Truscott, 2004) tras analizar el incremento de la DMO en niñas que practicaban gimnasia frente a las que no lo hacían, tanto en la niñez como en la adolescencia, observándose ese incremento mayor en la cadera y en la columna vertebral (MacKelvie, Khan, Petit, Janssen, & McKay, 2003). El crecimiento en grosor y DMO del estudio anterior relacionado con el ejercicio posee un mayor efecto diferencial cuando se inicia antes de la pubertad y se acompaña de una adecuada ingesta de calcio y calorías (Borer, 2005). Se ha sugerido que la disminución de masa muscular que acompaña al envejecimiento podría estar implicada en la patogenia de la osteoporosis

involutiva (Frost, 1997), resultando el ejercicio un factor protector para dicho efecto. Así, en mujeres de 66 a 87 años que participaron en un programa combinado de 50 minutos, dos días por semana, sin saltos pero con cargas, aeróbico y ejercicios de equilibrio y coordinación, se observó una reducción de los factores de riesgo, así como una mejora de la DMO en la cabeza del fémur (Bonaiuti et al., 2002).

La **vascularización** constituye un papel fundamental para el normal desarrollo óseo, permitiendo el aporte de oxígeno, células sanguíneas, minerales, iones, glucosa, hormonas y factores de crecimiento. Constituye el primer paso para la osificación, ya que la existencia de oxígeno es fundamental para se produzca la *restitutio ad integrum* en la reparación de fracturas (Ham, 1952).

La **inervación nerviosa** resulta esencial para la correcta fisiología ósea. El hueso es inervado por el sistema nervioso autónomo y por fibras nerviosas sensoriales. Se han hallado fibras autónomas en periostio, endostio, hueso cortical y asociadas a los vasos sanguíneos de los conductos de Volkmann, así como neuropéptidos y sus receptores en el hueso. La estimulación nerviosa ejerce un efecto mitogénico sobre los osteoblastos, aumentando la producción colágena y TGF- β (Zhuang et al., 1997).

Los **factores nutricionales**, así como los hábitos tóxicos (tabaco, cafeína, alcohol, exceso de sal) constituyen factores de riesgo para la aparición de osteopenia, siendo estos modificables. Diferentes estudios han demostrado

la importancia del calcio en la alimentación, para la evolución hacia niveles adecuados de la masa ósea en niños y adolescentes (Lau, Lynn, Chan, Lau, & Woo, 2004). En la misma línea, numerosos estudios en mujeres postmenopáusicas y ancianas muestran que los suplementos de calcio o leche demora la tasa de pérdida ósea (Chee, Suriah, Chan, Zaitun, & Chan, 2003; Lau, Lynn, Chan, & Woo, 2002); sin embargo, según defienden algunos autores, el rol del calcio para prevenir la pérdida de DMO no está claro. A pesar de ello, existen autores que defienden que la masa ósea está limitada por la dieta, pero no controlada por la misma, ya que existen factores poligénicos que pueden afectar sobre ésta (Heaney, 2000). El requerimiento mínimo diario necesario de calcio para la mineralización es de 1.200 mg diarios hasta los 25 años de la vida, no menor a un gramo hasta los 45 años y a partir de la menopausia su consumo debe ser de 1.500 mg (Fernandez-Tresguerres-Hernandez-Gil, Alobera-Gracia, del-Canto-Pingarron, & Blanco-Jerez, 2006b) (Tabla 1). Por otra parte, la vitamina D juega un papel clave para la absorción del calcio, estando recomendada una dosis diaria de 400-800 UI¹⁸ (Rico, et al., 2002). Se considera que las concentraciones séricas de vitamina D deben mantenerse en cifras del orden de 30-40 ng/ml (Dawson-Hughes et al., 2005).

¹⁸ El metabolito activo de la vitamina D tiene una vida media de 4 horas, resultando mayor su coste, por lo que se puede administrar 25-hidroxivitamina D, de mayor vida media y más económica.

Tabla 1: Valores de referencia de la ingesta diaria de calcio revisadas en España.

VALORES DE REFERENCIA DE LA INGESTA DIARIA DE CALCIO		
Grupos de Edad		mg/día
	0 a 6 meses	250
	6-12 meses	300
	1 a 3 años	500
	4 a 6 años	800
	7 a 8 años	800
	9 años	800
	10 años	1300
	11 a 18 años	Hombres 1300
		Mujeres 1300
	19 a 50 años	Hombres 1000
		Mujeres 1200
	51 a 70 años	Hombres 1200
		Mujeres 1200
	Embarazadas	1400
	Lactancia	1500

Adaptado de Rodríguez-Rodríguez (Rodríguez-Rodríguez, Navia Lomban, Lopez-Sobaler, & Ortega Anta, 2010)

El correcto desarrollo del **sistema endocrino** condiciona el desarrollo normal del esqueleto. Este sistema está fundamentalmente regulado por las hormonas calciotropas (PTH, calcitonina y metabolitos de la vitamina D) junto con la hormona somatotropa (GH) las cuales actúan de mensajeros sistémicos a distancia de su lugar de producción (efecto endocrino) y regulando la acción y síntesis de los factores locales intervinientes en el metabolismo celular (efectos autocrinos y paracrinos). Además de las hormonas calciotropas, las hormonas sexuales y tiroideas desempeñan un papel muy importante en la homeostasis esquelética. El déficit estrogénico que sigue a la menopausia es el responsable de la mayoría de los casos de osteoporosis. Tanto los osteoblastos como los osteoclastos expresan receptores para los estrógenos (Turner, Riggs, & Spelsberg, 1994). Los estrógenos también modulan la secreción de citosinas estimuladoras de la resorción ósea por los osteoblastos (IL-1, IL-6 o el TNF) y las

células del estroma (Abrahamsen, Bonnevie-Nielsen, Ebbesen, Gram, & Beck-Nielsen, 2000; Pacifici, 1998; Scheidt-Nave et al., 2001); sin embargo su implicación real en la osteoporosis asociada a la deficiencia gonadal tras la menopausia se encuentra en controversia (Pacifici, 1998; Riancho, Zarrabeitia, Amado, Olmos, & Gonzalez-Macias, 1994; Zarrabeitia, Riancho, Amado, Napal, & Gonzalez-Macias, 1991). Así mismo, los estrógenos pueden modular el remodelado óseo a través de mecanismos indirectos, mediados en el calcitriol o la PTH (Prince, 1994; Riggs, Khosla, & Melton, 1998). Por otro lado, las hormonas tiroideas aumentan la frecuencia de activación de las unidades de remodelado óseo, acelerando la velocidad de recambio (Mosekilde, Eriksen, & Charles, 1990). A nivel celular es bien sabido que las hormonas tiroideas favorecen la osteoclastogénesis, ejerciendo influencias sobre los osteoblastos (Schiller et al., 1998).

Entre los **factores locales** de remodelado óseo destacan los factores de crecimiento, las citoquinas y las proteínas de la matriz ósea junto con la producción de prostaglandinas, óxido nítrico mediadas por las células del hueso (Tabla 2).

Tabla 2: Factores locales reguladores del remodelado óseo.

FACTORES LOCALES REGULADORES DEL REMODELADO ÓSEO		
	Factores de crecimiento	Citoquinas
Estimulación de formación ósea	BMP-2 (Proteína morfogenética ósea-2) BMP-4 (Proteína morfogenética ósea-4) BMP-6 (Proteína morfogenética ósea-6) IGF-I (Factor análogo a la insulina I) IGF-II (Factor análogo a la insulina II) TGF- β (Factor transformante del crecimiento β) FGF (Factor de crecimiento fibroblástico) PDGF (Factor de crecimiento derivado de las plaquetas) VEGF (Factor de crecimiento vascular endotelial)	
Estimulación de resorción ósea	TNF (Factor de necrosis tumoral) EGF (Factor de crecimiento epidérmico) PDGF (Factor de crecimiento derivado de las plaquetas) FGF (Factor de crecimiento fibroblástico) M-CSF (Factor estimulante de colonias de macrófagos) GM-CSF (Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos)	IL-1 (Interleuquina-1) IL-6 (Interleuquina-6) IL-8 (Interleuquina-8) IL-11 (Interleuquina-11) PGE ₁ (Prostaglandina E-1) PGE ₂ (Prostaglandina E-2) PGG ₂ (Prostaglandina G-2) PGI ₂ (Prostaglandina I-2) PGH ₂ (Prostaglandina H-2)
Inhibición de resorción ósea		IFN- γ (Interferón γ) IL-4 (Interleuquina-4)

Adaptado de Compston y Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil (Compston, 2001; Fernandez-Tresguerres-Hernandez-Gil, et al., 2006b)

El **sistema RANK** (*Receptor for Activation of Nuclear Factor κ B*) es un receptor de osteoclastos, al que se une el **RANKL** (ligando del RANK), sintetizado en las células de la estirpe osteoblástica y del estroma medular. Esta unión entre el RANK y su ligando favorece la proliferación y la actividad osteoclástica disminuyendo, al mismo tiempo, su apoptosis. La **osteoprotegerina (OPG)** es una sustancia secretada por los osteoblastos, capaz de unirse al RANKL, impidiendo su fusión al RANK. La relación entre RANKL y OPG determinan la resorción ósea (J. E. Aubin & Bonnellye, 2000). El descubrimiento del sistema OPG-RANKL-RANK aporta muchísima luz no solo al conocimiento de la fisiopatología ósea, sino al estudio de nuevas herramientas terapéuticas en la lucha frente a las enfermedades óseas (Estrada, et al., 2012; Hussien et al., 2013).

4.4. Evolución de la Densidad Mineral ósea

Durante el crecimiento, el balance de la actividad celular favorece la formación ósea, conociéndose el pico de masa ósea (PMO) como la máxima cantidad de hueso mineral conseguido durante la infancia y adolescencia, más la consolidación adicional que perdura más allá del alcance de la talla final.

La densidad mineral ósea (DMO) puede definirse como la cantidad de calcio y otros minerales existentes en el tejido óseo expresada en gr/cm^2 . El objetivo fundamental de la medición de la DMO es conocer el riesgo de fractura en un momento dado (Raisz, 2005). En el PMO, la cantidad de destrucción osteoclástica se empareja con la cantidad de formación de hueso. Se ha confirmado mediante estudios longitudinales, que los mayores incrementos en la masa ósea, por unidad de tiempo, se producen en las mujeres entre los 14 y los 17 años (Theintz et al., 1992), ralentizándose en los 16-18 años en las mujeres y a los 17-20 años en los hombres (Krabbe, Christiansen, Rodbro, & Transbol, 1979). En España, el estudio llevado a cabo por Rico et al. (Rico, Revilla, Hernandez, Villa, & Alvarez del Buergo, 1992) a partir de la medición de masa ósea de doble energía de rayos X (DXA) determinó que el PMO total y regional en mujeres se adquiere entre los 15-19 años, mientras que en los varones esto no sucede hasta los 25-29 años. Existen estudios que defienden la existencia de un aumento de DMO vertebral entre los estadios IV y V de Tanner (Gilsanz et al., 1988), mientras que en otros no se ha observado dicho efecto más allá del estadio IV (Theintz, et al., 1992). Aunque la edad límite hasta la cual se podrían producir incrementos de DMO está todavía sometida a debate, incluso se postula que puede no ser un

fenómeno limitado a la infancia y a la pubertad, pudiendo continuar durante la adolescencia y la primera parte de la vida adulta (Gotfredsen, Hadberg, Nilas, & Christiansen, 1987; Matkovic, 1991).

A pesar de lo comentado anteriormente, la edad exacta en la que se llega a conseguir el PMO parece diferir también entre el esqueleto axial y el apendicular; en mujeres, el esqueleto axial parece llegar al PMO máximo en la segunda década de la vida, poco después de la consecución de la madurez sexual (Theintz, et al., 1992). Sin embargo, en el esqueleto apendicular se aprecian grandes diferencias en la edad del PMO oscilando éstas entre los 18-35 años (Recker, et al., 1992).

Aún no se ha estandarizado el método ideal de estudio de las fases en la formación ósea, de ahí la conflictividad de los resultados de los trabajos realizados hasta la fecha. La DMO obtenida por absorciometría de rayos X de doble energía (DXA) está bastante influida por los cambios de tamaño del hueso y del tejido circundante (Carter & Orr, 1992), a pesar del intento de mejora con los métodos de corrección (Jergas, Breitenseher, Gluer, Yu, & Genant, 1995). Sin embargo, la tomografía axial computarizada puede contribuir a eliminar dichas limitaciones (Hangartner & Gilsanz, 1996), encontrándose pendientes la estandarización de otros métodos como la Resonancia Magnética Nuclear y la Ecografía.

La pérdida de DMO resulta progresiva a partir de los 40 años, asociándose a un aumento del recambio óseo paralelo a la edad (Smith, Nance,

Kang, Christian, & Johnston, 1973). En las mujeres, este hecho es más rápido y marcado en los 2-3 años posteriores a la menopausia existiendo una pérdida anual entre 3-5% de la DMO total (Recker, 2002).

Algunos de los factores de riesgo habitualmente relacionados con la pérdida de DMO y la ocurrencia de fracturas en la osteoporosis son la edad, la pérdida de función gonadal, el PMO alcanzado alrededor de los 20 años de edad, el tiempo de lactancia, el índice de masa corporal (IMC), el hueso perdido en la menopausia, el número de hijos y el tabaquismo. Tanto el estilo de vida como la dieta y la actividad física también han sido tomados en cuenta como factores que pueden afectar a la DMO (Lopez-Caudana et al., 2004). Así mismo, el carácter poligénico de la pérdida de masa ósea constituye un factor de riesgo muy importante tanto en la prevención como en el tratamiento de la osteoporosis.

4.5. Genética y Densidad Mineral Ósea

Han sido numerosos los abordajes realizados con el fin de conocer las variantes alélicas de genes responsables asociados a la DMO baja u otros fenotipos implicados en la patogénesis de la enfermedad. Los estudios de genes candidatos son los más frecuentes, debido a su facilidad y sensibilidad de detección de pequeños efectos (Tabla 3).

El estudio de los polimorfismos del gen del VDR, mediante el uso de diferentes restrictasas o mediante la medición del tamaño de microsátélites, ha evidenciado una asociación a un bajo nivel de DMO y el aumento de fracturas. No obstante siguen apareciendo en la literatura resultados contradictorios, ya que los resultados de los diferentes metanálisis no pueden ser aplicables a todas las poblaciones.

Estudios epidemiológicos realizados en familias o en mellizos mono y dicigóticos han mostrado un aspecto diferencial de los diferentes factores genéticos sobre la regulación de la DMO y de otros fenotipos relevantes en la patogénesis de fracturas por fragilidad (Ralston, 2003). La existencia de factores ambientales cuyos cambios pueden generar distintos niveles de expresión, pueden traer aparejadas susceptibilidades genéticas particulares que no se detectan inmediatamente, sino que se revelan más tardíamente.

Tabla 3: Principales genes candidatos a la osteoporosis.

GENES CANDIDATOS A LA OSTEOPOROSIS	
	Receptores
Proteínas de matriz ósea	Receptor del Colágeno I α 1 (Grant et al., 1996; Uitterlinden et al., 1998) Receptor de la osteocalcina (Dohi et al., 1998)
Citoquinas y factores de crecimiento	TGF- β (Langdahl, Knudsen, Jensen, Gregersen, & Eriksen, 1997) IGF-I (Miyao et al., 1998) Antagonista del receptor II-1 (II-1RA) (Keen, Woodford-Richens, Lanchbury, & Spector, 1998)
Receptores hormonales	Receptor de estrógenos (Kobayashi et al., 1996) Receptor de la vitamina D (Morrison, et al., 1994) Receptor de la calcitonina (Taboulet et al., 1998)
Otros	PTH (Hosoi et al., 1999) Apo E (Shiraki et al., 1997)

4.5.1. Polimorfismos del gen del receptor de la vitamina D

A partir de los trabajos de Morrison et al. (Morrison, et al., 1994), el cual observó que los polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción del sitio polimórfico *BsmI* del gen del VDR estaban relacionados con la DMO, han sido muchos los trabajos publicados hasta el momento que presentan resultados contradictorios en las diferentes muestras estudiadas. Los estudios han sido publicados tanto en población sana (Morrison, et al., 1994; Uitterlinden et al., 1996; Yamagata et al., 1994), en parejas de gemelos (Hustmyer, Peacock, Hui, Johnston, & Christian, 1994; Morrison, et al., 1994), en mujeres premenopáusicas (Fleet, Harris, Wood, & Dawson-Hughes, 1995; Garnero, Borel, Sornay-Rendu, Arlot, & Delmas, 1996; Houston, Grant, Reid, & Ralston, 1996; Salamone et al., 1996), en mujeres postmenopáusicas (Holick et al., 1977; Houston, et al., 1996; Keen, Major, Lanchbury, & Spector, 1995; Krall, Parry, Lichter, & Dawson-Hughes, 1995; Kroger et al., 1995; Looney et al., 1995), en mujeres de edad avanzada (Ferrari et al., 1995; Gross et al., 1996; Melhus et al., 1994), en mujeres sanas y mujeres con osteoporosis (Riggs et al., 1995) o incluso comparando mujeres de raza blanca y raza negra (Fleet, et al., 1995).

Tal variabilidad de resultados ha permitido la realización de numerosos metanálisis, los cuales tampoco han dejado clara la relación existente entre los polimorfismos comunes del gen del VDR y la DMO. Cooper et al. (Cooper & Umbach, 1996) mediante estudios de

metanálisis no encontraron evidencias que relacionaran el genotipo *BsmI* con la DMO en sujetos ancianos. En la misma línea, y tras el análisis de 75 artículos cuyas muestras eran de mujeres premenopáusicas, Gong et al. (Gong et al., 1999) tampoco encontraron evidencias de dicha asociación, señalando tanto a la heterogeneidad genética como a los factores no genéticos, responsables del enmascaramiento de algunas asociaciones encontradas anteriormente. Sin embargo, contrario a lo anterior, también existen estudios de metanálisis que demuestran una modesta relación existente entre la DMO de columna y cuello lumbar y su relación con el polimorfismo *BsmI*, identificando al genotipo *BB* como candidato a la mayor pérdida ósea con el paso del tiempo (Thakkestian, D'Este, & Attia, 2004; Thakkestian, D'Este, Eisman, Nguyen, & Attia, 2004). Recientemente se han publicado dos metanálisis con datos contradictorios; Qin et al, no encontraron relación entre la DMO o susceptibilidad a la osteoporosis y el polimorfismo *BsmI* tanto en muestras caucásicas como asiáticas en un metanálisis que incluyó 41 artículos (Qin, et al., 2012); sin embargo, Jia et al. (Jia, et al., 2012) en un metanálisis a partir de 26 artículos constataron un factor protector del polimorfismo *BsmI* y la ocurrencia de osteoporosis.

Los estudios que relacionan los polimorfismos del gen del VDR con la ocurrencia de fracturas también siguen siendo conflictivos. El riesgo de fracturas en mujeres premenopáusicas y postmenopáusicas fue asociado al polimorfismo *BsmI*, independiente de la DMO, *turnover* óseo y hormonas endógenas relatado en el estudio OFELY (Garnero, et al., 1996; Garnero, Borel, Sornay-Rendu, & Delmas, 1995; Garnero,

Munoz, Borel, Sornay-Rendu, & Delmas, 2005). Sin embargo, el estudio GENOMOS que involucró a más de 25.000 pacientes y a 9 grupos europeos de investigación, concluyó que los polimorfismos *BsmI*, *Apal*, *TaqI* y *FokI* no están relacionados con el riesgo de fracturas ni con la DMO, destacando al polimorfismo *Cdx2* con el riesgo de fracturas vertebrales (Uitterlinden, et al., 2004; Uitterlinden et al., 2006). Recientemente, un metanálisis ha identificado 56 *loci* asociados a la pérdida de DMO y a la susceptibilidad de fracturas (Estrada, et al., 2012).

Los resultados encontrados en el polimorfismo *Apal* del gen del VDR también son contradictorios. Algunos trabajos encuentran asociación entre dicho polimorfismo y bajos niveles de la DMO en columna lumbar (Y. Li, et al., 2011), o sobre el aumento del riesgo de padecimiento de osteoporosis (Seremak-Mrozikiewicz et al., 2009; Zajickova, Zofkova, Bahbouh, & Krepelova, 2002); mientras que otros no señalan ninguna evidencia de dicha asociación (Douroudis et al., 2003; Langdahl, Gravholt, Brixen, & Eriksen, 2000; Yoldemir, Yavuz, Anik, Verimli, & Erenus, 2011b; Zajickova, et al., 2002).

Como es sabido, otro polimorfismo funcional del VDR se encuentra en el exón 2, reconocido con la restrictasa *FokI*. Dicho polimorfismo alarga la proteína tres aminoácidos, pudiendo afectar a la actividad del VDR. Se han encontrado evidencias que demuestran la asociación entre dicho polimorfismo y la DMO (Falchetti et al., 2007; Zajickova, et al., 2002), existiendo también resultados contradictorios

(Bandres et al., 2005; H.-Y. Chen, Chen, Hsu, Tsai, & Tsai, 2002; Horst-Sikorska et al., 2007).

4.5.2. Polimorfismos de los genes receptores estrogénicos

El receptor de estrógenos tipo alfa (ER α), codificado por el gen ESR1 localizado en el cromosoma 6 también presenta susceptibilidad al riesgo de fractura o a la disminución de la DMO, debido fundamentalmente a los efectos beneficiosos que tienen los estrógenos sobre el desarrollo y mantenimiento de la estructura ósea. En esta línea, han resultado relevantes dos polimorfismos reconocidos por las enzimas de restricción *XbaI* y *PvuII* como candidatos a la pérdida de DMO (Ralston & de Crombrughe, 2006), los cuales poseen fuerte desequilibrio de ligamiento (Gennari et al., 2005). El proyecto GENOMOS mostró que los individuos homocigóticos para el genotipo XX tenían menor riesgo de fracturas, sin existir relación con la DMO (Ioannidis et al., 2004); encontrándose dicha relación en el estudio de Khosla et al (Khosla, et al., 2004).

El metanálisis publicado por Wang et al. (C. L. Wang et al., 2007) a partir de 16 estudios con muestras de mujeres chinas (4.297), sugiere que el polimorfismo *PvuII* estaría relacionado muy débilmente con la pérdida de DMO, no encontrando ninguna asociación con el polimorfismo *XbaI*.

Actualmente se están llevando a cabo estudios de asociación entre el gen del ER β , localizado en el cromosoma 14 y la DMO (Gennari, et al., 2005), sugiriendo que dicho gen estaría implicado en la pérdida de DMO en el antebrazo (Silvestri et al., 2006).

4.5.3. Polimorfismos del colágeno tipo 1

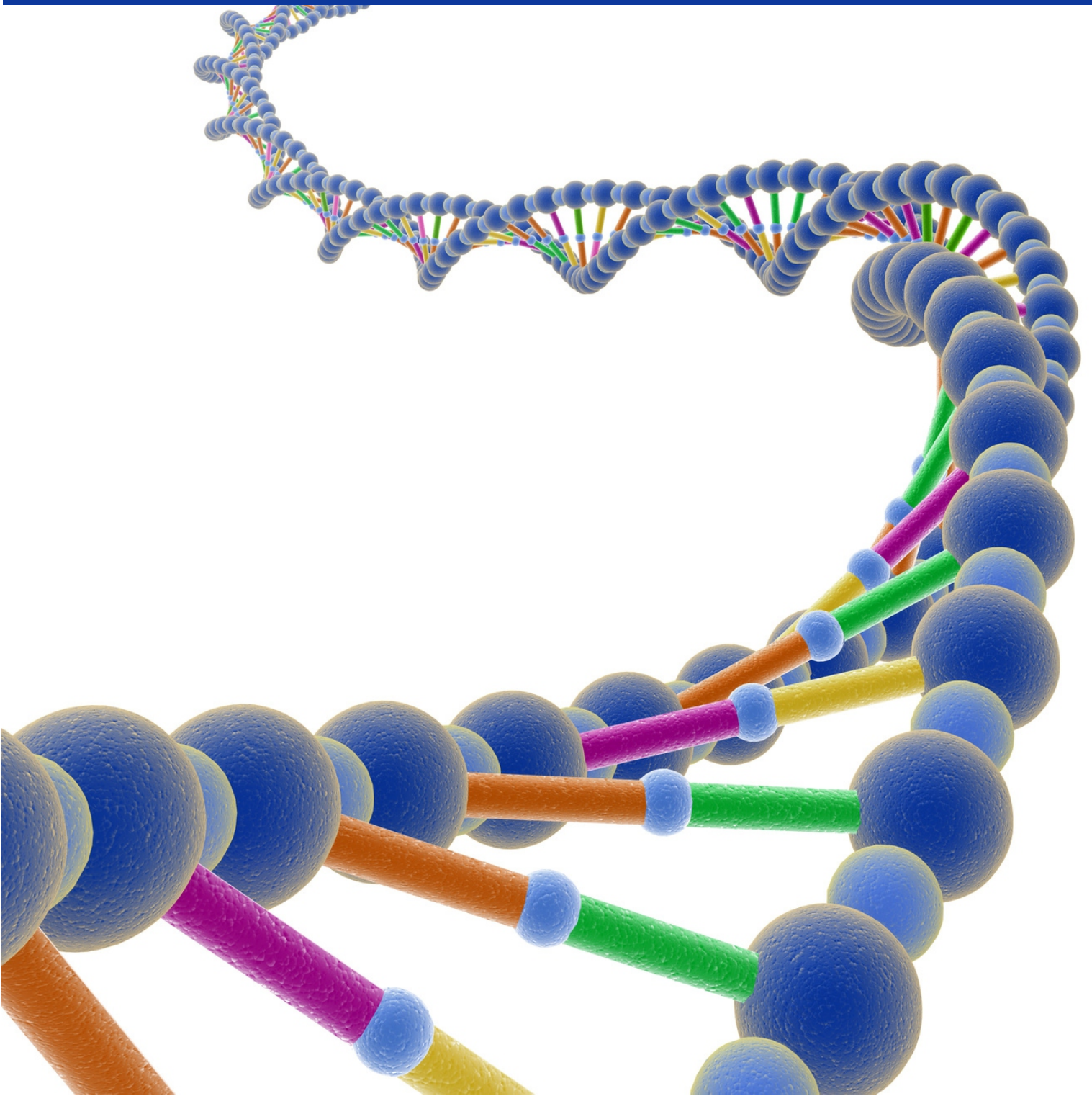
Las mutaciones en los cromosomas 7 y 17 generan alteraciones del tejido conectivo, ya que los genes COLIA1 y COLIA2 codifican la síntesis de las cadenas 1 y 2 del colágeno tipo 1. Patologías como la osteogénesis imperfecta o el síndrome de Ehlers-Danlos están causados por mutaciones en los genes anteriormente citados.

La susceptibilidad a las fracturas osteoporóticas y la disminución de la DMO parecen estar asociados al polimorfismo del sitio de unión del factor de transcripción *Sp1*, consistente en un cambio G/T en el primer intrón del gen del COLIA1 (Grant, et al., 1996). Dicho efecto también fue observado en el polimorfismo *PCOL2* de dicho gen (Liu et al., 2004). El estudio GENOMOS encontró una ligera asociación del polimorfismo *Sp1* y la DMO, así como un aumento del riesgo de fractura osteoporótica independientemente de la DMO (Ralston et al., 2006). Sin embargo, Hubacek et al. (Hubacek, Weichetova, Bohuslavova, Skodova, Adamkova, et al., 2006; Hubacek, Weichetova, Bohuslavova, Skodova, Stepan, et al., 2006) no encontraron diferencias en mujeres pre y postmenopáusicas americanas y europeas.

4.5.4. Polimorfismos del gen del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-I)

Estudios realizados en diferentes sitios polimórficos del gen IGF-I, localizado en el cromosoma 12, también presentan resultados contradictorios respecto a la posible asociación de éste y la DMO. En un estudio realizado en hermanas premenopáusicas, caucásicas y afroamericanas, no se encontró relación entre la DMO de fémur y columna vertebral con este polimorfismo (Takacs et al., 1999). Por el contrario, Rosen et al. (Rosen et al., 1998) demostraron que el genotipo homocigótico *192-192 pb* fue prevalente en una población de hombres caucásicos con osteoporosis idiopática; este efecto también ha sido evidenciado en varios estudios en mujeres caucásicas postmenopáusicas (Lakatos et al., 2004; Rivadeneira et al., 2003).

OSTEOPOROSIS



5.1. Concepto y Generalidades sobre la Osteoporosis

La osteoporosis es la enfermedad metabólica ósea más frecuente, la cual desarrolla uno los mayores problemas de salud pública actualmente en todo el mundo debido a los enormes costes sociales y económicos que genera (Melton, 2000), siendo reconocida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una de los cinco principales problemas mundiales de salud; descrita a su vez como *“la epidemia silenciosa del siglo XXI”* (Fogelman & Ryan, 1991).

Comúnmente, la osteoporosis ha sido definida como una *“enfermedad esquelética sistémica, caracterizada por la disminución de la masa ósea y la alteración de la microarquitectura del tejido óseo, con el consiguiente aumento de la fragilidad del hueso y la susceptibilidad a la fractura”* (Consensus Development Conference on Osteoporosis. Hong Kong, April 1-2, 1993, 1993). Históricamente las definiciones han variado en cuanto a la consideración de la masa ósea y la existencia de fractura, por ello en 1994 la OMS incorporó estos términos dentro de la definición de osteoporosis. Actualmente, se incluye el término de resistencia ósea insuficiente considerándose la osteoporosis como *“un trastorno generalizado del esqueleto caracterizado por una alteración de la resistencia ósea que predispone a la persona a un mayor riesgo de fractura”* (NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy, March 7-29, 2000: highlights of the conference, 2001), reflejando fundamentalmente la integración de densidad y calidad óseas.

La osteoporosis es el resultado de un balance negativo, debido a un desequilibrio entre la formación y resorción óseas. Por ello, la evaluación de la DMO se ha convertido en un elemento esencial para la evaluación de pacientes con riesgo de padecer osteoporosis y así evaluar el riesgo de fracturas (Kanis & Gluer, 2000). La cantidad de hueso contenida en un segmento óseo o en la totalidad del organismo, incluyendo todos los componentes óseos, se conoce como masa ósea y se expresa en gramos. El peso de la parte mineral ósea contenida en un fragmento óseo determinado, es el contenido mineral óseo (CMO); mientras que el peso del contenido mineral de un fragmento óseo determinado, referida a un área concreta, es la Densidad Mineral Ósea (DMO) la cual representa una medida bidimensional, expresada en gramos de hidroxapatita/cm². Por tanto, la DMO está influida tanto por el contenido mineral del hueso como por la geometría de la zona ósea medida (Ammann & Rizzoli, 2003).

V

La prevalencia y el riesgo relativo de la osteoporosis varían en función de la zona donde ha sido evaluada la DMO (Tabla 4). En mujeres de 50-59 años, la osteoporosis presenta una prevalencia del 7,6% cuando es evaluada en columna lumbar, frente al 3,9% en cadera, el 3,7% en antebrazo y el 14,8% cuando se combinan las tres zonas (Melton, 1997). El estudio NHANES III (National Health and Examination Survey III) determinó la prevalencia de osteoporosis entre un 13-18% en las mujeres y en un 3-6% en los hombres mayores de 50 años, mostrando una clara influencia de la raza en su desarrollo (Looker et al., 1997). Estudios españoles confirman que la prevalencia de osteoporosis en España es semejante a la descrita en otros países de Europa, en particular en áreas mediterráneas (Elffors et al., 1994).

Tabla 4: Predicción del riesgo relativo de fracturas en función del área de medición de la DMO.

	Tipo de fractura			
	Antebrazo	Cadera	Vértebra	Todos
	Riesgo relativo (intervalo de confianza)	Riesgo relativo (intervalo de confianza)	Riesgo relativo (intervalo de confianza)	Riesgo relativo (intervalo de confianza)
Radio proximal	1,8 (1,5-2,1)	2,1 (1,6-2,7)	2,2 (1,7-2,6)	1,5 (1,3-1,6)
Radio distal	1,7 (1,4-2,0)	1,8 (1,4-2,2)	1,7 (1,4-2,1)	1,4 (1,3-1,6)
Cadera	1,4 (1,4-1,6)	2,6 (2,0-3,5)	1,8 (1,1-2,7)	1,6 (1,4-1,8)
Columna lumbar	1,5 (1,3-1,8)	1,6 (1,2-2,2)	2,3 (1,9-2,8)	1,5 (1,3-1,8)
Calcáneo	1,6 (1,4-1,8)	2,0 (1,5-2,7)	2,4 (1,8-3,2)	1,5 (1,4-1,6)

Modificado de Marshall (Marshall, Johnell, & Wedel, 1996)

5.1.1. Clasificación de la Osteoporosis

Atendiendo a la etiopatogenia de la osteoporosis, podemos clasificarla en dos grupos bien diferenciados:

- **Osteoporosis primaria o involutiva:** constituye el grupo más frecuente, produciéndose con el transcurso de los años, especialmente en la mujer después de la menopausia entre los 50 y 75 años (**osteoporosis postmenopáusica o tipo I**), así como en los dos sexos en edades más avanzadas por encima de los 70-75 años (**osteoporosis senil o tipo II**).
- **Osteoporosis secundaria:** esta denominación es utilizada cuando existe una causa capaz de desencadenar o producir el trastorno, independientemente de la edad y la menopausia (Tabla 5).

También se han descrito otras clasificaciones de la osteoporosis en relación a su etiología y localización:

- **Osteoporosis idiopática:** utilizado para todos aquellos casos en los que no se encuentra una causa secundaria, apareciendo principalmente en mujeres premenopáusicas y hombres jóvenes (Tannirandorn & Epstein, 2000).
- **Osteoporosis localizada o regional:** debida principalmente a la disminución de la DMO que ocurre generalmente en relación a la inmovilización prolongada, especialmente en alguna extremidad (Tannirandorn & Epstein, 2000).
- **Osteoporosis del embarazo y la lactancia:** la presentación de este tipo de osteoporosis no difiere de las otras formas de esta enfermedad, salvo por la edad y el estado funcional en el momento de su aparición (Campusano, 1999).

Tabla 5: Etiología de la osteoporosis secundaria.

ETIOLOGÍAS POSIBLES DE LA OSTEOPOROSIS SECUNDARIA	
Endocrinopatías	Hiperparatiroidismo, Hipertiroidismo, Hiper cortisolismo, Déficit de GH, Diabetes Mellitus tipo I, Hipogonadismo femenino, Hipogonadismo masculino.
Enfermedades digestivas	Síndromes de malabsorción, Gastrectomía subtotal, Cirrosis hepática, Cirrosis biliar primaria, Ictericia obstructiva crónica, Alactasia.
Desórdenes hematológicos	Mieloma múltiple, Leucemias, Linfomas, Anemias hemolíticas, Mastocitosis sistémica.
Conectivopatías	Artritis reumatoide, Osteogénesis imperfecta, Síndrome de Marfan, Síndrome de Ehlers-Danlos, Homocistinuria.
Fármacos	Heparina, Glucocorticoides, Anticomiciales, Ciclosporina, Tiroxina, Análogos de GnRH, Quimioterápicos, Litio, Diuréticos asa.
Alteraciones de la nutrición	Déficit de calcio y vitamina D, Dietas hiperproteicas, Cafeína, Alcohol, Anorexia nerviosa.
Otros	Inmovilización prolongada, Hiper calciuria, Situación postrasplante.

Tomado de Walsh (Walsh, Wong, Pringle, & Tattersfield, 1996).

5.2. Osteoporosis y Menopausia

La postmenopausia es la época de la vida de la mujer en la que se produce una mayor disminución en la masa ósea y que, en consecuencia, condicionará de forma más importante el riesgo de fractura futuro. Utilizando los criterios de la OMS, el 30% de las mujeres postmenopáusicas de raza caucásica en E.E.U.U. tendría osteoporosis de cadera, columna lumbar o extremidad distal del radio. Estos datos se incrementan a nivel exponencial con la edad, de tal forma que el 70% de las mujeres mayores de 80 años cumplirían criterios densitométricos de osteoporosis (Melton, 1995). En España, la osteoporosis es la enfermedad metabólica ósea más prevalente. Afecta a un 35% de mujeres mayores de 50 años, porcentaje que se eleva a un 52% en las mayores de 70 años. La reducción en la producción de hormonas sexuales en la mujer a partir de los 50 años está relacionada con una desmineralización ósea más intensa. Así, una mujer de 50 años tiene un riesgo del 40% de sufrir una fractura el resto de su vida, cuando en los varones este riesgo alcanza el 13% (Cummings & Melton, 2002). En el año 2000, se estimó en 4 millones el número de nuevas fracturas en Europa, unas 8 fracturas por minuto o una fractura cada 8 segundos; de éstas, 0'89 millones fueron fracturas de cadera (Johnell & Kanis, 2006). Los costes directos han sido estimados en casi 32 millardos de euros que se espera se incrementen hasta los 77 millardos de euros en 2050 en función de los cambios demográficos esperados en Europa (Kanis & Johnell, 2005).

El grupo de estudio de la OMS, recomienda utilizar la masa ósea para definir operativamente la osteoporosis en mujeres postmenopáusicas de raza

caucásica (The WHO Study Group, 1994). Según estos criterios, se considera presencia de osteoporosis en aquellas mujeres que tengan una DMO menor que 2,5 desviaciones estándar por debajo de la media de mujeres jóvenes sanas que coincide con el pico de masa ósea. La osteopenia es definida por la presencia de una DMO entre -2.5 y -1 desviaciones estándar por debajo de la media de mujeres jóvenes sanas. Este criterio ha sido ampliamente aplicado en la práctica clínica siendo ratificada por la International Society for Clinical Densitometry (Lewiecki et al., 2004).

La presentación de la menarquia y los trastornos del ciclo menstrual constituyen indicadores biológicos importantes en la adquisición de la masa ósea futura (Gambrell, 1989; Genant, Baylink, & Gallagher, 1989). Hoy es bien conocido que el déficit estrogénico juega un papel muy importante no solamente en la pérdida rápida de DMO que sigue a la menopausia, sino también en la fase lenta de pérdida que sufren los dos sexos en edades más avanzadas (Black et al., 2001). Las irregularidades menstruales inducidas por el ejercicio también han demostrado ser un factor relacionado con una baja DMO (Dalen & Olsson, 1974). Es probable que la pérdida de masa ósea en la menopausia ocurra por fases (Hedlund & Gallagher, 1989; Riggs et al., 1981), incluso los índices de pérdida posteriores a la misma ocurran exponencialmente, situándose la fase de pérdida rápida durante los primeros 5-7 años (Gallagher, Goldgar, & Moy, 1987). En función de datos bioquímicos se ha constatado la existencia de diferentes velocidades de pérdida entre algunas mujeres, lo que les ha llevado a identificarlas como “*perdedoras lentas*” y “*perdedoras rápidas*” (Christiansen, Riis, & Rodbro, 1987). Este incremento repentino puede ser medido bioquímicamente en plasma a través

del aumento de la fosfatasa alcalina, osteocalcina y excreción urinaria de hidroxiprolina (Stepan, Pospichal, Presl, & Pacovsky, 1987).

5.3. Factores de riesgo de la Osteoporosis

Los mecanismos patogénicos implicados en el desarrollo de una baja masa ósea se pueden clasificar fundamentalmente en tres tipos (Raisz & Rodan, 2003): (i) los relacionados con fallos en la consecución de un pico de masa ósea óptima, (ii) los relacionados con un incremento en la resorción ósea, así como (iii) aquellos mecanismos implicados en una formación ósea inadecuada, bien por resorción excesiva que impide la neoformación ósea, bien por la alteración de la regulación osteoblástica por factores locales o sistémicos.

Numerosos estudios poblacionales han demostrado que $\frac{3}{4}$ partes de la varianza del PMO es atribuible a la genética; aunque dicho factor no sigue un patrón monogénico en la osteoporosis, sino de tipo poligénico a partir de la interacción de alelos polimórficos comunes junto con la interacción de múltiples factores ambientales (Peacock, Turner, Econs, & Foroud, 2002). El sexo, etnia (Gilsanz et al., 1998), ejercicio físico, dieta, situación hormonal (Carani et al., 1997) y estilo de vida también parecen determinar el riesgo de osteoporosis apreciado en los diferentes estudios poblacionales (Mora & Gilsanz, 2003).

5.3.1. Factores de riesgo no modificables

- **Factores genéticos:** tal y como se ha dicho anteriormente, los factores de riesgo de tipo genético son de carácter poligénico. Así, ciertas variantes génicas serán transmitidas de generación en generación, dependiendo su expresión fenotípica de la interacción con otros genes, factores epigenéticos y factores ambientales. De ahí el enorme interés que poseen los estudios de asociación de diversos polimorfismos genéticos relacionados con la DMO. Los individuos de poblaciones afroamericanas poseen una DMO mayor que aquellos de raza caucásica o asiática. Por ende, la variabilidad en los alelos del gen del VDR ha sido relacionada con distintos valores en el riesgo de desarrollar fragilidad ósea (Reichel, Koeffler, & Norman, 1989).
- **Antecedentes de fracturas:** La localización de la fractura puede tener efecto diferencial sobre el padecimiento posterior de nuevas fracturas. Los antecedentes de fractura vertebral multiplican por cuatro el riesgo de una nueva fractura vertebral. Si esta cifra se incrementa, el antecedente de dos o más fracturas de cuerpos vertebrales multiplica por once el riesgo de sufrir una nueva (Grupo de Trabajo de la Sociedad Española de Investigaciones Óseas y Metabolismo Mineral: Osteoporosis postmenopáusica. Guía de práctica clínica, 2003).
- **Déficit estrogénico:** se ha descrito una mayor predisposición al padecimiento de osteoporosis relacionados con el déficit estrogénico, menopausia precoz, menarquia tardía o períodos de

amenorrea mayores de un año (Montalbán, Rico, Cortés, & Pedrera, 2001).

5.3.2. Factores de riesgo modificables

- **Factores nutricionales:** Se ha observado que las personas con baja ingesta de calcio, vitamina D (Holick, 2006b) y vitamina K (Okano, 2005), alcanzan una menor DMO; en sentido contrario, una ingesta elevada de sodio y proteínas ejercen una marcada influencia sobre la excreción urinaria de calcio, disminuyendo así la DMO (Heaney, 2000).
- **Vida sedentaria o práctica intensiva de ejercicio:** la falta de actividad muscular, el reposo, la ingravidez o la práctica intensiva de la natación (Rotstein, Harush, & Vaisman, 2008), poseen un efecto perjudicial sobre el hueso, acelerando la resorción (Varo et al., 2003).
- **Índice de Masa Corporal:** se ha observado que las mujeres con un IMC inferior a 19 tienen el doble de pérdida de masa ósea que las mujeres que presentan un IMC superior (Radak, 2004). El hecho que la obesidad pueda tener un efecto protector frente a la osteoporosis resulta controvertido (Zhao et al., 2007), a pesar de ser la obesidad facilitadora de las reservas de vitamina D en los adipocitos (Grodin, Siiteri, & MacDonald, 1973). En esta línea, una revisión sistemática del año 2009 encontró relación entre un elevado IMC y una mejor DMO (Waugh et al., 2009).

- **Fármacos:** diversos grupos de fármacos pueden favorecer la pérdida de masa ósea. Los glucocorticoides poseen un efecto directo sobre el hueso, inhibiendo los osteoblastos y aumentando la resorción ósea mediante la activación osteoclástica. Dicho efecto sobre la DMO, depende de la dosis y tiempo de uso; una dosis de 7,5 mg al día durante al menos tres meses constituye un importante factor de riesgo para el padecimiento de osteoporosis, llegando a provocar una pérdida de hasta el 15% de masa ósea en un año.
- **Hábitos tóxicos:** el consumo de tabaco (Hopper & Seeman, 1994; Law, Cheng, Hackshaw, Allaway, & Hale, 1997; Nguyen et al., 1994; Ward & Klesges, 2001), la ingesta de té, café (Barrett-Connor, Chang, & Edelstein, 1994) o alcohol (J. A. Baron et al., 2001) se asocian a una disminución de la DMO en ambos sexos.

5.4. Osteoporosis y Fracturas

La osteoporosis es la causante de alrededor de 1,6 millones de fracturas de cadera cada año, afectando a más de 200 millones de personas, lo que genera enormes costes económicos anuales. Se calcula que una de cada tres mujeres mayores de 50 años sufrirá al menos una fractura osteoporótica a lo largo de su vida (Johnell & Kanis, 2005), resultando esta proporción superior al cáncer de mama y similar al de la enfermedad cardiovascular (Sambrook & Cooper, 2006).

Han sido muchos los estudios que han establecido la utilidad de la DMO como factor predictivo de la aparición de fracturas, resultando el riesgo relativo de 1,5 a 3 veces para cada desviación estándar de reducción de DMO (Cummings et al., 1990; Gardsell, Johnell, & Nilsson, 1991; Gilbert, Johns, Chow, & Black, 1993; Hui, Slemenda, & Johnston, 1989; Wasnich, 1993; Watts, 2004). Sin embargo, no hay un umbral claro definido de DMO por debajo del cual se pueda decir que exista un incremento brusco en el riesgo de fractura (Cummings, Bates, & Black, 2002).

Se ha demostrado un aumento del riesgo de muerte (15%) y un importante deterioro de la calidad de vida de las pacientes que sufren fracturas osteoporóticas (Badia et al., 2001), aumentando su incidencia conforme aumenta la edad de la población. La fractura vertebral es la fractura osteoporótica con mayor incidencia presentada, a partir de los datos españoles del estudio europeo (EVOS-EPOS) (Naves et al., 2000). Estos estudios mostraron una incidencia similar anual de 1250 casos por 100.000 pacientes (Felsenberg et al., 2002). La segunda fractura osteoporótica con mayor incidencia presentada en España es la fractura de la extremidad distal del radio, con una incidencia de 887 casos por 100.000 pacientes mayores de 65 años (Marín et al., 2006). Otros estudios realizados con población española aportan datos de 900-1800 fracturas vertebrales y 300-600 fracturas de extremidad distal del radio por cada 100.000 habitantes (Rapado, 2001).

5.4.1. Factores de riesgo de fractura

Los factores de riesgo para la ocurrencia de fracturas pueden resumirse en:

1. **Masa ósea:** numerosos estudios transversales y prospectivos indican que el riesgo de fractura aumenta entre 1,4 y 2,6 veces por cada desviación estándar que disminuye la DMO (Rosen et al., 2005). Un T-score en cadera de -3, supone un riesgo 15 veces mayor de fractura, mientras que un valor similar en la columna lumbar, elevaría el riesgo a 4 veces (Kanis et al., 2001).
2. **Edad:** El riesgo relativo de fractura aumenta de 2 a 3 veces por cada década tras los 50 años, contribuyendo como un factor independiente de la DMO (Kanis, 2002).
3. **Sexo:** Las mujeres presentan una prevalencia de fracturas 15-20:1 respecto al hombre, probablemente debido a factores tan diversos como el PMO y el cese brusco de la actividad estrogénica tras la menopausia (Riggs, Khosla, & Melton, 2002).
4. **Bajo peso:** La talla baja y un IMC inferior a 19 kg/m^2 , unido a una disminución del porcentaje de grasa corporal, está asociado a una baja DMO, especialmente en mujeres postmenopáusicas (De Laet et al., 2005).
5. **Presencia de fractura previa por fragilidad y riesgo de caídas:** Las alteraciones neuromusculares y los antecedentes de caídas previas, junto con el consumo de ansiolíticos y neurolépticos aumentan el riesgo de

fracturas (Vestergaard, Rejnmark, & Mosekilde, 2006), siendo este riesgo mayor en el primer y segundo año tras la primera fractura (van Staa, Leufkens, & Cooper, 2002).

5.5. Evaluación del paciente con osteoporosis

El primer método de evaluar la masa ósea con el objetivo de definir la osteoporosis fue el estudio histológico. Este método resulta cruento, lento y costoso, aunque a pesar de ello podría considerarse a la histomorfometría como el *patrón de oro* en la valoración de la masa ósea (Gómez Alonso, Díaz López, & Cannata Andía, 1996). Los métodos de cuantificación de la masa ósea que se han impuesto resultan métodos indirectos, siendo el más común (pero el más impreciso) la lectura cualitativa de una placa radiológica. En la Tabla 6 se describen los métodos para la evaluación de la masa ósea actuales.

El progreso tecnológico ha permitido el desarrollo de instrumentos capaces de cuantificar la masa ósea en diferentes áreas esqueléticas con mayor precisión y exactitud. En esta línea disfrutamos de las técnicas radiológicas de alta resolución que permiten no sólo determinar la masa ósea, sino replicar en tres dimensiones la microarquitectura ósea (Genant, Engelke, & Prevrhal, 2008; Ladinsky & Wehrl, 2006).

Tabla 6: Métodos de evaluación de la masa ósea.

MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA MASA ÓSEA			
	Tipo de Técnica	Técnica	Siglas
Directa	Histomorfometría	Microtomografía	μ QCT
		Microrresonancia magnética	μ RMN
Indirecta	Cualitativa	Radiología simple	
	Semicuantitativa	Índices Radiológicos	
	Radiogrametría	Índices Nordin-Barnet, Morgan, etc.	
		Densitometría fotónica dual	DPA
	Técnicas Cuantitativas densitométricas Axiales	Tomografía Axial Cuantitativa	QCT
		Tomografía Axial computarizada de alta resolución	hrQCT
		Densitometría radiológica de doble energía	DXA
		Densitometría radiológica monoenergética	SXA
		Densitometría fotónica simple	SPA
	Técnicas Cuantitativas densitométricas Periféricas	Densitometría radiológica de doble energía periférica	pDXA
		Tomografía periférica cuantitativa	QCTp
		Ultrasonidos cuantitativos	QUS
	Radiogrametría digital cuantitativa	QDR	

La exactitud o fiabilidad de una técnica indica el grado de aproximación del valor obtenido al valor real de la masa ósea. Por ende, la técnica aplicada en la valoración de la masa ósea debe tener una elevada exactitud y una buena precisión para, para posteriormente poder evaluar mínimas diferencias (Tremollieres, Pouilles, & Ribot, 1993). Los criterios de idoneidad propuestos por Culliton (Culliton, 1987) para el empleo de una determinada técnica fueron los siguientes:

1. Buen cociente de variabilidad, o lo que es lo mismo, una buena reproducibilidad de la medida que permita estudios longitudinales comparativos.
2. Alta precisión en la valoración de la masa de tejido óseo calcificado, lo cual conlleva a una alta sensibilidad y

especificidad en la detección de cambios precoces en la misma¹⁹.

3. Correlación con el riesgo de aparición de fracturas.
4. Simplicidad, inocuidad y economía.

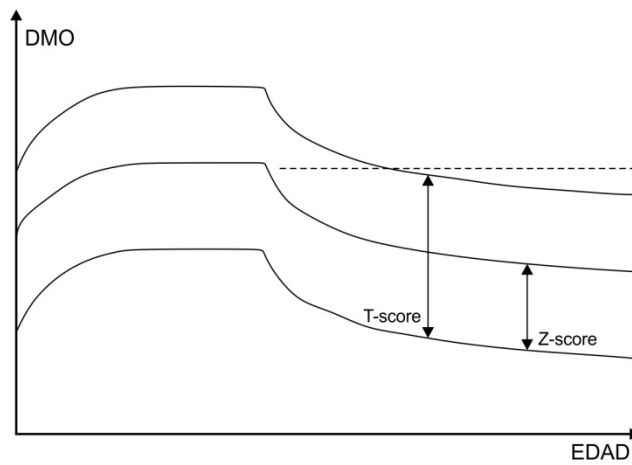
5.5.1. Evaluación clínica

La sospecha clínica inicial siempre vendrá dada tanto por la anamnesis, como en menor grado por los datos correspondientes a la exploración. La entrevista clínica constituye el eje central del diagnóstico de osteoporosis, recogiendo no solo aquellos factores de riesgo esqueléticos, sino aquellos que influyen o pueden influir en la frecuencia y en el número de caídas. La anamnesis deberá incluir datos como antecedentes familiares y personales de endocrinopatías y fracturas previas, historia hormonal y reproductiva (edad de menarquia y menopausia, número de embarazos, lactancia, etc.), encuesta dietética que incluya el consumo de calcio y vitamina D, estilo de vida en el que se especifiquen hábitos tóxicos, así como la exploración física exhaustiva (deformidades, frecuencia cardíaca, tensión arterial, etc.).

¹⁹ Para la técnica DXA, el coeficiente de variación (CV) o error de precisión es de 0,7-1% en vértebras, de 1,5-2% en fémur y de 1-1,5% en radio.

5.5.2. *Medición de la masa ósea mediante DXA*

El DXA constituye el *patrón de oro* en la evaluación incruenta de la masa ósea. La precisión que presenta, su menor exposición radiológica (0,5 mSv) y la ausencia de radiación de dispersión han situado a esta técnica como la mejor para el diagnóstico y seguimiento de la osteoporosis. Una masa ósea baja predice mejor la fractura que el colesterol elevado o la hipertensión predicen el infarto (Miller & McClung, 1996; Miller et al., 2002). La densitometría radiológica de doble energía se basa en la generación de una imagen digitalizada en función de la atenuación de dos haces colimados de rayos X, de alta y baja energía en un determinado sector anatómico. El tubo de rayos X emite fotones de 70 a 140 keV, con escasa dosis de radiación, menor a 10 mRem en la piel y 2 mRem en médula ósea. El cálculo de la DMO se realiza a través de un proceso matemático, iniciándose con la diferenciación del tejido óseo respecto a los blandos, determinación del área explorada (cm^2), determinación de la CMO (g) y obteniendo con el cociente de ambos la densidad mineral ósea por unidad de superficie (DMO, g/cm^2) en cada subsector de la región ósea sometida a examen. Una vez obtenida la DMO en un determinado paciente, ésta debe ser considerada en función de los valores de su población control, bien respecto a su grupo de edad y sexo (Z-score), bien respecto al pico de masa ósea de la población joven sana (T-score) (Figura 11). La estandarización de estos valores debe realizarse (a ser posible) utilizando valores poblacionales válidos, de la misma población estudiada.



$$T\text{-score} = \frac{DMO \text{ sujeto} - DMO \text{ "pico de masa ósea"}}{Desviación \text{ estándar del "pico de masa ósea"}}$$

$$Z\text{-score} = \frac{DMO \text{ sujeto} - DMO \text{ media para su edad y sexo}}{Desviación \text{ estándar de su grupo de edad y sexo}}$$

Figura 11: Representación gráfica y cálculo de T-score y Z-score
Tomado de Gómez Alonso (Gómez Alonso & Díaz López, 2009)

Los criterios diagnósticos de osteoporosis basados en la masa ósea, que clasifican a las pacientes de acuerdo al T-score fueron establecidos por la OMS en 1994 (Group, 1994):

1. **Normal:** T-score mayor de -1.
2. **Osteopenia:** T-score igual o menor a -1 y mayor de -2,5.
3. **Osteoporosis:** T-score igual o menor a -2,5
4. **Osteoporosis grave o establecida:** cuando la osteoporosis densitométrica se acompaña de al menos una fractura por fragilidad.

Las razones por las que el DXA se ha impuesto como técnica densitométrica de elección (Gómez Alonso & Díaz López, 2009) se pueden resumir en:

1. Capacidad de examinar sectores anatómicos donde se asientan las fracturas osteoporóticas epidemiológicamente más relevantes (columna vertebral y extremidad proximal del fémur).
2. Presenta una excelente precisión que permite el control evolutivo en un plazo razonable.
3. La evolución de la masa ósea en dichos sectores con la edad es concordante con la epidemiología de la enfermedad.
4. Permite observar la respuesta terapéutica de la masa ósea.
5. La exposición radiológica resulta razonablemente baja, prediciendo el riesgo de fractura en cualquier sector anatómico de manera similar a la densitometría periférica.

Las últimas recomendaciones de la Sociedad Internacional de Densitometría Clínica (ISCD) sobre las indicaciones de una DXA se presentan a continuación (Binkley et al., 2006):

1. Mujeres de 65 años o mayores.
2. Mujeres postmenopáusicas menores de 65 años con factores de riesgo.
3. Hombres de 70 años o mayores.
4. Adultos con fracturas por fragilidad.

5. Adultos con enfermedades asociadas con baja masa o pérdida ósea.
6. Adultos que tomen fármacos asociados con una baja masa o pérdida óseas.
7. Cualquier persona considerada a tratamiento farmacológico para la osteoporosis.
8. Cualquier persona en tratamiento para la osteoporosis, con el objetivo de monitorizar su efecto.

5.5.3. Marcadores bioquímicos del remodelado óseo

Como consecuencia del remodelamiento óseo, una serie de péptidos y proteínas conocidos como “*marcadores de remodelado óseo*” (MRO) pueden ser detectados en sangre y orina (Cons, 2003; Mandalunis, 2006), indicando de manera indirecta la fisiología ósea a partir de la formación y resorción de la misma (Stepan, 2003). De esta manera, la utilidad de los MRO (Tabla 7) en la práctica clínica diaria para valorar la osteoporosis puede resumirse en (Bonnick & Shulman, 2006; Srivastava et al., 2005):

1. Identificar sujetos con riesgo de pérdida ósea acelerada.
2. Valorar el riesgo de fractura.
3. Valorar la respuesta al tratamiento anticatabólico a corto plazo.

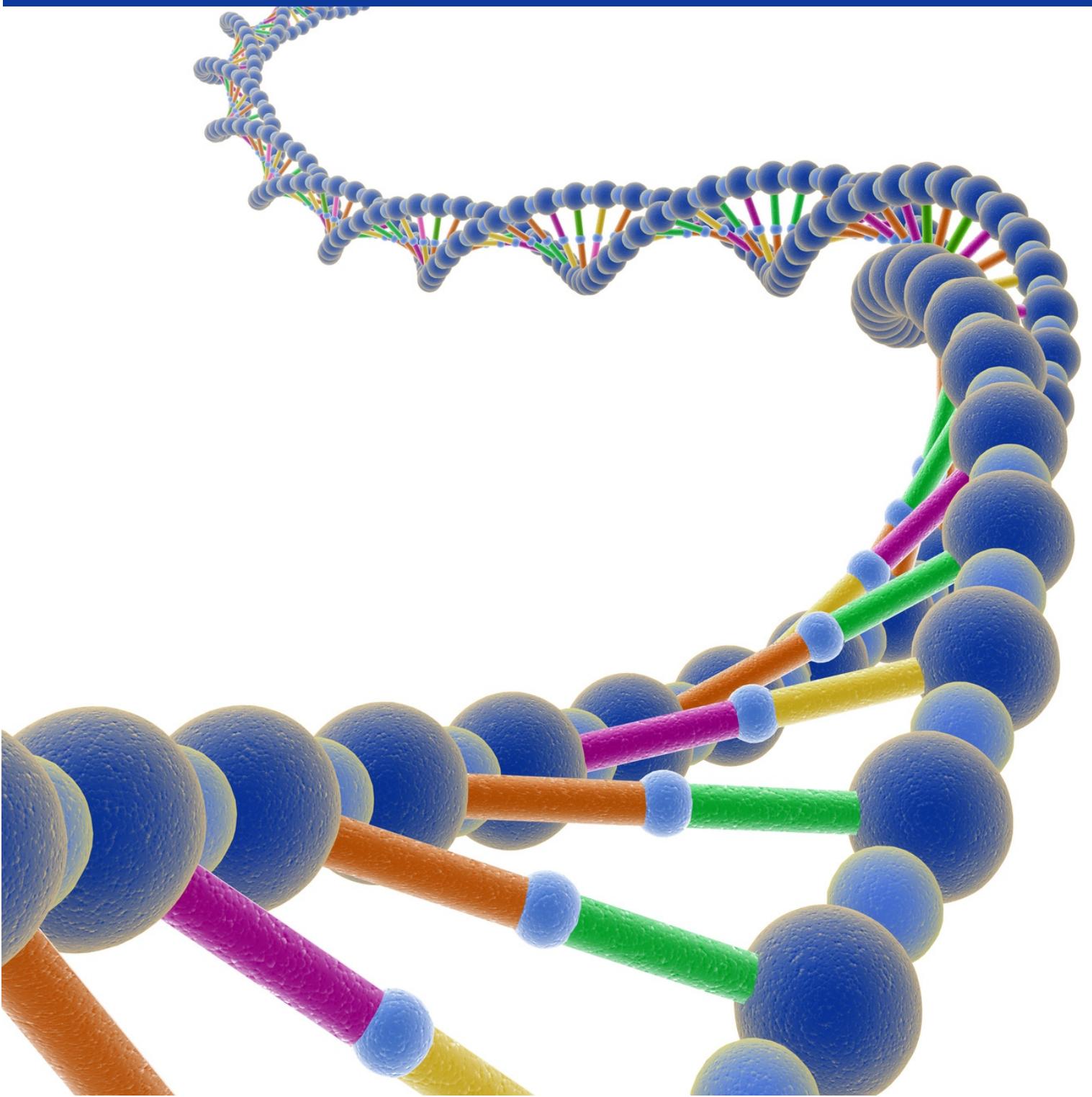
Tabla 7: Marcadores de remodelado óseo (MRO).

	Marcador de remodelado óseo	Determinación
Marcadores de Resorción Ósea	Telopéptido del colágeno tipo I (NTX y CTX)	Suero y Orina
	Piridolina (Pyr)	Suero
	Dexosipiridolina (Dpy)	Suero
	Fosfatasa ácida tartrato resistente	Suero
	Calcio	Orina
	Hidroxiprolina	Orina
	Glicósidos de hidroxilisina	Orina
Marcadores de formación Ósea	Fosfatasa alcalina total y ósea	Suero
	Prolina iminopeptidasa	Suero
	Osteocalcina	Suero
	Péptido de extensión del colágeno tipo I Carboxiterminal (PICP)	Suero
	Péptido de extensión del colágeno tipo I Aminoterminal (PINP)	Suero

Adaptado de Cundy y Christenson (Cundy & Reid, 1995; Christenson, 1997).

Capítulo VI

**POLIMORFISMOS DEL GEN
DEL VDR EN PACIENTES
CON OSTEOPOROSIS
POSTMENOPÁUSICA**



En un intento de revisión sistemática pormenorizada, realizada para este trabajo, se tuvo como objetivo identificar los polimorfismos del gen del VDR más frecuentemente relacionados con el padecimiento de osteoporosis o su posible efecto sobre la DMO a partir de búsquedas realizadas en las bases de datos Scielo y Pubmed, en el período de enero de 2000 a diciembre de 2011. Se seleccionaron veintitrés artículos a partir de los métodos de investigación utilizados en la práctica basada en la evidencia (EBP) que estudiaron la relación entre los polimorfismos *BsmI*, *Apal*, *FokI* y *TaqI* sobre la DMO en mujeres postmenopáusicas.

El EBP está concebido para recopilar y sintetizar los resultados de la investigación sobre un tema en particular, sistemático y ordenado, contribuyendo a profundizar en el conocimiento del tema investigado. Para ello fue utilizada la siguiente clasificación del nivel de evidencia (Melnyk & Fineout-Overholt, 2005): I – Pruebas que se generaron a partir de las revisiones sistemáticas o meta-análisis de ensayos controlados o directrices de práctica clínica basada en evidencias a partir de revisiones sistemáticas de ensayos controlados aleatorios; II – Evidencia generada desde al menos un ensayo clínico aleatorio bien diseñado; III – Pruebas obtenidas de ensayos controlados bien diseñados sin aleatorización; IV – Pruebas procedentes de estudios de casos y controles y cohortes bien diseñados; V – Pruebas de revisiones sistemáticas de estudios descriptivos y cualitativos; VI – Pruebas de un solo estudio descriptivo o cualitativo; VII – Pruebas de la opinión de las autoridades o informes de comités de expertos.

Las etapas seguidas para el desarrollo de la presente revisión se ajustan a las descritas Whittemore et al (Whittemore & Knafl, 2005). Se realizaron búsquedas en PubMed (2000-2011) y base de datos Scielo (2000-2011). Todos los estudios de

asociación genética que investigaron la asociación de los polimorfismos *BsmI*, *TaqI*, *Apal* y *FokI* asociados con el gen del VDR con el desarrollo de osteoporosis publicados fueron considerados en el examen integrador. La estrategia de búsqueda para identificar los estudios incluyó el uso de combinaciones de los siguientes términos: ["VDR" o "vitamin D receptor"] y ["BMD" o "bone mineral density"]. 81 artículos fueron inicialmente localizados, quedando finalmente conformada la muestra por 23 artículos, los cuales se ajustaron a los siguiente criterios de inclusión: (1) evaluar la asociación entre el VDR y DMO en mujeres postmenopáusicas; (2) incluir el número de sujetos asignados a la muestra, media y desviación estándar de DMO para cada genotipo del gen del VDR; (3) sujetos sin enfermedad crónica que afecte a la DMO y sin historial de tratamientos que afecten al metabolismo óseo.

6.1. Resultados de la revisión sistemática de los polimorfismos asociados al gen del VDR y su relación con la DMO en mujeres postmenopáusicas

La muestral final constó de 23 artículos que estudiaron la relación entre los polimorfismos *BsmI*, *Apal*, *FokI* y *TaqI* (VDR) sobre la DMO; 2 artículos se encontraron en la categoría E-I y 21 en la categoría E-IV (13 estudios de Casos Controles y 8 estudios de Cohorte). No se encontraron artículos en las categorías restantes, a partir de los criterios de inclusión detallados anteriormente.

6.1.1. *BsmI*

Se encontraron 11 artículos que mostraron evidencias sobre el efecto del polimorfismo *BsmI* sobre la disminución DMO (2 artículos categoría E-I y 9 artículos categoría E-IV), frente a 4 artículos que no mostraron efectos del polimorfismo *BsmI* sobre la DMO (4 artículos categoría E-IV), los cuales son presentados en la Tabla 8. El genotipo que presentó mayor número de evidencias fue el *BB*, el cual mostró 8 evidencias sobre el efecto del polimorfismo en la DMO (2 artículos categoría E-I, y 6 artículos categoría E-IV) y 4 artículos que no mostraron evidencias del efecto de dicho polimorfismo en la DMO. Así mismo, el genotipo *Bb* presentó 2 evidencias sobre el efecto del mismo en la DMO, frente a 4 evidencias que presentaron falta de efecto del mismo sobre la DMO (ambos en la categoría E-IV). El genotipo *bb* mostró 2 evidencias del efecto del mismo en la DMO, frente a 4 evidencias con ausencia de dicho efecto (ambos en la categoría E-IV).

Tabla 8: Distribución de artículos por nivel de evidencia y efecto del polimorfismo *Bsml*.

		NIVEL DE EVIDENCIA (EBP) Y EFECTO DEL POLIMORFISMO <i>Bsml</i>		
		Polimorfismo <i>Bsml</i>		
Nivel de Evidencia		Genotipo <i>bb</i>	Genotipo <i>Bb</i>	Genotipo <i>BB</i>
E-I				Bajos valores de DMO en cabeza femoral ^(Y. Li, et al., 2011) ; Bajos valores de DMO en columna ^(Thakkinian, D'Este, Eisman, et al., 2004)
E-IV	C-C ^a	Sin influencia sobre los valores de DMO ^(Fontova Garrofe et al., 2000; Valimaki et al., 2001; Yoldemir, et al., 2011b; Zajickova, et al., 2002) ; Bajos valores de DMO en antebrazo ^(Douroudis, et al., 2003) ; Alta frecuencia de osteoporosis ^(Lisker et al., 2003)	Sin influencia sobre los valores de DMO ^(Fontova Garrofe, et al., 2000; Valimaki, et al., 2001; Yoldemir, et al., 2011b; Zajickova, et al., 2002) ; Alta frecuencia de osteoporosis ^(Langdahl, et al., 2000)	Sin influencia sobre los valores de DMO ^(Fontova Garrofe, et al., 2000; Valimaki, et al., 2001; Yoldemir, et al., 2011b; Zajickova, et al., 2002) ; Alta frecuencia de osteoporosis ^(Borjas-Fajardo et al., 2003; Langdahl, et al., 2000)
	C ^b		Bajos valores de DMO en trocánter ^(J. G. Kim, et al., 2003)	Bajos valores de DMO en columna ^(H. Y. Chen et al., 2001; Marc, Prezelj, Komel, & Kocijancic, 2000) ; Bajos niveles de DMO en columna con bajos niveles de ingesta de calcio ^(Stathopoulou, et al., 2011) ; Alta frecuencia de osteoporosis ^(Mitra, Desai, & Ikram Khatkhatay, 2006)

^a Casos-Control^b Cohorte

6.1.2. *Apal*

El efecto del polimorfismo *Apal* y la DMO fue analizado en la Tabla 9. Cuatro estudios (1 artículo categoría E-I y 3 artículos categoría E-IV) mostraron evidencias del efecto de dicho polimorfismo sobre la DMO, frente a 2 que no mostraron evidencias del efecto (categoría E-IV). Así mismo, el genotipo que mostró mayor número de evidencias de efecto sobre la DMO fue el AA, con 3 estudios (1 artículo categoría E-I, y 2 artículos categoría E-IV), frente a 2 artículos que no mostraron ninguna evidencia de dicho efecto (ambos en la categoría E-IV). Las

evidencias de efecto del genotipo *aa* en la DMO fueron menores, situándose dichas evidencias en la categoría E-IV (1 artículo mostró efecto, frente a 3 que no mostraron evidencias del mismo). El genotipo *Aa* no mostró evidencias de efecto sobre la DMO en 3 artículos (categoría E-IV). No se encontraron estudios de cohorte, que estudiaran el efecto del polimorfismo *Apal* en la DMO.

Tabla 9: Distribución de artículos por nivel de evidencia y efecto del polimorfismo *Apal*.

NIVEL DE EVIDENCIA (EBP) Y EFECTO DEL POLIMORFISMO <i>Apal</i>			
Nivel de Evidencia	Polimorfismo <i>Apal</i>		
	Genotipo <i>aa</i>	Genotipo <i>Aa</i>	Genotipo <i>AA</i>
E-I			Bajos valores de DMO en columna (Y. Li, et al., 2011)
E-IV	C-C ^a	Sin influencia sobre los valores de DMO (Langdahl, et al., 2000; Yoldemir, et al., 2011b; Zajickova, et al., 2002); Bajos valores de DMO en antebrazo (Douroudis, et al., 2003)	Sin influencia sobre los valores de DMO (Langdahl, et al., 2000; Yoldemir, et al., 2011b; Zajickova, et al., 2002)
			Débilmente conectado con la susceptibilidad de la osteoporosis (Seremak-Mrozikiewicz, et al., 2009; Zajickova, et al., 2002); Sin influencia sobre los valores de DMO (Langdahl, et al., 2000; Yoldemir, et al., 2011b)

^a Casos-Control

6.1.3. *FokI*

Se encontraron 8 artículos que estudiaban la relación del genotipo *FokI* sobre la DMO (categoría E-IV), de los cuales 6 mostraban evidencias de dicho efecto frente a 2 que no encontraron efecto del mismo en la DMO (Tabla 10). El genotipo que más evidencias demuestra en la DMO fue el *ff* (6 artículos mostraron efecto, frente a 2 que no encontraron relación). No encontramos ningún artículo que mostrase evidencias de efecto de los polimorfismos *Ff* y *FF* sobre la

DMO, sin embargo sí encontramos 2 artículos que rechazaban dicha evidencia (estudios de Casos-Control).

Tabla 10: Distribución de artículos por nivel de evidencia y efecto del polimorfismo *FokI*.

Nivel de Evidencia		NIVEL DE EVIDENCIA (EBP) Y EFECTO DEL POLIMORFISMO <i>FokI</i>		
		Polimorfismo <i>FokI</i>		
		Genotipo <i>ff</i>	Genotipo <i>Ff</i>	Genotipo <i>FF</i>
E-IV	C-C ^a	Bajos valores de DMO en columna ^(Falchetti, et al., 2007) ; Valores inferiores de BDM en cadera después de ajustar la edad y el Índice de Masa Corporal ^(Zajickova, et al., 2002) ; Sin influencia sobre los valores de DMO ^(Langdahl, et al., 2000; Yoldemir, et al., 2011b)	Sin influencia sobre los valores de DMO ^(Langdahl, et al., 2000; Yoldemir, et al., 2011b)	Sin influencia sobre los valores de DMO ^(Langdahl, et al., 2000; Yoldemir, et al., 2011b)
	C ^b	Bajos valores de DMO en columna ^(Bandres, et al., 2005; H.-Y. Chen, et al., 2002; Horst-Sikorska, et al., 2007) ; Alta frecuencia de osteoporosis ^(H.-Y. Chen, et al., 2002; Mitra, et al., 2006)		

^a Casos-Control

^b Cohorte

6.1.4. *TaqI*

Se han encontrado 9 artículos que estudiaron el efecto del polimorfismo *TaqI* sobre la DMO, 7 mostraron evidencias de dicho efecto frente a 2 que no lo hicieron (todos incluidos en la categoría E-IV). El genotipo que mayor número de evidencias mostró sobre el efecto en la DMO fue el *tt* (Tabla 11) (3 evidencias frente a 2 que no mostraron efecto), le siguió el genotipo *TT* (2 evidencias frente a 2 que

no mostraron efecto – todos fueron estudios de Casos-Control) y *Tt* (1 evidencia, frente a 2 que no mostraron efecto).

Tabla 11: Distribución de artículos por nivel de evidencia y efecto del polimorfismo *TaqI*.

Nivel de Evidencia		Polimorfismo <i>TaqI</i>		
		Genotipo <i>tt</i>	Genotipo <i>Tt</i>	Genotipo <i>TT</i>
E-IV	C-C ^a	Bajos valores de DMO en columna ^(Duman, Tanakol, Erensoy, Ozturk, & Yilmazer, 2004) , Sin influencia sobre los valores de DMO ^(Yoldemir, et al., 2011b; Zajickova, et al., 2002)	Sin influencia sobre los valores de DMO ^(Yoldemir, et al., 2011b; Zajickova, et al., 2002)	Alto riesgo de osteoporosis en postmenopáusicas ^(Seremak-Mrozikiewicz, et al., 2009) , Bajos valores de DMO en antebrazo ^(Douroudis, et al., 2003) , Sin influencia sobre los valores de DMO ^(Yoldemir, et al., 2011b; Zajickova, et al., 2002)
	C ^b	Bajos niveles de DMO en columna con bajos niveles de ingesta de calcio ^(Stathopoulou, et al., 2011) ; Alta frecuencia de osteoporosis ^(Mitra, et al., 2006)	Bajos valores de DMO en columna ^(I. G. Kim, et al., 2003)	

^a Casos-Control

^b Cohorte

6.1.5. Interacciones

Aunque algunos estudios no evidenciaban efectos de los polimorfismos anteriores sobre la DMO, sí presentaron efecto en la interacción de los mismos. En la Tabla 12 podemos observar que los haplotipos *AaBb*, *BBAAtt* y el homocigótico *bAT* confieren incremento del riesgo de osteoporosis, así como valores bajos de DMO en el cuello del fémur; frente al efecto protector del haplotipo *BbaaTT*. Dichos estudios fueron encontrados en la categoría E-IV.

Tabla 12: Distribución de artículos por nivel de evidencia y efecto del polimorfismo combinado del gen del VDR.

NIVEL DE EVIDENCIA (EBP) Y EFECTO DE LOS POLIMORFISMOS COMBINADOS	
Nivel de Evidencia	Interacción de haplotipos en los polimorfismos combinados del gen del VDR
E-IV	C-C ^a <i>AaBb</i> confiere mayor riesgo para la osteoporosis ^(Durusu Tanriover, et al., 2010) ; <i>BBAAtt</i> confiere mayor riesgo para la osteoporosis ^(Zambrano-Morales et al., 2008) ; <i>BbaaTT</i> efecto protector para la osteoporosis ^(Zambrano-Morales, et al., 2008)
	C ^b Homocigótico <i>bAT</i> confiere bajos valores de DMO en cabeza de fémur ^(Horst-Sikorska, et al., 2007) ,

^a Casos-Control^b Cohorte

6.2. Discusión de la revisión sistemática de los polimorfismos asociados al gen del VDR y su relación con la DMO en mujeres postmenopáusicas

En general, una menor DMO fue observada en homocigóticos *BB* frente a heterocigóticos *Bb* (Y. Li, et al., 2011), sin embargo se observaron evidencias sobre la asociación entre el genotipo homocigótico *bb* y niveles altos de DMO (Mitra, et al., 2006; Stathopoulou, et al., 2011). En otros estudios con mujeres, el genotipo *bb* ha sido asociado con altos niveles de absorción de calcio en situaciones de baja ingesta de calcio, en comparación con la presencia del genotipo *BB* (Dawson-Hughes, Harris, & Finneran, 1995). La existencia de estudios que cumplieren los criterios de inclusión propuestos en nuestra revisión, en los niveles E-I y E-IV para el polimorfismo *Apal*, fue menor que para el polimorfismo *BsmI*.

En general y fundamentalmente en un estudio situado en el nivel E-I fue observada una mayor DMO en presencia de heterocigotos *Aa* en las

mujeres postmenopáusicas (Y. Li, et al., 2011); por el contrario una menor DMO fue observada en presencia del genotipo AA (Y. Li, et al., 2011; Mitra, et al., 2006). Estos resultados son similares a algunos estudios previos en población finlandesa y libanesa, pero son diferentes de los resultados mostrados en metanálisis anteriores. Las razones de las discrepancias existentes entre los estudios publicados pueden incluir: diferencias en las frecuencias de los alelos de los genotipos *BB* y *AA*, ya que éstas son mucho más bajas en los asiáticos que los caucásicos respectivamente, según los datos del HapMap; así como al efecto de las diferencias étnicas en la predisposición genética a la enfermedad (Y. Li, et al., 2011).

La presencia de los polimorfismos *FokI* y *TaqI* también presentó evidencias científicas que demuestran la asociación entre VDR y DMO (Bandres, et al., 2005; H. Y. Chen, et al., 2001; Douroudis, et al., 2003; Duman, et al., 2004; Falchetti, et al., 2007; Horst-Sikorska, et al., 2007; J. G. Kim, et al., 2003; Mitra, et al., 2006; Seremak-Mrozikiewicz, et al., 2009; Stathopoulou, et al., 2011; Zajickova, et al., 2002); dichas evidencias fueron encontradas en los niveles E-IV, no encontrándose ninguna evidencia en el nivel E-I. El polimorfismo *FokI*, resultante de la transición de T/C en el exón 2, crea un nuevo codón de iniciación (ATG) en el gen VDR, cambiando así la secuencia de proteínas de receptores de vitamina D en una longitud (el polimorfismo *FokI* alarga la proteína tres aminoácidos, pudiendo afectar a la actividad de receptor de la vitamina D) que puede implicar consecuencias funcionales (Zajickova, et al., 2002). En la mayoría de evidencias científicas encontradas, el genotipo *ff* fue relacionado con una menor DMO (H.-Y. Chen, et al., 2002; Mitra, et al., 2006; Zajickova, et al., 2002) y alta prevalencia de osteoporosis, aspecto este último controvertido al existir argumentos contradictorios (Zajickova, et al.,

2002). Algunos estudios sugieren la posibilidad de que el polimorfismo *FokI* ejerza una influencia en el tejido óseo esponjoso, que es más evidente en el segmento lumbar de la columna vertebral que en el cuello del fémur (Horst-Sikorska, et al., 2007). La vitamina D ha resultado útil en terapias antirresortivas como los análogos no-hipercalcémicos de la 1,25-dihidroxitamina D pudiendo aumentar la capacidad de respuesta a los niveles de estradiol y por lo tanto a la bajada de estrógenos utilizándose contra la osteoporosis en mujeres postmenopáusicas, Así, aumentos significativos de la masa ósea tras la terapia de reemplazo hormonal han demostrado una asociación significativa con el genotipo *TT* (Kurabayashi et al., 2004).

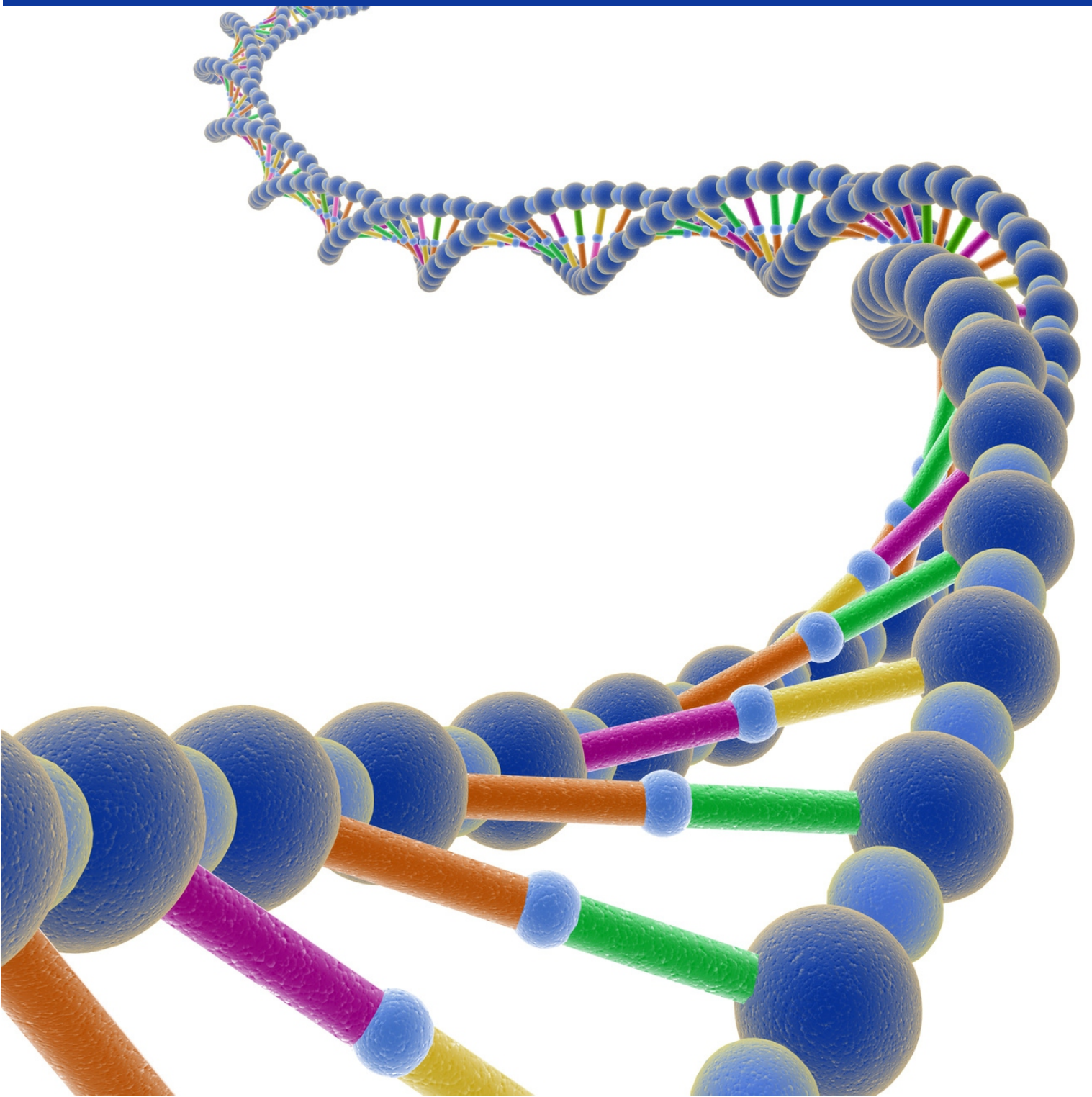
Zambrano-Morales et al. encontraron que el haplotipo *BBAAtt* fue un factor de riesgo para la osteoporosis, resultando el haplotipo *BbaaTT* un factor de protección en la población española (Zambrano-Morales, et al., 2008). La combinación del haplotipo *AaBb* confirió un riesgo cinco veces mayor cuando fue corregido con variables clínicas como el IMC. De esta forma, existen estudios que sugieren que los genes candidatos que afectan los parámetros metabólicos, así como el IMC pueden alterar el riesgo de osteoporosis (Durusu Tanriover, et al., 2010). Gong et al. evaluaron la asociación de 75 estudios de polimorfismos del gen VDR relacionados con la DMO, concluyendo que estos polimorfismos estaban significativamente asociados con la DMO, y que el efecto del genotipo fue más pronunciado en premenopáusicas que en mujeres postmenopáusicas (Gong, et al., 1999).

Las evidencias encontradas en la revisión sistemática, mostraron que la DMO promedio en los sujetos con genotipos *aa*, *bb*, *FF* y *TT* (VDR) fueron más

altos en la columna y la cadera que aquellos con los genotipos *AA*, *BB*, *ff* y *tt* (VDR), respectivamente (Mitra, et al., 2006). El gen VDR modula la transcripción de genes diana (ej., la proteína de unión de calcio y osteocalcina) que son críticos para la absorción de calcio y la formación de hueso. Hasta ahora, el mecanismo por el cual el gen VDR afecta DMO sigue siendo desconocido. Además de los polimorfismos del gen VDR, otros genes y vías, tales como la vía de señalización de estrógenos, Wnt/ β -catenina, la superfamilia del factor de crecimiento transformante, el receptor activador de la vía de señalización factor κ B nuclear (RANK), pueden afectar a la DMO y modular el efecto de los polimorfismos del gen VDR en la DMO. Una de las razones actuales más probables podrían ser los distintos niveles hormonales, lo cual puede influir en el efecto de los polimorfismos del gen VDR en la DMO.

Además, los factores ambientales, tales como la dieta, la actividad física, el tabaquismo y el consumo de alcohol, se ha demostrado que influyen en la DMO y la osteoporosis. Por lo tanto, estos factores gen-medio ambiente pueden actuar como factores de confusión que afectan a la asociación entre los polimorfismos del VDR y la DMO (Y. Li, et al., 2011). Por otra parte, los diferentes genotipos pueden tener también diferentes efectos en distintas partes del esqueleto, pudiendo ser este uno de los motivos por los que algunos investigadores no encontraron asociación entre polimorfismos del gen VDR y la DMO (J. G. Kim, et al., 2003).

JUSTIFICACIÓN



Como ha quedado expuesto anteriormente, la osteoporosis puede considerarse hoy día como una enfermedad compleja, en la que el *fenotipo* (masa ósea), es el resultado de la interacción de factores ambientales con factores genéticos. Este hecho, lleva a considerar a la osteoporosis como una enfermedad de naturaleza *poligénica*, debiéndose el efecto genético a la existencia de polimorfismos de la secuencia de información de los genes involucrados, dando lugar a formas alélicas diferentes en la población en general.

Los estudios que asocian los diferentes polimorfismos del gen del VDR y la DMO, han dado lugar a resultados muy dispares, en ocasiones contradictorios (Horst-Sikorska, et al., 2012; Jia, et al., 2012; Kurt et al., 2012b; Qin, et al., 2012). De todos ellos, los polimorfismos comunes del gen del VDR más estudiados y con mayor número de contradicciones publicadas han sido aquellos localizados en la zona no codificante del extremo 3' de dicho gen. La mayoría de estudios indican que el polimorfismo *BsmI* del gen del VDR tendría una modesta o nula influencia sobre la DMO de los pacientes con osteoporosis, sin embargo no se disponen del mismo número de estudios de asociación con población caucasiana tomando los alelos del polimorfismo *Apal*. Teniendo en cuenta que las características de la muestra puede ser un factor de confusión importante, hasta la fecha solo disponemos de 6 estudios de asociación del polimorfismo *BsmI* (Bandres, et al., 2005; Bernard et al., 1999; Bustamante et al., 2007; Fontova Garrofe, et al., 2000; Gomez et al., 1999; Sosa Henríquez et al., 1998) y 1 estudio del polimorfismo *Apal* (Bustamante, et al., 2007) realizados en mujeres postmenopáusicas españolas, cuyos tamaños muestrales pueden resultar insuficientes.

Aparentemente, en algunas poblaciones existiría mayor asociación entre dichos polimorfismos y el riesgo de fractura o pérdida de DMO (Garnero, et al., 2005).

Esta disparidad de resultados es multifactorial. La falta de homogeneidad de las poblaciones estudiadas con tamaños muestrales insuficientes y sesgos en la selección, así como la falta de equilibrio Hardy-Weinberg y una falta de atención sobre la variabilidad de los factores ambientales han sido los principales factores de confusión (Gomez Alonso, Naves Diaz, Diaz-Corte, Fernandez Martin, & Cannata Andia, 1998). Pocos trabajos muestran interacciones de las variantes alélicas de los genes candidatos con factores ambientales, tales como la ingesta de calcio u otros factores nutricionales. La falta de comprensión de los mecanismos moleculares y celulares influenciados por estos polimorfismos contribuyen a la dificultad para su interpretación. Los trabajos que presentan el efecto de los diferentes haplotipos son escasos, existiendo menor número de publicaciones que señalen la interacción de estos haplotipos con factores ambientales o de ingesta de calcio y/o vitamina D, lo que podrían eliminar algunas de las inconsistencias halladas hasta el momento.

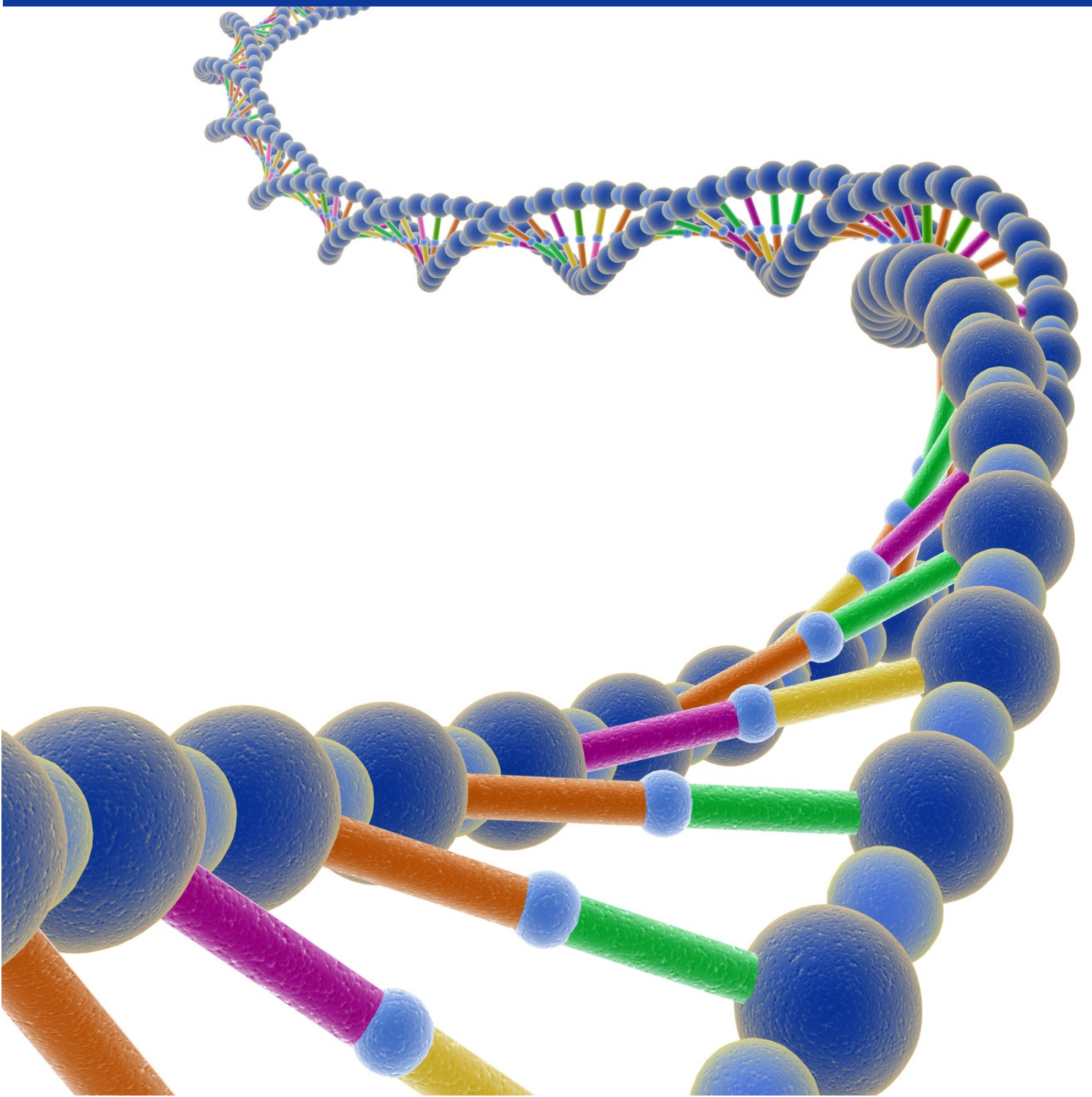
Actualmente en Extremadura no existe ningún estudio, grupo o unidad de investigación que esté evaluando variantes genéticas implicadas en la susceptibilidad a desarrollar osteoporosis. En España destacan en este campo los estudios realizados en el Hospital del Mar (IMAS)-IMIM (URFOA: Unidad de investigación en fisiopatología ósea y articular liderada por los doctores Adolfo Díez y Xavier Nogués), en el Departamento de Genética de la Universidad de Barcelona (Dr. Grinberg y Dra. Balcells) y en el Hospital Central de Asturias por los doctores Gómez y Cannata.

Las implicaciones del conocimiento de las bases genéticas de la osteoporosis son de enorme importancia para la prevención, diagnóstico y pronóstico de dicha patología. Tal es el caso, que entre los estudios realizados existen algunos que

demuestran la influencia en la eficacia de la terapia anti-resortiva en pacientes osteoporóticos que puede tener el sitio polimórfico *BsmI* (Palomba et al., 2005).

El aumento de este tipo de estudios, fundamentalmente teniendo en cuenta factores como la raza, sexo, ingesta, etc., la corrección de los factores de confusión y la interacción de dichos factores con los diferentes haplotipos, pueden contribuir a seleccionar el tratamiento anti-osteoporótico óptimo para cada paciente sobre la base de una completa evaluación genética.

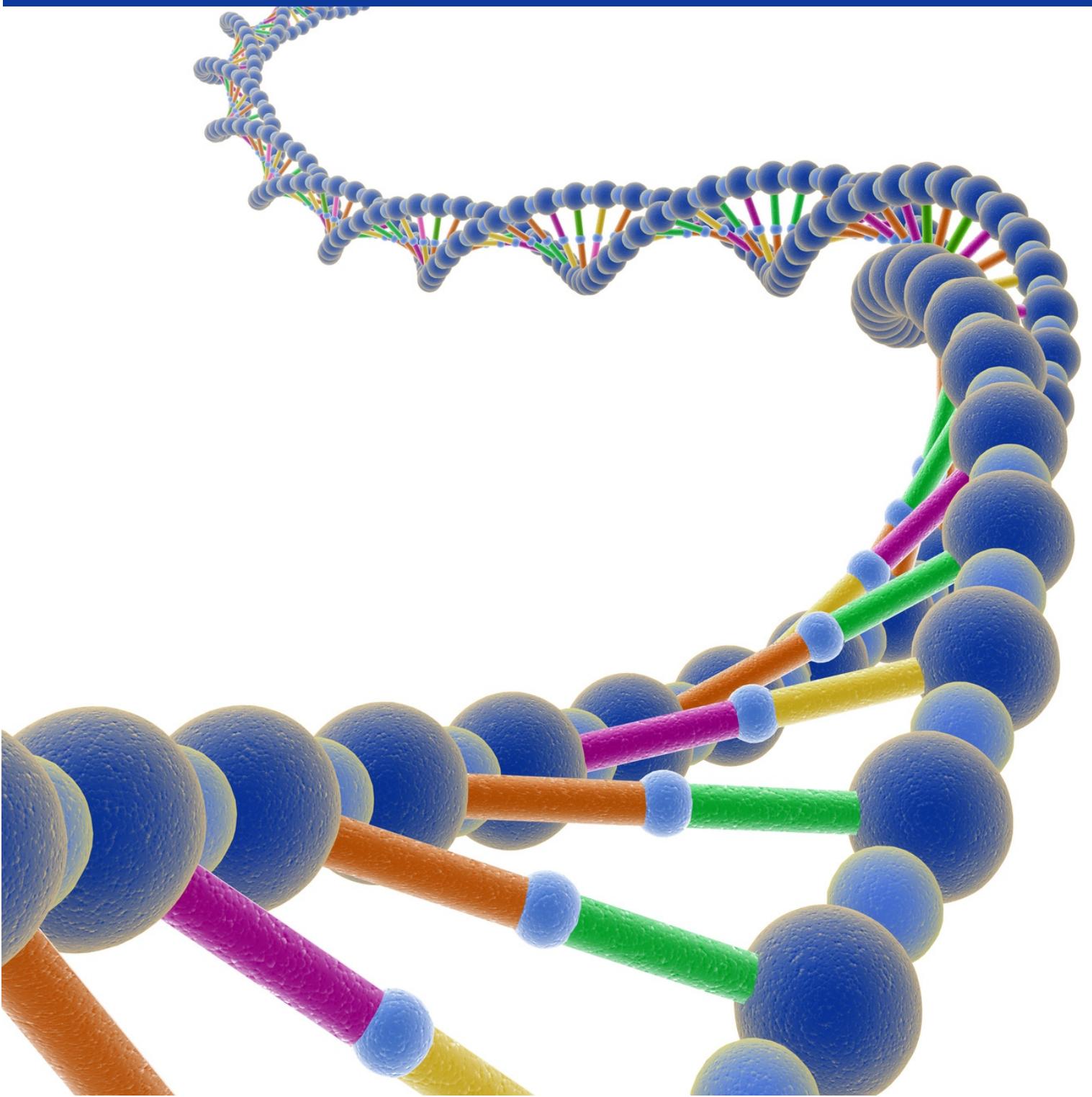
OBJETIVOS



Los objetivos específicos que se pretenden alcanzar con este estudio son los siguientes:

1. Analizar la prevalencia de los polimorfismos del gen del receptor de la vitamina D, con las enzimas de restricción *BsmI* y *Apal* en mujeres españolas postmenopáusicas.
2. Determinar los efectos de los polimorfismos del gen del receptor de la vitamina D *BsmI* y *Apal* sobre la densidad mineral ósea en diferentes regiones anatómicas en mujeres españolas postmenopáusicas.
3. Determinar el efecto diferencial que presentan los polimorfismos del gen del receptor de la vitamina D *BsmI* y *Apal* sobre la densidad mineral ósea, aislando el efecto de los factores biológicos (dieta, historial de fracturas, parámetros antropométricos, etc.) sometidos a estudio en mujeres españolas postmenopáusicas.
4. Establecer el riesgo de osteoporosis en función de los polimorfismos del gen del receptor de la vitamina D *BsmI* y *Apal* observados en mujeres españolas postmenopáusicas.
5. Proponer, en función de los resultados anteriores, las medidas preventivas y/o terapéuticas que procedan.

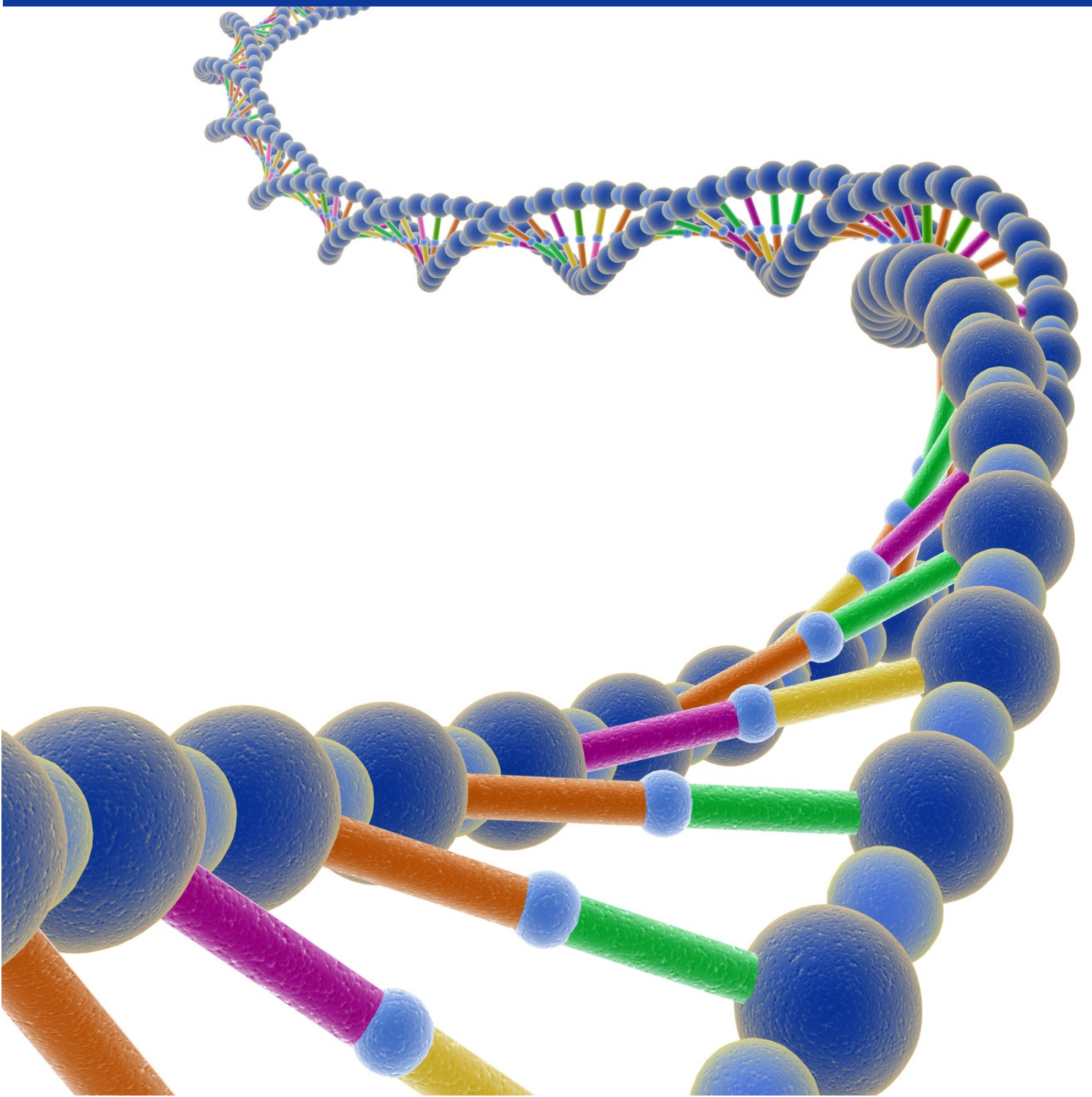
HIPÓTESIS



Las hipótesis de partida planteadas en este trabajo son las que se detallan a continuación:

1. La distribución de las frecuencias alélicas de los polimorfismos *BsmI* y *ApaI* del gen del VDR en mujeres postmenopáusicas españolas son semejantes a los descritos en los diferentes estudios llevados a cabo con población española.
2. Teniendo en cuenta el carácter poligénico y ambiental de la osteoporosis, los polimorfismos *BsmI* y *ApaI* no presentan efecto directo sobre la DMO, sino que su contribución estará mediada por dichos factores ambientales.
3. El análisis de los haplotipos de los genotipos combinados de los polimorfismos *BsmI* y *ApaI* y su interacción con factores ambientales en mujeres españolas postmenopáusicas, puede tener efecto diferencial sobre la DMO, más allá del análisis aislado de sus combinaciones alélicas.
4. El análisis de un genotipo polimórfico concreto (*BsmI* y/o *ApaI*) no podrá ser responsable de la totalidad del efecto diferencial de la DMO y el riesgo de fractura en mujeres españolas postmenopáusicas, debido al carácter poligénico y ambiental de la enfermedad osteoporótica.

MATERIAL Y MÉTODOS



10.1. Muestra de estudio

Se han estudiado un total de 210 mujeres postmenopáusicas de la Comunidad Autónoma de Extremadura en los laboratorios del Grupo de Investigación de Enfermedades Metabólicas Óseas (GIEMO) del Departamento de Enfermería de la Universidad de Extremadura con una edad media de 60 ± 8 años, con una edad media de menarquia de $12.89\pm 1,45$ años y con 13.1 ± 8.8 años de media desde la menopausia (Tabla 13). A todas las pacientes les fue requerido consentimiento informado (ANEXO 4, página 326), previo informe favorable del Comité de Bioética de la Universidad de Extremadura, de acuerdo a la Declaración de Helsinki de la Asamblea Médica Mundial (AMM, 1975).

Todas las pacientes fueron evaluadas a partir de una historia clínica completa, incluyendo particularmente el historial de fracturas, edad de la menarquia, número de hijos, número de embarazos, menopausia, estrogénoterapia, tratamiento recibido durante el periodo de estudio, así como un cuestionario dietético de siete días. Además, a todas las pacientes se les realizó un estudio densitométrico completo mediante DXA (a nivel de cadera y columna lumbar), procediendo a la extracción de ADN genómico a partir de muestras de saliva.

Los criterios de inclusión fueron:

- Tener una edad no inferior a 40 años ni superior a 80 años.
- Encontrarse en situación de postmenopausia confirmada.

- Capacidad para cumplimentar la encuesta dietética y monitorizar la ingesta de alimentos durante, al menos, una semana.
- Consentimiento informado por escrito de la voluntariedad de participar en el estudio.

Los criterios de exclusión fueron:

- Menopausia previa a los 40 años.
- Existencia de contraindicaciones para la realización de estudio densitométrico completo.
- Existencia de marcapasos o prótesis metálica.
- Realización de una densitometría en el último año.
- Pacientes con enfermedades concomitantes cuya esperanza de vida sea muy corta.
- Imposibilidad de obtención de muestra de saliva por inadecuada higiene oral o consumición previa de café o comida 30 minutos antes de dicha extracción.

Tabla 13: Factores antropométricos y sociodemográficos de la muestra de estudio.

FACTORES ANTROPOMÉTRICOS Y SOCIODEMOGRÁFICOS DE LA MUESTRA DE ESTUDIO						
		Media	SD	Mín.	Máx.	n
Características sociodemográficas	Edad (años)	60	8	42	78	210
	Edad Menarquia (años)	12,890	1,452	9	16	210
	Años Menopausia	13,1	8,8	0	38	210
	Nº Embarazos	3	2	0	11	210
	Nº Hijos	2	2	0	9	210
Factores antropométricos	Peso (kg)	62,9	10	42,6	92,3	210
	Talla (m)	1,539	0,056	1,390	1,680	210
	IMC (kg/m ²)	26,594	4,303	17,831	39,430	210

SD, standar deviation; Mín., mínimo; Máx., Máximo; n, tamaño muestral; IMC, Índice de Masa Corporal.

10.1.1. Subgrupos de la muestra de estudio

Se estratificó a las mujeres en base a la ingesta diaria de calcio y vitamina D, contenida en la encuesta dietética a partir del registro de alimentos consumidos durante 7 días y su transformación a unidades (mg) diarias de calcio y vitamina D, conforme a las recomendaciones para la población española adulta (Moreiras, 2009) (Ej. RDA de la Unión Europea y autoridades españolas). Atendiendo a la ingesta diaria de calcio, las mujeres quedaron estratificadas en: ingesta de calcio baja (0-800 mg/día), ingesta de calcio normal (800-1200 mg/día) e ingesta de calcio alta (> 1200 mg/día), no existieron datos de la ingesta de calcio diarias correspondientes a 36 pacientes. Atendiendo a la ingesta diaria de vitamina D, las mujeres se estratificaron en los siguientes grupos: ingesta de vitamina D baja (< 15 µg/día), ingesta adecuada de vitamina D (> 15 µg/día), no existiendo datos de la ingesta de vitamina D diaria correspondiente a 34 pacientes.

Además, las participantes fueron clasificadas según el criterio diagnóstico de osteopenia/osteoporosis descrito por la OMS estableciendo 3 grupos: normal (T-score >-1) (n=30), osteopénicas (T-score <-1 y >-2.5) (n=30) y osteoporóticas (T-score <-2.5) (n=150).

10.2. Material y Métodos

Se partió de un diseño transversal-observacional. Para poner a prueba las hipótesis del estudio, se llevó a cabo la siguiente estrategia metodológica:

1. Obtención de datos demográficos, antropométricos, dietéticos, densitométricos, junto con los antecedentes personales de fracturas, historia hormonal y reproductiva, estilo de vida y encuesta dietética.
2. Obtención de ADN genómico a partir de saliva de mujeres españolas postmenopáusicas.
3. Aislamiento del ADN genómico.
4. Cuantificación de muestras genómicas mediante medición espectrofotométrica de la cantidad de radiación UV absorbida por las bases a 260 nm.
5. Evaluación de los polimorfismos del gen del receptor de la vitamina D.
6. Procesamiento y análisis estadístico de los datos.

10.3. Procedimientos de la medida

10.3.1. Índice de Masa Corporal

La altura se valoró mediante un estadiómetro tipo Harpenden y el peso mediante balanza biomédica de precisión. El IMC fue calculado a partir de la división del peso por el cuadrado de la talla (Kg/m^2). Las

pacientes fueron clasificadas en función de la clasificación propuesta por la OMS del estado nutricional de acuerdo al IMC (Tabla 14) (James, Leach, Kalamara, & Shayeghi, 2001).

Tabla 14: Clasificación del estado nutricional a partir del IMC (OMS).

Clasificación del estado nutricional	IMC (Kg/m ²)
Bajo Peso	< 18.5
Peso Normal	18.5 a 24.9
Sobrepeso	≥ 25
Preobesidad	25.0 a 29.9
Obesidad Tipo I	30.0 a 34.9
Obesidad Tipo 2	35.0 a 39.9
Obesidad Tipo 3	≥ 40

Tomado de James (James, et al., 2001).

10.3.2. Encuesta Dietética

Para evaluar los hábitos alimentarios de la muestra estudiada, se utilizó un cuestionario de consumo de alimentos que incorpora 131 ítems, los cuales recogen la ingesta de alimentos durante 7 días (Pedrera-Zamorano, et al., 2009). La ingesta semanal de nutrientes fue transformada mediante “*Tablas de composición de alimentos*” (Moreiras, 2009). Con el objetivo de facilitar el interrogatorio, todos los alimentos fueron codificados en forma de raciones de uso normalizado.

En el ANEXO 1 (página 323) se muestra un ejemplo de la primera página del cuestionario administrado.

10.3.3. Análisis de la Densidad Mineral Ósea

A todas las mujeres participantes en el estudio se les hicieron valoraciones de los niveles de densidad mineral ósea a partir de densitometría mediante absorciometría de rayos X de energía dual (DXA) a nivel de columna lumbar (L2, L3, L4 y L2-L4), cuello femoral, trocánter y triángulo de Ward.

El densitómetro determina el contenido mineral óseo (gramos) y el área (cm²) en las localizaciones arriba descritas. De esta manera permite calcular automáticamente la DMO en gramos/cm². Para cada mujer, se calcularon las puntuaciones T-score y Z-score correspondientes. El T-score consiste en una comparación del valor promedio de la DMO del paciente con una muestra de mujeres sanas de referencia del mismo sexo y etnia. Este índice es utilizado habitualmente para calcular el riesgo de desarrollar una fractura en un sujeto determinado. Las puntuaciones Z-score reflejan el número de desviaciones estándar de un paciente con un valor promedio de DMO diferente del valor promedio por su edad, sexo y etnia. Estos valores son utilizados habitualmente en pacientes premenopáusicas.

Tal y como se ha detallado en el apartado 5.5 (página 135), los criterios diagnósticos de osteoporosis basados en la masa ósea, que clasifican a las pacientes de acuerdo al T-score fueron establecidos por la OMS en 1994 (Group, 1994):

1. **Normal:** T-score mayor de -1.
2. **Osteopenia:** T-score igual o menor a -1 y mayor de -2,5.
3. **Osteoporosis:** T-score igual o menor a -2,5.
4. **Osteoporosis grave o establecida:** cuando la osteoporosis densitométrica se acompaña de al menos una fractura por fragilidad.

El equipo utilizado fue un absorciómetro óseo marca NORLAND EXCELL[®] (Norland Corp[®], Fort Atkinson, Wisconsin, USA), calibrado de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Las imágenes obtenidas fueron procesadas mediante el software propio del densitómetro y almacenadas en ordenador. El control de calidad que se utilizó para determinar el coeficiente de variación intrínseco del aparato fue un fantoma diseñado específicamente para el absorciómetro, escaneándose previamente a la realización de densitometrías. Todas las mediciones de la DMO fueron realizadas por el mismo investigador y mediante el mismo absorciómetro.

Los datos de salida del absorciómetro aparecen detallados en el ANEXO 2 y ANEXO 3 (páginas 324 y 325 respectivamente).



Figura 12: Densitómetro NORLAND EXCELL[®] del Laboratorio GIEMO.

X

10.3.4. Análisis y evaluación de los polimorfismos del gen del VDR

El análisis y evaluación de los polimorfismos del gen del VDR contempló varias fases del estudio: 1. Obtención de ADN genómico a partir de muestras de saliva; 2. Aislamiento del ADN genómico; 3. Cuantificación de muestras genómicas mediante medición espectrofotométrica; 4. Evaluación de los polimorfismos del gen del VDR.

Obtención de ADN genómico a partir de muestras de saliva.

La obtención del ADN genómico se obtuvo a partir de la realización de frotis bucales a partir de escobillones de espuma (Ref.RET04) contenidos en el “*Realpure Turbo Tissues and Cells Kit[®]*” (REAL[®], Durviz s.l.) (Ref. RBMET03 100 TEST) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se informó a las pacientes de la necesidad de abstenerse de beber café y tomar comida alguna, al menos 30 minutos antes de dicha recogida (en los casos en los que no fue posible se realizó lavado suave con agua).

Para recoger la muestra de células bucales con el escobillón, se procedió a la realización de frotis en el interior de la mejilla y encías con una firme presión unas 20 veces por cada lado de la cara y cada lado del escobillón. Posterior a ello, se secaba la muestra unos 15 minutos a temperatura ambiente y se almacenaba a -20°C.

Aislamiento del ADN genómico.

Una vez obtenidas las diferentes muestras a partir de saliva de las mujeres participantes en el estudio, se procedió al aislamiento del ADN listo para PCR (Polymerase Chain Reaction). Para el aislamiento se empleó el “*Realpure Turbo Tissues and Cells Kit[®]*” (REAL[®], Durviz s.l.) (Ref. RBMET03 100 TEST). El kit contiene 20ml de solución de lisis (Ref.RET01) y 20 ml de solución de neutralización (Ref.RET02), conservados a 4°C. El protocolo de extracción de ADN se hizo de acuerdo al

siguiente esquema: se procedió a añadir 200 µl de solución de lisis (Ref.RET01) en un microtubo de 1.5 ml para posteriormente añadir el escobillón en dicha solución y hacerlo girar unas 10 veces sobre las paredes del microtubo. Tras este proceso, se agitó con vortex brevemente y se procedió a incubar dicha solución a 75°C durante 10 minutos. Finalmente, se añadieron 200 µl de solución de neutralización (Ref.RET02) mezclando bien con pipeta. El extracto neutralizado fue almacenado a 4°C hasta la realización de PCR.

Cuantificación de muestras genómicas mediante medición espectrofotométrica.

La concentración de ADN se determinó por medición espectrofotométrica de la cantidad de radiación UV absorbida por las bases a 260 nm mediante el espectrofotómetro Biowave II WPA[®] (Biochrom[®], Cambridge) (Figura 13). Se añadió 1 ml de agua destilada en una cubeta de cuarzo para UV, se calibró el espectrofotómetro a cero de absorbancia y se procedió a su vaciado; se añadieron nuevamente 695 µl de agua destilada y 5 µl de ADN aislado mezclando bien por pipeteado, procediendo finalmente a su cuantificación. Las lecturas se tomaron a 260 nm y 280 nm, mediante un factor de dilución de 140. La relación DO_{260}/DO_{280} osciló entre 1.8 y 2.0.



Figura 13: Espectrofotómetro Biowave II WPA[®] del Laboratorio GIEMO.

Evaluación de los polimorfismos del gen del VDR.

La determinación de los SNPs del VDR, *BsmI* y *Apal*, se realizó a partir de ADN obtenido de una muestra de saliva por medio de ensayo TaqMan, el cual utiliza la actividad 5' nucleasa de la Taq polimerasa junto con 2 sondas TaqMan para discriminar entre los dos alelos de un SNP. La PCR en tiempo real se realizó según protocolo oficial *TaqMan Universal PCR* (Applied Biosystems[®]),

BsmI: rs1544410; *Apal*: rs7975232. Para la realización de la PCR se utilizó un termociclador 7300 Real Time PCR System (Applied Biosystems[®], Foster, USA) consistente en un ciclo de 1 minuto a 60°C, un ciclo de activación de la polimerasa a 95°C durante 10 minutos, 40 ciclos a 95°C durante 15 segundos y 60°C durante 1 minuto, seguido de 1 ciclo de 1 minuto a 60°C. La detección de fluorescencia tiene lugar a una temperatura de 60°C.

10.4. Análisis estadístico.

Pruebas estadísticas

Todos los valores fueron expresados como media y desviación típicas. Se confirmó la distribución normal de los datos mediante el cálculo de la asimetría y curtosis, así como con la prueba K-S de bondad de ajuste y test de Shapiro-Wilk antes de aplicar las pruebas estándar. También fue realizada la prueba de Grubbs para la detección de *outliers* en la muestra.

Así mismo se compararon los parámetros (variables continuas) para cada subgrupo (variables nominales) usando t-test o el análisis de varianza (*two-way ANOVA*) con la prueba post-hoc de diferencia de medias entre grupos de Bonferroni/Dunn.

Con el propósito de examinar las relaciones entre las variables continuas, fueron utilizadas la regresión simple y múltiple (*multiple-stepwise regression*), así como las correlaciones

parciales ajustadas por [edad&IMC], [ingesta de calcio diaria] e [ingesta de calcio diaria + edad&IMC].

Para todas las pruebas estadísticas, nuestro umbral de significación fue $p=0.05$.

Para la realización de todas las pruebas estadísticas se utilizó el software IBM® SPSS® Statistics 20 (Statistical Package for the Social Sciences), ya que ofrece una amplia gama de algoritmos y técnicas predictivas, incluyendo procedimientos para los modelos lineales generales (MLG), así como técnicas de segmentación por análisis factorial.

Equilibrio Hardy-Weinberg (EHW).

En una población, las proporciones relativas de los diferentes genotipos se mantienen constantes de una generación a otra, asegurando así la diversidad. La proporción de los genotipos de una población se mantendrá constante si el tamaño de la muestra es apropiado (Rodríguez, Gaunt, & Day, 2009). Esto se conoce como equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW). Para que esta ley se cumpla, son requisitos imprescindibles la panmixia (uniones al azar) y la ausencia de influencias externas, es decir, la ausencia de presión selectiva. La manera más habitual de realizarlo es mediante un análisis de bondad de ajuste chi-cuadrado (*goodnes-of-fit* χ^2). La hipótesis nula consiste en mantener que los alelos son elegidos al azar, cumpliéndose de esta manera las proporciones esperadas según este principio

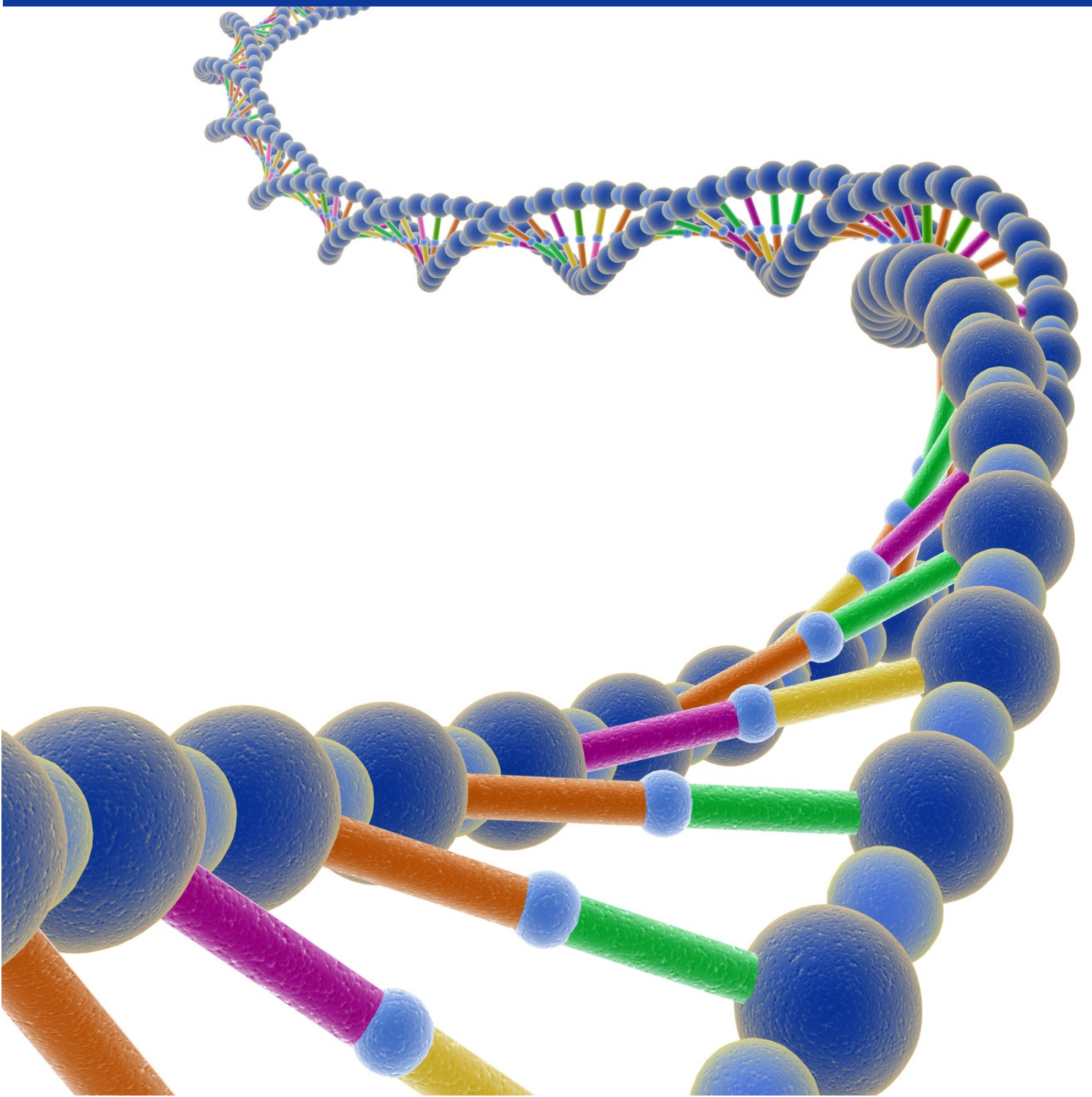
$(p^2 + q^2 + 2pq = 1)$. Este test tiene $k(k-1)/2$ grados de libertad (gl) siendo k el número de alelos posibles en el locus en estudio.

10.5. Consideraciones éticas.

El presente estudio se ajustó en todo momento a los principios éticos y normas legales establecidos, y en especial a lo referido a la siguiente normativa:

- La Declaración de Helsinki (Asamblea Médica Mundial).
- El Convenio del Consejo de Europa relativo a los derechos humanos y la biomedicina.
- La Declaración Universal de la UNESCO sobre el genoma humano y los derechos humanos.
- Se han tenido en consideración los requisitos establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica, la protección de datos de carácter personal y la bioética, la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica referente a la investigación en humanos o la utilización de muestras de origen humano, así como el Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero, relativo a los proyectos que comporten ensayos clínicos.
- Se ha respetado la normativa Europea y legislación española respecto a la ley orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal.

RESULTADOS



11.1. Caracterización de la muestra de estudio: factores biológicos, antropométricos, dietéticos y de densidad mineral ósea

Las características de la muestra de estudio, en relación a los factores antropométricos, biológicos y de DMO se muestran en la Tabla 15. La edad media de las participantes fue de 60±8 años con una edad media de menarquia de 12.89±1.45 años y con 13.1±8.8 años de media desde la menopausia. El IMC medio de la muestra fue de 26.59±4.30 kg/m². En cuanto a las determinaciones de DMO en las diferentes regiones corporales la máxima se obtuvo en L3 (3ª vértebra lumbar) con 0.808±0.167 gr/cm² de hidroxapatita y la menor en TW (Triángulo de Ward) con 0.518±0.113 gr/cm².

Tabla 15: Factores antropométricos, biológicos y de DMO de la muestra de estudio.

FACTORES ANTROPOMÉTRICOS, BIOLÓGICOS Y DMO DE LA MUESTRA DE ESTUDIO						
		Media	SD	Mín.	Máx.	n
Características sociodemográficas	Edad (años)	60	8	42	78	210
	Edad Menarquia (años)	12,890	1,452	9	16	210
	Años Menopausia	13,1	8,8	0	38	210
	Nº Embarazos	3	2	0	11	210
	Nº Hijos	2	2	0	9	210
Factores antropométricos	Peso (kg)	62,9	10	42,6	92,3	210
	Talla (m)	1,539	0,056	1,390	1,680	210
	IMC (kg/m ²)	26,594	4,303	17,831	39,430	210
DMO	Cuello Femoral (g/cm ²)	0,736	0,118	0,401	1,139	210
	Trocánter (g/cm ²)	0,579	0,107	0,268	0,955	210
	Triángulo de Ward (g/cm ²)	0,518	0,113	0,235	0,989	210
	Columna - L2 (g/cm ²)	0,802	0,157	0,431	1,380	210
	Columna - L3 (g/cm ²)	0,808	0,167	0,401	1,385	210
	Columna - L4 (g/cm ²)	0,779	0,159	0,416	1,316	210
Columna - L2-L4 (g/cm ²)	0,796	0,156	0,418	1,310	210	

SD, standar deviation; Mín., mínimo; Máx., Máximo; n, tamaño muestral; DMO, Densidad Mineral Ósea; IMC, Índice de Masa Corporal; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

Cuando se aplicaron los criterios de la OMS para el diagnóstico de osteoporosis basados en el T-score el 14.3% de la muestra (n=30) fue clasificado como normal, otro 14.3% (n=30) como osteopénica y un total de 150 mujeres (71.4%) como osteoporóticas. La distribución del T-score por áreas corporales se muestra en la Tabla 16. El valor menor medio se obtuvo en L4 (4ª vértebra lumbar) con T-score=-2.4±1.4 y el valor mayor medio se obtuvo en el TW (T-score=0.2±1.0).

Tabla 16: Distribución del T-score por áreas corporales.

T-score Área Corporal	Media	SD
Cuello Femoral	-0,949	1,090
Trocánter	-0,093	1,101
Triángulo de Ward	0,214	1,021
Columna - L2	-1,841	1,401
Columna - L3	-2,036	1,516
Columna - L4	-2,435	1,474
Columna - L2-L4	-2,401	1,500

SD, standar deviation; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

La Tabla 17 muestra la distribución en función del diagnóstico OMS de la DMO y los T-scores por áreas corporales en las mujeres estudiadas.

Tabla 17: Distribución de valores DMO y T-score por áreas corporales en función del diagnóstico de la Organización Mundial de la Salud.

		NORMAL (n=30)		OSTEOPENIA (n=30)		OSTEOPOROSIS (n=150)	
		Media	SD	Media	SD	Media	SD
DMO	Cuello Femoral (g/cm ²)	0,910	0,092	0,748	0,065	0,699	0,097
	Trocánter (g/cm ²)	0,736	0,087	0,578	0,083	0,548	0,085
	Triángulo de Ward (g/cm ²)	0,682	0,101	0,529	0,075	0,483	0,090
	Columna - L2 (g/cm ²)	1,124	0,092	0,806	0,047	0,737	0,085
	Columna - L3 (g/cm ²)	1,154	0,126	0,796	0,092	0,742	0,076
	Columna - L4 (g/cm ²)	1,116	0,096	0,803	0,042	0,706	0,073
	Columna - L2-L4 (g/cm ²)	1,134	0,094	0,804	0,036	0,727	0,069
T-score	Cuello Femoral	0,685	0,781	-0,845	0,602	-1,297	0,904
	Trocánter	1,559	0,908	-0,188	0,702	-0,404	0,892
	Triángulo de Ward	1,725	0,930	0,234	0,499	-0,092	0,832
	Columna - L2	1,043	0,822	-1,809	0,415	-2,424	0,755
	Columna - L3	1,057	1,110	-2,066	0,466	-2,649	0,799
	Columna - L4	0,664	0,888	-2,157	0,242	-3,109	0,680
	Columna - L2-L4	0,805	0,906	-2,311	0,383	-3,060	0,678

SD, standar deviation; DMO, Densidad Mineral Ósea; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

Aplicando el criterio de clasificación de la OMS, no se observaron diferencias entre los grupos en la edad, edad de menarquia, número de embarazos, número de hijos, ingesta diaria de vitamina D e ingesta diaria de calcio y fósforo ($P > 0.05$ en todos los casos) (Tabla 18). Sin embargo, se han observado diferencias significativas entre los grupos en el peso, entre normales y osteoporóticas, siendo el peso medio de las primeras significativamente mayor que el de las segundas ($P < 0.05$) (68.8 ± 7.9 kg vs 61.3 ± 9.5 kg). Igualmente se han observado diferencias en los dos grupos anteriormente reseñados en la talla, con una talla media en metros de 1.56 ± 0.5 vs 1.53 ± 0.5 . La misma diferencia en los grupos citados se observa en el IMC siendo el del grupo

normal significativamente superior al del grupo osteoporosis con un $28.29 \pm 3.90 \text{ kg/m}^2$ vs $26.10 \pm 4.05 \text{ kg/m}^2$.

Tabla 18: Distribución de factores antropométricos y biológicos en función del diagnóstico de la Organización Mundial de la Salud.

	NORMAL (n=30)		OSTEOPENIA (n=30)		OSTEOPOROSIS (n=150)		Sig.
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	
Edad (Años)	60	9	61	8	60	8	n.s. ^a
Edad Menarquia	12,7	1,343	13,4	1,476	12,827	1,455	n.s. ^a
Nº Embarazos	3	2	3	2	3	2	n.s. ^a
Nº Hijos	3	2	2	1	2	1	n.s. ^a
Peso (kg)	68,8	7,9	64,6	12,0	61,3	9,5	n.s. ^b ; $p < 0,05^c$
Talla (m)	1,562	0,051	1,540	0,049	1,534	0,057	n.s. ^b ; $p < 0,05^c$
IMC (kg/m ²)	28,295	3,906	27,344	5,390	26,104	4,051	n.s. ^b ; $p < 0,05^c$
Vitamina D (mg)	0,007	0,007	0,006	0,007	0,009	0,017	n.s. ^a
Ca (mg)	1077,318	471,995	1240,269	559,722	1194,826	493,896	n.s. ^a
P (mg)	1462	528	1522	669	1566	610	n.s. ^a

^aNo existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (normal, osteopenia y osteoporosis).

^bNo existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (normal-osteopenia y osteopenia-osteoporosis).

^cComparación entre grupo normal y osteoporosis.

SD, standar deviation; Sig, significación estadística; IMC, índice de masa corporal; Ca, Calcio; P, Fósforo.

11.2. Distribución de genotipos frecuentes del gen del VDR (*BsmI* y *Apal*) en la muestra de estudio

En cuanto al genotipo *BsmI* en la muestra de estudio se han observado un 41.4% (n=87) de genotipos *bb*, 45.2% (n=95) de genotipos *Bb* y 13.3% (n=28) de genotipos *BB*. La distribución de genotipos *Apal* fue de 25.7% (n=54) *aa*, 45.7% (n=96) *Aa* y 28.6% (n=60) *AA*. La distribución de ambos genotipos en la muestra de estudio conforme al diagnóstico de osteopenia/osteoporosis según

la OMS se muestra en la Tabla 19. No se han observado diferencias significativas en la distribución de los genotipos conforme al diagnóstico OMS ($P=0.114$ para *BsmI* y $P=0.416$ para *Apal*). La prevalencia del genotipo combinado *BsmI/Apal* se muestra en la Tabla 20, no se han observado diferencias significativas ($P>0.05$) en la distribución de los mismos.

Tabla 19: Distribución de genotipos *BsmI* y *Apal* del gen del VDR en función del diagnóstico de la Organización Mundial de la Salud.

		NORMAL (n=30)		OSTEOPENIA (n=30)		OSTEOPOROSIS (n=150)	
		Recuento	%	Recuento	%	Recuento	%
Genotipo <i>BsmI</i>	<i>bb</i>	8	26,7	12	40	67	44,7
	<i>Bb</i>	19	63,3	11	36,7	65	43,3
	<i>BB</i>	3	10	7	23,3	18	12
Genotipo <i>Apal</i>	<i>aa</i>	7	23,3	12	40	35	23,3
	<i>Aa</i>	14	46,7	12	40	70	46,7
	<i>AA</i>	9	30	6	20	45	30

AA, ausencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; *Aa*, heterocigóticos; *aa*, presencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; *BB*, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Bb*, heterocigóticos; *bb*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos.

Las frecuencias alélicas correspondientes al genotipo *BsmI* son del 64.05% para el alelo *b* y del 35.95% para el alelo *B*. La distribución de los genotipos correspondientes se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($P=0.79$). Respecto del genotipo *Apal*, las frecuencias alélicas para los alelos *a* y *A* son respectivamente 48.57% y 51.43% con una $P=0.21$ compatible con un equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 20: Prevalencia de genotipos combinados de los polimorfismos *BsmI* y *Apal* del VDR.

Genotipo Combinado	Recuento		%
<i>bbaa</i>	24		11,4
<i>bbAa</i>	40		19
<i>bbAA</i>	23		11
<i>Bbaa</i>	23		11
<i>BbAa</i>	46		21,9
<i>BbAA</i>	26		12,4
<i>BBaa</i>	7		3,3
<i>BBAa</i>	10		4,8
<i>BBAA</i>	11		5,2

bbaa, presencia de las enzimas de restricción *BsmI* y *Apal* en ambos alelos; *bbAa*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos heterocigótico para la enzima de restricción *Apal*; *bbAA*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* y ausencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; *Bbaa*, heterocigótico para la enzima de restricción *BsmI* y presencia de la enzima de restricción *Apal*; *BbAa*, heterocigótico para las enzimas de restricción *BsmI* y *Apal*; *BbAA*, heterocigótico para la enzima de restricción *BsmI* y ausencia de la enzima de restricción *Apal*; *BBaa*, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* y presencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; *BBAa*, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos heterocigótico para la enzima de restricción *Apal*; *BBAA*, ausencia de las enzimas de restricción *BsmI* y *Apal* en ambos alelos.

11.3. Factores biológicos, antropométricos y densidad mineral ósea: distribución según el genotipo

La distribución de la edad, peso, talla, IMC, edad de menarquia, años desde la menopausia, número de embarazos y número de hijos en función del genotipo *BsmI* se muestra en la Tabla 21. No se han observado diferencias significativas en la distribución ($P > 0.05$) en ninguno de los casos. Igualmente, en la Tabla 22 se muestra la distribución de los factores anteriores en función del genotipo *Apal*, no encontrándose diferencias significativas en la misma en ninguno de los casos ($P > 0.05$).

Tabla 21: Distribución de factores antropométricos y biológicos en función de los genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR.

	Genotipo <i>BsmI</i>						Sig.
	<i>bb</i> (n=87)		<i>Bb</i> (n=95)		<i>BB</i> (n=28)		
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	
Edad (años)	60	8	60	8	61	9	n.s.
Edad Menarquia	13,034	1,442	12,789	1,458	12,786	1,475	n.s.
Años de Menopausia	12,8	8,1	12,6	9,1	15,7	9,5	n.s.
Nº Embarazos	3	2	3	2	3	2	n.s.
Nº Hijos	3	2	2	1	3	1	n.s.
Peso (Kg)	61,9	10,0	64,0	9,9	62,1	10,4	n.s.
Talla (m)	1,541	0,053	1,539	0,058	1,532	0,060	n.s.
IMC (kg/m ²)	26,069	4,021	27,104	4,500	26,498	4,418	n.s.

BB, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Bb*, heterocigóticos; *bb*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; SD, standar deviation; Sig., significación estadística; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR; IMC, índice de masa corporal.

Tabla 22: Distribución de factores antropométricos y biológicos en función de los genotipos del polimorfismo *ApaI* del VDR.

	Genotipo <i>ApaI</i>						Sig.
	<i>aa</i> (n=54)		<i>Aa</i> (n=96)		<i>AA</i> (n=60)		
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	
Edad (años)	60	8	61	8	60	8	n.s.
Edad Menarquia	12,963	1,387	12,938	1,520	12,750	1,410	n.s.
Años de Menopausia	12,3	9,4	13,7	8,2	12,9	9,2	n.s.
Nº Embarazos	2	1	3	2	3	2	n.s.
Nº Hijos	2	1	3	2	2	2	n.s.
Peso (Kg)	64,4	10,3	62,7	10,1	61,8	9,7	n.s.
Talla (m)	1,541	0,063	1,542	0,053	1,531	0,053	n.s.
IMC (kg/m ²)	27,127	4,050	26,428	4,515	26,382	4,205	n.s.

AA, ausencia de la enzima de restricción *ApaI* en ambos alelos; *Aa*, heterocigóticos; *aa*, presencia de la enzima de restricción *ApaI* en ambos alelos; SD, standar deviation; Sig., significación estadística; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *ApaI* del VDR; IMC, índice de masa corporal.

En cuanto a la DMO, no existen diferencias significativas en la distribución de la misma en función tanto del genotipo *BsmI* como del genotipo *ApaI* ($P>0.05$) (Tabla 23 y Tabla 24).

Las participantes fueron clasificadas según el criterio diagnóstico de osteopenia/osteoporosis de la OMS y posteriormente según su genotipo *BsmI* o *ApaI*. En cuanto al genotipo *BsmI*, no se observaron diferencias en las mujeres clasificadas como normales (T-score >-1) u osteoporóticas (T-score <-2.5) ($P>0.05$ para todas las áreas corporales estudiadas). En el grupo de mujeres osteopénicas (T-score <-1 y >-2.5) se encontraron diferencias significativas entre los genotipos *Bb* y *bb* a nivel de L2 ($P<0.05$). Las mujeres osteopénicas con genotipo *bb* tuvieron en esa región corporal significativamente una DMO mayor (0.825 ± 0.039 g/cm²) que las mujeres con genotipo *Bb* (0.777 ± 0.048 g/cm²) ($P<0.05$) (Tabla 25).

Tabla 23: Distribución de los valores DMO en función de los genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR.

	Genotipo <i>BsmI</i>						
	<i>bb</i> (n=87)		<i>Bb</i> (n=95)		<i>BB</i> (n=28)		Sig.
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	
DMO Cuello Femoral (g/cm²)	0,724	0,111	0,746	0,129	0,739	0,093	n.s.
DMO Trocánter (g/cm²)	0,571	0,094	0,586	0,122	0,580	0,090	n.s.
DMO Tri Ward (g/cm²)	0,509	0,101	0,525	0,129	0,523	0,087	n.s.
DMO L2 (g/cm²)	0,790	0,138	0,819	0,178	0,781	0,131	n.s.
DMO L3 (g/cm²)	0,791	0,136	0,831	0,197	0,786	0,131	n.s.
DMO L4 (g/cm²)	0,765	0,125	0,796	0,192	0,760	0,130	n.s.
DMO L2-L4 (g/cm²)	0,783	0,126	0,815	0,187	0,775	0,125	n.s.

BB, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Bb*, heterocigóticos; *bb*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; SD, standar deviation; Sig., significación estadística; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR; DMO, densidad mineral ósea; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

Tabla 24: Distribución de los valores DMO en función de los genotipos del polimorfismo *ApaI* del VDR.

	Genotipo <i>ApaI</i>						
	<i>aa</i> (n=54)		<i>Aa</i> (n=96)		<i>AA</i> (n=60)		Sig.
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	
DMO Cuello Femoral (g/cm²)	0,724	0,111	0,739	0,125	0,744	0,114	n.s.
DMO Trocánter (g/cm²)	0,584	0,112	0,574	0,108	0,585	0,104	n.s.
DMO Tri Ward (g/cm²)	0,508	0,106	0,518	0,116	0,529	0,117	n.s.
DMO L2 (g/cm²)	0,808	0,133	0,794	0,162	0,812	0,171	n.s.
DMO L3 (g/cm²)	0,807	0,149	0,802	0,171	0,821	0,178	n.s.
DMO L4 (g/cm²)	0,785	0,150	0,773	0,168	0,783	0,157	n.s.
DMO L2-L4 (g/cm²)	0,802	0,136	0,789	0,163	0,804	0,166	n.s.

AA, ausencia de la enzima de restricción *ApaI* en ambos alelos; *Aa*, heterocigóticos; *aa*, presencia de la enzima de restricción *ApaI* en ambos alelos; SD, standar deviation; Sig., significación estadística; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *ApaI* del VDR; DMO, densidad mineral ósea; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

Tabla 25: Distribución de valores DMO por áreas corporales en función del polimorfismo *BsmI* del VDR y el diagnóstico de la Organización Mundial de la Salud.

	NORMAL			OSTEOPENIA			OSTEOPOROSIS			Sig.
	Genotipo <i>BsmI</i>			Genotipo <i>BsmI</i>			Genotipo <i>BsmI</i>			
	<i>bb</i> (n=8)	<i>Bb</i> (n=19)	<i>BB</i> (n=3)	<i>bb</i> (n=12)	<i>Bb</i> (n=11)	<i>BB</i> (n=7)	<i>bb</i> (n=67)	<i>Bb</i> (n=65)	<i>BB</i> (n=18)	
Cuello Femoral										
DMO (g/cm ²)	0,929 (0,090)	0,910 (0,099)	0,864 (0,006)	0,739 (0,071)	0,763 (0,058)	0,739 (0,070)	0,697 (0,093)	0,696 (0,103)	0,717 (0,094)	n.s. ^a
Trocánter										
DMO (g/cm ²)	0,766 (0,111)	0,735 (0,073)	0,663 (0,089)	0,555 (0,033)	0,585 (0,121)	0,603 (0,069)	0,550 (0,071)	0,543 (0,098)	0,557 (0,091)	n.s. ^a
Tri Ward										
DMO (g/cm ²)	0,712 (0,093)	0,676 (0,109)	0,639 (0,060)	0,513 (0,055)	0,540 (0,104)	0,540 (0,053)	0,484 (0,079)	0,479 (0,102)	0,497 (0,086)	n.s. ^a
Col. - L2										
DMO (g/cm ²)	1,147 (0,114)	1,125 (0,086)	1,060 (0,045)	0,825 (0,039)	0,777 (0,048)	0,818 (0,041)	0,741 (0,072)	0,737 (0,096)	0,720 (0,092)	n.s. ^b
Col. - L3										
DMO (g/cm ²)	1,138 (0,109)	1,169 (0,140)	1,105 (0,079)	0,781 (0,123)	0,806 (0,083)	0,805 (0,023)	0,751 (0,064)	0,736 (0,087)	0,726 (0,069)	n.s. ^a
Col. - L4										
DMO (g/cm ²)	1,099 (0,094)	1,132 (0,097)	1,055 (0,090)	0,803 (0,020)	0,800 (0,067)	0,810 (0,016)	0,719 (0,060)	0,698 (0,086)	0,691 (0,066)	n.s. ^a
Col. - L2-L4										
DMO (g/cm ²)	1,127 (0,097)	1,146 (0,099)	1,074 (0,026)	0,813 (0,012)	0,791 (0,057)	0,810 (0,011)	0,736 (0,054)	0,722 (0,081)	0,711 (0,064)	n.s. ^a

^aNo existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (normal, osteopenia y osteoporosis) y ninguno de los genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR.

^bNo existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (normal y osteoporosis) y ninguno de los genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR.

^cComparación en el grupo de osteopenia de los genotipos *bb* y *Bb* del polimorfismo *BsmI* del VDR.
BB, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Bb*, heterocigóticos; *bb*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; SD, standard deviation; Sig, significación estadística; DMO, densidad mineral ósea; Tri Ward, Triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

Tabla 26: Distribución de valores DMO por áreas corporales en función del polimorfismo *Apal* del VDR y el diagnóstico de la Organización Mundial de la Salud.

	NORMAL						OSTEOPENIA						OSTEOPOROSIS						Sig.
	AA (n=7)		AA (n=14)		AA (n=9)		AA (n=12)		AA (n=12)		AA (n=6)		AA (n=35)		AA (n=70)		AA (n=45)		
	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	
Cuello Femoral DMO (g/cm ³)	0,896 (0,051)	0,927 (0,084)	0,896 (0,127)	0,714 (0,063)	0,760 (0,059)	0,791 (0,051)	0,693 (0,101)	0,697 (0,102)	0,707 (0,087)	n.s. ^b									
Trocánter DMO (g/cm ³)	0,784 (0,059)	0,726 (0,092)	0,715 (0,091)	0,561 (0,063)	0,558 (0,068)	0,649 (0,114)	0,551 (0,089)	0,545 (0,089)	0,549 (0,078)	n.s. ^a									
Tri Ward DMO (g/cm ³)	0,671 (0,064)	0,688 (0,084)	0,680 (0,149)	0,498 (0,056)	0,520 (0,046)	0,609 (0,105)	0,478 (0,096)	0,484 (0,098)	0,487 (0,074)	p<0,05 ^c									
Col. - L2 DMO (g/cm ³)	1,095 (0,060)	1,127 (0,095)	1,142 (0,109)	0,805 (0,027)	0,803 (0,070)	0,815 (0,015)	0,750 (0,078)	0,725 (0,079)	0,744 (0,099)	n.s. ^a									
Col. - L3 DMO (g/cm ³)	1,123 (0,111)	1,156 (0,132)	1,175 (0,136)	0,788 (0,124)	0,783 (0,060)	0,837 (0,067)	0,750 (0,058)	0,734 (0,078)	0,747 (0,085)	n.s. ^a									
Col. - L4 DMO (g/cm ³)	1,118 (0,093)	1,124 (0,093)	1,101 (0,111)	0,809 (0,030)	0,795 (0,058)	0,810 (0,019)	0,709 (0,067)	0,699 (0,078)	0,715 (0,072)	n.s. ^a									
Col. - L2-L4 DMO (g/cm ³)	1,113 (0,075)	1,138 (0,095)	1,143 (0,113)	0,810 (0,014)	0,794 (0,054)	0,815 (0,010)	0,736 (0,057)	0,718 (0,068)	0,734 (0,077)	n.s. ^a									

^aNo existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (normal, osteopenia y osteoporosis) y ninguno de los genotipos del polimorfismo *Apal* del VDR.

^bNo existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (normal y osteoporosis) y ninguno de los genotipos del polimorfismo *Apal* del VDR.

^cComparación en el grupo de osteopenia de los genotipos *aa* y *AA* del polimorfismo *Apal* del VDR.

^dComparación en el grupo de osteopenia de los genotipos *Aa* y *AA* del polimorfismo *Apal* del VDR.

AA, ausencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; *Aa*, heterocigóticos; *aa*, presencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; SD, standard deviation; Sig, significación estadística; DMO, densidad mineral ósea; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

En cuanto al genotipo *Apal*, una vez clasificadas las participantes en función del criterio OMS, no se observaron diferencias significativas en ninguna de las regiones corporales estudiadas en la DMO de las mujeres normales y las osteoporóticas ($P>0.05$ en todos los casos) (Tabla 26). Sin embargo, en el grupo de mujeres osteopénicas, se han observado diferencias significativas en la DMO en el CF (Cuello Femoral) entre los genotipos *aa* y *AA* y en a nivel del TW entre los genotipos *aa* y *AA* y *AA* con *Aa* ($P<0.05$ en todos los casos). En todos los casos las mujeres con genotipo *AA* presentaron una DMO significativamente mayor. En el cuello femoral el genotipo *AA* presentó una DMO media de 0.791 ± 0.51 g/cm² frente a 0.714 ± 0.063 g/cm² del genotipo *aa* ($P<0.05$). Similarmente la DMO en el TW del genotipo *AA* (0.609 ± 0.105 g/cm²) fue significativamente mayor a la observada en los genotipos *aa* (0.498 ± 0.056 g/cm²) y *Aa* (0.520 ± 0.046 g/cm²) ($P<0.05$ en todos los casos) (Tabla 26).

XI

En la distribución de los T-scores por áreas corporales, no se observaron diferencias en la misma dentro del genotipo *BsmI* (Tabla 27) ($P>0.05$ en todos los casos), ni dentro del genotipo *Apal* (Tabla 28) ($P>0.05$ en todos los casos).

Al ajustar los resultados por edad, tampoco se han observado diferencias en la distribución de los Z-scores entre los diferentes genotipos, no encontrándose por tanto variaciones en el genotipo *BsmI* (Tabla 29) ($P>0.05$ en todos los casos) ni en el genotipo *Apal* (Tabla 30) ($P>0.05$ en todos los casos).

Tabla 27: Distribución de los valores T-score en función de los genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR.

	Genotipo <i>BsmI</i>						Sig.
	<i>bb</i> (n=87)		<i>Bb</i> (n=95)		<i>BB</i> (n=28)		
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	
T-score	-1,46	0,95	-1,65	1,22	-1,73	1,15	n.s.
T-score - Cuello Femoral	-1,068	1,037	-0,845	1,192	-0,932	0,865	n.s.
T-score - Trocánter	-0,168	0,985	-0,031	1,243	-0,069	0,943	n.s.
T-score - Tri Ward	0,143	0,930	0,263	1,155	0,270	0,803	n.s.
T-score - L2	-1,948	1,238	-1,681	1,592	-2,052	1,142	n.s.
T-score - L3	-2,120	1,279	-1,891	1,781	-2,268	1,180	n.s.
T-score - L4	-2,564	1,158	-2,261	1,774	-2,617	1,199	n.s.
T-score - L2-L4	-2,506	1,219	-2,247	1,789	-2,599	1,173	n.s.

BB, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Bb*, heterocigóticos; *bb*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; SD, standar deviation; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

Tabla 28: Distribución de los valores T-score en función de los genotipos del polimorfismo *ApaI* del VDR.

	Genotipo <i>ApaI</i>						Sig.
	<i>aa</i> (n=54)		<i>Aa</i> (n=96)		<i>AA</i> (n=60)		
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	
T-score	-1,50	0,93	-1,67	1,12	-1,52	1,23	n.s.
T-score - Cuello Femoral	-1,065	1,024	-0,930	1,149	-0,876	1,060	n.s.
T-score - Trocánter	-0,029	1,158	-0,138	1,121	-0,079	1,031	n.s.
T-score - Tri Ward	0,129	0,971	0,225	1,061	0,274	1,013	n.s.
T-score - L2	-1,793	1,184	-1,914	1,446	-1,768	1,518	n.s.
T-score - L3	-2,006	1,247	-2,142	1,544	-1,895	1,693	n.s.
T-score - L4	-2,390	1,386	-2,480	1,552	-2,405	1,446	n.s.
T-score - L2-L4	-2,285	1,288	-2,496	1,563	-2,353	1,588	n.s.

AA, ausencia de la enzima de restricción *ApaI* en ambos alelos; *Aa*, heterocigóticos; *aa*, presencia de la enzima de restricción *ApaI* en ambos alelos; SD, standar deviation; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *ApaI* del VDR; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

Tabla 29: Distribución de los valores Z-score (ajustados por edad) en función de los genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR.

	Genotipo <i>BsmI</i>						Sig.
	<i>bb</i> (n=87)		<i>Bb</i> (n=95)		<i>BB</i> (n=28)		
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	
Z-score	0,20	0,88	0,06	1,13	-0,05	0,97	n.s.
Z-score - Cuello Femoral	0,102	1,058	0,350	1,326	0,297	0,837	n.s.
Z-score - Trocánter	-0,037	0,977	0,102	1,258	0,120	0,950	n.s.
Z-score - Tri Ward	0,321	0,902	0,444	1,171	0,504	0,734	n.s.
Z-score - L2	-0,480	1,034	-0,217	1,409	-0,418	0,909	n.s.
Z-score - L3	-0,705	0,926	-0,452	1,558	-0,704	0,906	n.s.
Z-score - L4	-1,110	0,880	-0,858	1,401	-1,100	0,899	n.s.
Z-score - L2-L4	-0,809	0,952	-0,542	1,502	-0,705	0,955	n.s.

BB, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Bb*, heterocigóticos; *bb*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; SD, standar deviation; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

Tabla 30: Distribución de los valores Z-score (ajustados por edad) en función de los genotipos del polimorfismo *Apal* del VDR.

	Genotipo <i>Apal</i>						Sig.
	<i>aa</i> (n=54)		<i>Aa</i> (n=96)		<i>AA</i> (n=60)		
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	
Z-score	0,17	0,99	0,09	1,02	0,07	1,04	n.s.
Z-score - Cuello Femoral	0,110	1,036	0,290	1,267	0,278	1,110	n.s.
Z-score - Trocánter	0,119	1,124	0,011	1,147	0,039	1,043	n.s.
Z-score - Tri Ward	0,310	0,915	0,432	1,077	0,435	1,002	n.s.
Z-score - L2	-0,290	0,940	-0,391	1,273	-0,347	1,322	n.s.
Z-score - L3	-0,561	0,985	-0,609	1,290	-0,586	1,412	n.s.
Z-score - L4	-0,970	1,023	-1,011	1,221	-0,991	1,158	n.s.
Z-score - L2-L4	-0,640	0,979	-0,712	1,300	-0,642	1,343	n.s.

AA, ausencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; *Aa*, heterocigóticos; *aa*, presencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; SD, standar deviation; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *Apal* del VDR; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

Al analizar el genotipo combinado *BsmI/ApaI* no se han observado diferencias significativas en los T-scores en las diferentes áreas corporales estudiadas (Tabla 31), ni después de ajustar por edad (Tabla 32).

Tabla 31: Distribución de los valores T-score en función de los genotipos combinados de los polimorfismos *BsmI* y *ApaI* del VDR.

	GENOTIPO COMBINADO									Sig.
	<i>baaa</i>	<i>bbAa</i>	<i>bbAA</i>	<i>Bbaa</i>	<i>BbAa</i>	<i>BbAA</i>	<i>BBaa</i>	<i>BBAa</i>	<i>BBAA</i>	
	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	
T-score - Cuello	-1,138 (1,041)	-0,990 (1,151)	-1,129 (0,837)	-0,945 (1,043)	-0,888 (1,214)	-0,681 (1,301)	-1,206 (1,011)	-0,879 (0,901)	-0,805 (0,777)	n.s.
T-score - Femoral	-0,033 (1,116)	-0,159 (1,090)	-0,325 (0,583)	0,062 (1,281)	-0,118 (1,200)	0,040 (1,321)	-0,310 (0,969)	-0,146 (0,948)	0,154 (0,962)	n.s.
T-score - Trocánter	0,138 (1,047)	0,223 (1,014)	0,008 (0,619)	0,091 (0,923)	0,223 (1,168)	0,485 (1,315)	0,224 (0,991)	0,238 (0,776)	0,329 (0,778)	n.s.
T-score - Tri Ward	-1,786 (1,257)	-1,971 (1,430)	-2,078 (0,818)	-1,660 (1,210)	-1,848 (1,486)	-1,405 (2,035)	-2,254 (0,804)	-1,994 (1,466)	-1,975 (1,078)	n.s.
T-score - L2	-2,069 (1,126)	-2,168 (1,396)	-2,092 (1,269)	-1,801 (1,480)	-2,105 (1,698)	-1,593 (2,150)	-2,467 (0,653)	-2,206 (1,518)	-2,197 (1,181)	n.s.
T-score - L3	-2,588 (1,255)	-2,463 (1,267)	-2,716 (0,838)	-1,981 (1,558)	-2,494 (1,773)	-2,107 (1,961)	-3,054 (0,839)	-2,481 (1,688)	-2,462 (0,848)	n.s.
T-score - L4	-2,304 (1,236)	-2,517 (1,410)	-2,696 (0,779)	-2,107 (1,471)	-2,471 (1,706)	-1,973 (2,170)	-2,804 (0,643)	-2,530 (1,612)	-2,532 (1,045)	n.s.
T-score - L2-L4										

baaa, presencia de las enzimas de restricción *BsmI* y *ApaI* en ambos alelos; *bbAa*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos heterocigótico para la enzima de restricción *ApaI*; *bbAA*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* y ausencia de la enzima de restricción *ApaI* en ambos alelos; *Bbaa*, heterocigótico para la enzima de restricción *BsmI* y presencia de la enzima de restricción *ApaI*; *BbAa*, heterocigótico para las enzimas de restricción *BsmI* y *ApaI*; *BbAA*, heterocigótico para la enzima de restricción *BsmI* y ausencia de la enzima de restricción *ApaI*; *BBaa*, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* y presencia de la enzima de restricción *ApaI* en ambos alelos; *BBAa*, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos heterocigótico para la enzima de restricción *ApaI*; *BBAA*, ausencia de las enzimas de restricción *BsmI* y *ApaI* en ambos alelos; SD, standar deviation; Sig., significación estadística; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *ApaI* del VDR; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

Tabla 32: Distribución de los valores Z-score (ajustadas por edad) en función de los genotipos combinados de los polimorfismos *BsmI* y *Apal* del VDR.

	GENOTIPO COMBINADO									Sig.
	<i>bbaa</i>	<i>bbAa</i>	<i>bbAA</i>	<i>Bbaa</i>	<i>BbAa</i>	<i>BbAA</i>	<i>BBaa</i>	<i>BBAa</i>	<i>BBAA</i>	
	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	
Z-score	0,21 (0,74)	0,24 (0,86)	0,13 (1,04)	0,04 (1,26)	0,04 (1,09)	0,12 (1,14)	0,46 (0,73)	-0,34 (1,26)	-0,18 (0,79)	n.s.
Z-score - Cuello Femoral	-0,005 (1,036)	0,242 (1,183)	-0,030 (0,842)	0,203 (1,075)	0,354 (1,424)	0,472 (1,381)	0,200 (1,017)	0,186 (0,836)	0,459 (0,771)	n.s.
Z-score - Trocánter	0,086 (1,064)	0,006 (1,099)	-0,239 (0,589)	0,193 (1,271)	0,018 (1,238)	0,168 (1,323)	-0,013 (0,921)	-0,002 (0,993)	0,316 (0,986)	n.s.
Z-score - Tri Ward	0,301 (0,972)	0,451 (1,007)	0,118 (0,567)	0,247 (0,856)	0,416 (1,215)	0,668 (1,330)	0,549 (1,004)	0,431 (0,695)	0,543 (0,638)	n.s.
Z-score - L2	-0,373 (0,918)	-0,415 (1,196)	-0,702 (0,832)	-0,248 (1,059)	-0,323 (1,360)	-0,004 (1,756)	-0,144 (0,632)	-0,612 (1,259)	-0,416 (0,688)	n.s.
Z-score - L3	-0,676 (0,763)	-0,608 (1,108)	-0,904 (0,716)	-0,407 (1,282)	-0,566 (1,454)	-0,290 (1,954)	-0,671 (0,403)	-0,814 (1,277)	-0,624 (0,793)	n.s.
Z-score - L4	-1,157 (0,874)	-0,982 (0,947)	-1,282 (0,760)	-0,680 (1,224)	-1,011 (1,411)	-0,744 (1,549)	-1,277 (0,500)	-1,123 (1,375)	-0,966 (0,534)	n.s.
Z-score - L2-L4	-0,737 (0,810)	-0,724 (1,113)	-1,030 (0,763)	-0,473 (1,225)	-0,691 (1,461)	-0,338 (1,799)	-0,869 (0,438)	-0,759 (1,339)	-0,551 (0,827)	n.s.

bbaa, presencia de las enzimas de restricción *BsmI* y *Apal* en ambos alelos; *bbAa*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos heterocigótico para la enzima de restricción *Apal*; *bbAA*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* y ausencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; *Bbaa*, heterocigótico para la enzima de restricción *BsmI* y presencia de la enzima de restricción *Apal*; *BbAa*, heterocigótico para las enzimas de restricción *BsmI* y *Apal*; *BbAA*, heterocigótico para la enzima de restricción *BsmI* y ausencia de la enzima de restricción *Apal*; *BBaa*, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* y presencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; *BBAa*, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos heterocigótico para la enzima de restricción *Apal*; *BBAA*, ausencia de las enzimas de restricción *BsmI* y *Apal* en ambos alelos; SD, standar deviation; Sig., significación estadística; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *Apal* del VDR; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

XI

11.4. Relación entre la ingesta diaria de calcio y vitamina D, genotipo VDR y densidad mineral ósea

Las participantes fueron clasificadas en función de la ingesta diaria de calcio conforme a las recomendaciones para la población española adulta. Así, se establecieron tres grupos diferenciados, mujeres con una ingesta diaria inferior a 800 mg de calcio (n=37), ingesta conforme a las recomendaciones

(800-1200 mg/día de calcio) (n=57) y mujeres con un consumo de calcio superior a 1200 mg/día (n=80). No se pudieron recuperar datos de ingesta correspondientes de 36 participantes en el estudio. Respecto del total de mujeres de las que se disponen los datos dietéticos (n=174) mayoritariamente se observa un consumo adecuado de calcio con un 78% de las mujeres consumiendo por encima de los 800 mg/día y un 46% superando los 1200 mg/día.

En este contexto, y tras analizar los datos en función de la distribución del genotipo *BsmI*, no se han observado diferencias en la distribución de los T-scores en las distintas áreas corporales (Tabla 33) ($P>0.05$ en todos los casos). Por el contrario, al analizar la distribución de los genotipos *ApaI* en función del consumo calcio, se han observado diferencias significativas en los grupos que consumen más de 800 mg/día. En el grupo de consumo >1200 mg/día existen diferencias en el T-score medio del TR (Trocánter) entre el genotipo *aa* y el *Aa* (ambos >-1) ($P<0.05$) y en L4 con un T-score medio para el genotipo *aa* <-1 y para el genotipo *Aa* (<-2.5) ($P<0.05$). En el grupo con una ingesta entre 800-1200 mg/día se mantienen las diferencias a nivel del TR entre los genotipos *aa* y *Aa*, siendo en este caso para el genotipo *aa* >-1 y para el genotipo *Aa* >-1 ($P<0.05$) (Tabla 34).

Tabla 33: Distribución de los valores T-score por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR y la ingesta de calcio diarias.

	GENOTIPOS SEGÚN INGESTA DE CALCIO DIARIA												
	Sin datos de ingesta de calcio diaria			Ingesta de calcio baja (0-800 mg/día)			Ingesta de calcio normal (800-1200 mg/día)			Ingesta de calcio alta (> 1200 mg/día)			
	Genotipo <i>BsmI</i>			Genotipo <i>BsmI</i>			Genotipo <i>BsmI</i>			Genotipo <i>BsmI</i>			
	<i>bb</i> (n=18)	<i>Bb</i> (n=15)	<i>BB</i> (n=3)	<i>bb</i> (n=15)	<i>Bb</i> (n=17)	<i>BB</i> (n=5)	<i>bb</i> (n=25)	<i>Bb</i> (n=22)	<i>BB</i> (n=10)	<i>bb</i> (n=29)	<i>Bb</i> (n=41)	<i>BB</i> (n=10)	Sig.
	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	Media (SD)	
T-score - Cuello Femoral	-0,874 (1,108)	-0,553 (1,500)	-0,587 (1,017)	-0,841 (1,187)	-0,503 (1,360)	-0,820 (0,744)	-0,988 (0,928)	-1,179 (1,196)	-1,240 (1,003)	-1,374 (0,980)	-0,915 (0,956)	-0,783 (0,766)	n.s.
T-score - Trocánter	0,058 (0,872)	0,330 (1,731)	0,440 (0,249)	0,158 (0,412)	0,322 (1,313)	0,354 (0,839)	-0,219 (0,634)	-0,368 (1,212)	-0,587 (1,037)	-0,433 (1,007)	-0,129 (0,972)	0,084 (0,869)	n.s.
T-score - Tri Ward	0,144 (0,908)	0,477 (1,647)	0,561 (0,946)	0,475 (1,141)	0,554 (1,174)	0,356 (0,579)	0,206 (0,843)	0,012 (1,104)	-0,123 (0,783)	-0,085 (0,884)	0,199 (0,949)	0,534 (0,833)	n.s.
T-score - L2	-1,818 (1,180)	-1,107 (2,056)	-2,523 (0,424)	-1,859 (1,575)	-1,113 (2,162)	-2,072 (0,606)	-1,723 (1,432)	-2,048 (1,341)	-2,479 (1,182)	-2,270 (0,835)	-1,930 (1,125)	-1,473 (1,290)	n.s.
T-score - L3	-1,979 (1,099)	-1,097 (2,212)	-2,883 (0,214)	-2,110 (1,643)	-1,235 (2,489)	-2,400 (0,455)	-1,804 (1,551)	-2,279 (1,624)	-2,585 (1,068)	-2,487 (0,799)	-2,247 (1,116)	-1,700 (1,526)	n.s.
T-score - L4	-2,450 (1,017)	-1,517 (2,012)	-3,313 (0,293)	-2,382 (1,469)	-1,758 (2,376)	-2,438 (0,648)	-2,479 (1,248)	-2,716 (1,566)	-2,818 (1,516)	-2,803 (0,991)	-2,505 (1,384)	-2,296 (1,213)	n.s.
T-score - L2-L4	-2,403 (1,123)	-1,461 (2,229)	-3,267 (0,275)	-2,426 (1,605)	-1,646 (2,459)	-2,614 (0,530)	-2,222 (1,340)	-2,668 (1,560)	-2,872 (1,256)	-2,854 (0,874)	-2,557 (1,229)	-2,119 (1,387)	n.s.

Bb, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Bb*, heterocigóticos; *bb*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; SD, standar deviation; Sig., significación estadística; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

Tabla 34: Distribución de los valores T-score por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo *Apal* del VDR y la ingesta de calcio diarias.

	GENOTIPOS SEGÚN INGESTA DE CALCIO DIARIA												Sig.				
	Sin datos de ingesta de calcio diaria				Ingesta de calcio baja (0-800 mg/día)				Ingesta de calcio normal (800-1200 mg/día)					Ingesta de calcio alta (> 1200 mg/día)			
	Genotipo <i>Apal</i>		Genotipo <i>Apal</i>		Genotipo <i>Apal</i>		Genotipo <i>Apal</i>		Genotipo <i>Apal</i>		Genotipo <i>Apal</i>			Genotipo <i>Apal</i>			
<i>aa</i> (n=11)	<i>Aa</i> (n=13)	<i>AA</i> (n=12)	<i>aa</i> (n=8)	<i>Aa</i> (n=17)	<i>AA</i> (n=12)	<i>aa</i> (n=14)	<i>Aa</i> (n=27)	<i>AA</i> (n=16)	<i>aa</i> (n=21)	<i>Aa</i> (n=39)	<i>AA</i> (n=20)	Media	(SD)				
T-score - Cuello Femoral	-1,206 (1,035)	-0,601 (1,416)	-0,393 (1,224)	-0,850 (1,167)	-0,562 (1,300)	-0,743 (1,184)	-1,325 (0,901)	-0,867 (1,116)	-1,317 (0,985)	-0,899 (1,065)	-1,243 (0,951)	-0,892 (0,849)	n.s. ^a				
T-score - Trocánter	-0,036 (1,163)	0,160 (1,483)	0,470 (1,142)	0,294 (1,460)	0,356 (1,323)	0,102 (1,174)	-0,761 (0,766)	0,043 (0,950)	-0,622 (0,909)	0,34 (1,092)	-0,577 (0,855)	-0,084 (0,796)	p<0,05 ^b p<0,05 ^c				
T-score - Tri Ward	-0,021 (0,972)	0,331 (1,407)	0,613 (1,326)	0,301 (1,012)	0,642 (1,227)	0,417 (0,944)	-0,213 (0,910)	0,292 (0,982)	-0,046 (0,840)	0,370 (0,980)	-0,039 (0,859)	0,241 (0,961)	n.s. ^a				
T-score - L2	-1,876 (1,466)	-1,637 (1,494)	-1,249 (1,899)	-1,253 (1,632)	-1,677 (1,905)	-1,553 (1,892)	-2,121 (0,829)	-1,666 (1,561)	-2,389 (1,314)	-1,737 (1,032)	-2,282 (1,047)	-1,710 (1,051)	n.s. ^a				
T-score - L3	-1,831 (1,209)	-1,884 (1,639)	-1,341 (2,157)	-1,243 (1,924)	-1,830 (2,161)	-1,966 (1,976)	-2,560 (0,659)	-1,819 (1,634)	-2,258 (1,790)	-2,020 (1,161)	-2,587 (0,988)	-1,895 (1,054)	n.s. ^a				
T-score - L4	-2,429 (1,163)	-2,018 (1,683)	-1,986 (1,840)	-1,755 (1,759)	-2,063 (2,055)	-2,392 (1,776)	-3,203 (0,691)	-2,252 (1,662)	-2,766 (1,262)	-2,069 (1,512)	-2,985 (0,991)	-2,377 (1,108)	p<0,05 ^b				
T-score - L2-L4	-2,377 (1,317)	-2,135 (1,675)	-1,757 (2,126)	-1,676 (1,840)	-2,156 (2,132)	-2,282 (1,954)	-2,620 (0,851)	-2,206 (1,668)	-2,920 (1,297)	-2,244 (1,280)	-2,966 (1,009)	-2,299 (1,082)	n.s. ^a				

^aNo existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (sin datos de ingesta de calcio, ingesta de calcio baja, ingesta de calcio normal e ingesta de calcio alta) y ninguno de los genotipos del polimorfismo *Apal* del VDR.

^bComparación en el grupo de "ingesta de calcio normal" de los genotipos *aa* y *Aa* del polimorfismo *Apal* del VDR.

^cComparación en el grupo de "ingesta de calcio alta" de los genotipos *aa* y *Aa* del polimorfismo *Apal* del VDR.

AA, ausencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; *Aa*, heterocigóticos; *aa*, presencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; SD, standar deviation; Sig., significación estadística; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *Apal* del VDR; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

Tras ajustar los resultados por edad, sigue sin observarse diferencias en función del consumo de calcio entre las mujeres con genotipo *BsmI* (Tabla 35) ($P>0.05$ en todos los casos). Por el contrario, siguen existiendo diferencias en función del consumo de calcio y en base al genotipo *Apal* entre las mujeres estudiadas (Tabla 36). En el grupo con un consumo >1200 mg/día de calcio se observan diferencias entre los genotipos *aa* y *Aa* en el Z-score medio del TR y L4 ($P<0.05$), diferencias que no se mantienen en el grupo con consumo dentro de los rangos recomendados de 800-1200 mg/día ($P>0.05$) (Tabla 36).

El análisis de la DMO en las diferentes áreas corporales, en función del genotipo y el consumo de calcio, no reveló diferencias en cuanto al genotipo *BsmI* (Tabla 37) ($P>0.05$ en todos los casos). Sí se observaron diferencias significativas en la DMO a nivel del TR tanto en el grupo >1200 mg/día como en el grupo 800-1200 mg/día (Tabla 38) entre los genotipos *aa* y *Aa* en el primer (0.618 ± 0.106 g/cm² vs 0.531 ± 0.082 g/cm²; $P<0.05$) y segundo caso (0.514 ± 0.073 g/cm² vs 0.591 ± 0.091 g/cm²; $P<0.05$), como entre los genotipos *AA* y *Aa* en aquellas mujeres con un consumo de calcio superior a 1200 mg/día (0.594 ± 0.094 g/cm² vs 0.531 ± 0.082 g/cm²; $P<0.05$) (Tabla 38).

Tabla 35: Distribución de los valores Z-score por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR y la ingesta de calcio diarias.

	GENOTIPOS SEGÚN INGESTA DE CALCIO DIARIA												Sig.			
	Sin datos de ingesta de calcio diaria			Ingesta de calcio baja (0-800 mg/día)			Ingesta de calcio normal (800-1200 mg/día)			Ingesta de calcio alta (> 1200 mg/día)						
	Genotipo <i>BsmI</i>			Genotipo <i>BsmI</i>			Genotipo <i>BsmI</i>			Genotipo <i>BsmI</i>						
	<i>bb</i>	<i>Bb</i>	<i>BB</i>	<i>bb</i>	<i>Bb</i>	<i>BB</i>	<i>bb</i>	<i>Bb</i>	<i>BB</i>	<i>bb</i>	<i>Bb</i>	<i>BB</i>	Media	Media	Media	Media
	(n=18)	(n=15)	(n=3)	(n=15)	(n=17)	(n=5)	(n=25)	(n=22)	(n=10)	(n=29)	(n=41)	(n=10)				
Z-score - Cuello Femoral	0,202	0,705	0,763	0,311	0,725	0,568	0,232	-0,015	0,066	-0,180	0,260	0,252	n.s.			
Z-score - Trocánter	0,138	0,486	0,753	0,256	0,446	0,542	-0,068	-0,245	-0,338	-0,270	0,004	0,178	n.s.			
Z-score - Tri Ward	0,254	0,704	0,997	0,611	0,724	0,498	0,419	0,160	0,198	0,129	0,386	0,666	n.s.			
Z-score - L2	-0,463	0,353	-0,793	-0,449	0,256	-0,334	-0,268	-0,524	-0,566	-0,688	-0,458	-0,200	n.s.			
Z-score - L3	-0,650	0,305	-1,143	-0,685	0,091	-0,654	-0,546	-0,837	-0,890	-0,887	-0,747	-0,410	n.s.			
Z-score - L4	-1,080	-0,175	-1,560	-1,035	-0,482	-0,848	-1,013	-1,191	-1,172	-1,250	-1,085	-1,016	n.s.			
Z-score - L2-L4	-0,783	0,170	-1,243	-0,781	-0,075	-0,660	-0,661	-0,875	-0,799	-0,974	-0,817	-0,471	n.s.			

BB, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Bb*, heterocigóticos; *bb*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; Sig., significación estadística; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

Tabla 36: Distribución de los valores Z-score por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo *Apai* del VDR y la ingesta de calcio diarias.

	GENOTIPOS SEGÚN INGESTA DE CALCIO DIARIA												Sig.	
	Sin datos de ingesta de calcio diaria			Ingesta de calcio baja (0-800 mg/día)			Ingesta de calcio normal (800-1200 mg/día)			Ingesta de calcio alta (> 1200 mg/día)				
	Genotipo <i>Apai</i>	Media	Media	Genotipo <i>Apai</i>	Media	Media	Genotipo <i>Apai</i>	Media	Media	Genotipo <i>Apai</i>	Media	Media		
Z-score - Cuello Femoral	<i>aa</i> (n=11)	<i>Aa</i> (n=13)	<i>AA</i> (n=12)	<i>aa</i> (n=8)	<i>Aa</i> (n=17)	<i>AA</i> (n=12)	<i>aa</i> (n=14)	<i>Aa</i> (n=27)	<i>AA</i> (n=16)	<i>aa</i> (n=21)	<i>Aa</i> (n=39)	<i>AA</i> (n=20)	n.s. ^a	
	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	0,206	
Z-score - Trocánter		0,145	0,295	0,550	0,499	0,470	0,180	-0,625	0,192	-0,432	0,210	-0,014	0,206	n.s. ^a
Z-score - Tri Ward		0,233	0,522	0,731	0,515	0,798	0,523	-0,064	0,500	0,212	0,522	0,196	0,382	n.s. ^a
Z-score - L2		-0,260	-0,204	0,008	0,310	-0,198	-0,264	-0,548	-0,227	-0,630	-0,363	-0,652	-0,384	n.s. ^a
Z-score - L3		-0,348	-0,435	-0,089	0,256	-0,374	-0,643	-1,084	-0,390	-0,953	-0,635	-0,922	-0,558	n.s. ^a
Z-score - L4		-0,913	-0,638	-0,701	-0,341	-0,729	-1,069	-1,634	-0,843	-1,102	-0,796	-1,374	-1,030	p<0,05 ^b
Z-score - L2-L4		-0,561	-0,478	-0,241	0,065	-0,476	-0,726	-1,216	-0,517	-0,798	-0,562	-1,027	-0,709	n.s. ^a

^aNo existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (sin datos de ingesta de calcio, ingesta de calcio baja, ingesta de calcio normal e ingesta de calcio alta) y ninguno de los genotipos del polimorfismo *Apai* del VDR.

^bComparación en el grupo de "Ingesta de calcio alta" de los genotipos *aa* y *Aa* del polimorfismo *Apai* del VDR.

AA, ausencia de la enzima de restricción *Apai* en ambos alelos; *Aa*, heterocigóticos; *aa*, presencia de la enzima de restricción *Apai* en ambos alelos; Sig., significación estadística; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *Apai* del VDR; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

Tabla 37: Distribución de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR y la ingesta de calcio diarias.

	GENOTIPOS SEGÚN INGESTA DE CALCIO DIARIA												Sig.	
	Sin datos de ingesta de calcio diaria			Ingesta de calcio baja (0-800 mg/día)			Ingesta de calcio normal (800-1200 mg/día)			Ingesta de calcio alta (> 1200 mg/día)				
	Genotipo <i>BsmI</i>			Genotipo <i>BsmI</i>			Genotipo <i>BsmI</i>			Genotipo <i>BsmI</i>				
	<i>bb</i>	<i>BB</i>	<i>bb</i>	<i>bb</i>	<i>BB</i>	<i>bb</i>	<i>bb</i>	<i>BB</i>	<i>bb</i>	<i>bb</i>	<i>BB</i>	<i>bb</i>	<i>BB</i>	
	(n=18)	(n=15)	(n=15)	(n=17)	(n=5)	(n=25)	(n=22)	(n=10)	(n=29)	(n=41)	(n=10)	(n=29)	(n=41)	
	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	
	(SD)	(SD)	(SD)	(SD)	(SD)	(SD)	(SD)	(SD)	(SD)	(SD)	(SD)	(SD)	(SD)	
Cuello Femoral	0,745	0,772	0,776	0,785	0,751	0,733	0,711	0,706	0,691	0,741	0,755	0,691	0,741	n.s. ^a
DMO (g/cm ²)	(0,120)	(0,165)	(0,110)	(0,122)	(0,081)	(0,101)	(0,130)	(0,109)	(0,106)	(0,104)	(0,083)	(0,106)	(0,104)	
Trocánter	0,594	0,619	0,629	0,602	0,618	0,566	0,552	0,531	0,545	0,581	0,595	0,545	0,581	n.s. ^a
DMO (g/cm ²)	(0,084)	(0,166)	(0,024)	(0,136)	(0,080)	(0,061)	(0,116)	(0,100)	(0,097)	(0,102)	(0,083)	(0,097)	(0,102)	
Tri Ward	0,510	0,546	0,554	0,554	0,533	0,516	0,495	0,481	0,484	0,523	0,552	0,484	0,523	n.s. ^a
DMO (g/cm ²)	(0,099)	(0,180)	(0,103)	(0,124)	(0,063)	(0,092)	(0,120)	(0,085)	(0,097)	(0,113)	(0,091)	(0,097)	(0,113)	
Col. - L2	0,804	0,884	0,725	0,800	0,776	0,816	0,779	0,729	0,754	0,792	0,853	0,754	0,792	n.s. ^a
DMO (g/cm ²)	(0,132)	(0,230)	(0,047)	(0,176)	(0,068)	(0,161)	(0,150)	(0,133)	(0,093)	(0,126)	(0,148)	(0,093)	(0,126)	
Col. - L3	0,814	0,911	0,717	0,805	0,772	0,799	0,786	0,752	0,763	0,797	0,850	0,763	0,797	n.s. ^a
DMO (g/cm ²)	(0,119)	(0,243)	(0,023)	(0,183)	(0,050)	(0,162)	(0,181)	(0,119)	(0,089)	(0,128)	(0,170)	(0,089)	(0,128)	
Col. - L4	0,778	0,879	0,684	0,786	0,779	0,775	0,749	0,738	0,740	0,769	0,795	0,740	0,769	n.s. ^a
DMO (g/cm ²)	(0,110)	(0,218)	(0,032)	(0,159)	(0,070)	(0,135)	(0,170)	(0,165)	(0,108)	(0,150)	(0,132)	(0,108)	(0,150)	
Col. - L2-L4	0,799	0,897	0,708	0,796	0,777	0,801	0,771	0,741	0,752	0,783	0,829	0,752	0,783	n.s. ^a
DMO (g/cm ²)	(0,117)	(0,233)	(0,029)	(0,168)	(0,056)	(0,139)	(0,163)	(0,136)	(0,091)	(0,128)	(0,145)	(0,091)	(0,128)	

^aNo existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (sin datos de ingesta de calcio, ingesta de calcio baja, ingesta de calcio normal e ingesta de calcio alta) y ninguno de los genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR.
BB, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Bb*, heterocigóticos; *bb*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; SD, standar deviation; Sig., significación estadística; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *Apal* del VDR; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

Tabla 38: Distribución de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo *Apal* del VDR y la ingesta de calcio diarias.

	GENOTIPOS SEGÚN INGESTA DE CALCIO DIARIA												Sig.													
	Sin datos de ingesta de calcio diaria		Ingesta de calcio baja (0-800 mg/día)		Ingesta de calcio normal (800-1200 mg/día)		Ingesta de calcio alta (> 1200 mg/día)																			
	Genotipo <i>Apal</i>	Media (SD)	Genotipo <i>Apal</i>	Media (SD)	Genotipo <i>Apal</i>	Media (SD)	Genotipo <i>Apal</i>	Media (SD)	Genotipo <i>Apal</i>	Media (SD)	Genotipo <i>Apal</i>	Media (SD)														
Cuello Femoral	<i>aa</i> (n=11)	0,709 (0,112)	<i>Aa</i> (n=13)	0,773 (0,155)	<i>AA</i> (n=12)	0,788 (0,137)	<i>aa</i> (n=8)	0,747 (0,127)	<i>Aa</i> (n=17)	0,779 (0,141)	<i>AA</i> (n=12)	0,764 (0,120)	<i>aa</i> (n=14)	0,696 (0,098)	<i>Aa</i> (n=27)	0,745 (0,121)	<i>AA</i> (n=16)	0,697 (0,107)	<i>aa</i> (n=21)	0,742 (0,116)	<i>Aa</i> (n=39)	0,705 (0,103)	<i>AA</i> (n=20)	0,743 (0,092)	n.s. ^a	
DMO (g/cm ³)																										
Trocánter	<i>aa</i> (n=11)	0,583 (0,112)	<i>Aa</i> (n=13)	0,602 (0,142)	<i>AA</i> (n=12)	0,633 (0,109)	<i>aa</i> (n=8)	0,615 (0,140)	<i>Aa</i> (n=17)	0,621 (0,127)	<i>AA</i> (n=12)	0,596 (0,113)	<i>aa</i> (n=14)	0,514 (0,073)	<i>Aa</i> (n=27)	0,591 (0,091)	<i>AA</i> (n=16)	0,527 (0,087)	<i>aa</i> (n=21)	0,618 (0,106)	<i>Aa</i> (n=39)	0,531 (0,082)	<i>AA</i> (n=20)	0,594 (0,094)	p<0,05 ^b , p<0,05 ^c	
DMO (g/cm ³)																										
Tri Ward	<i>aa</i> (n=11)	0,491 (0,106)	<i>Aa</i> (n=13)	0,530 (0,153)	<i>AA</i> (n=12)	0,561 (0,145)	<i>aa</i> (n=8)	0,526 (0,110)	<i>Aa</i> (n=17)	0,563 (0,134)	<i>AA</i> (n=12)	0,539 (0,103)	<i>aa</i> (n=14)	0,470 (0,099)	<i>Aa</i> (n=27)	0,525 (0,107)	<i>AA</i> (n=16)	0,488 (0,092)	<i>aa</i> (n=21)	0,533 (0,107)	<i>Aa</i> (n=39)	0,489 (0,094)	<i>AA</i> (n=20)	0,534 (0,123)	n.s. ^a	
DMO (g/cm ³)																										
Col. - L2	<i>aa</i> (n=11)	0,797 (0,164)	<i>Aa</i> (n=13)	0,824 (0,167)	<i>AA</i> (n=12)	0,868 (0,183)	<i>aa</i> (n=8)	0,867 (0,110)	<i>Aa</i> (n=17)	0,820 (0,134)	<i>AA</i> (n=12)	0,834 (0,113)	<i>aa</i> (n=14)	0,772 (0,095)	<i>Aa</i> (n=27)	0,821 (0,175)	<i>AA</i> (n=16)	0,739 (0,087)	<i>aa</i> (n=21)	0,813 (0,115)	<i>Aa</i> (n=39)	0,752 (0,117)	<i>AA</i> (n=20)	0,821 (0,121)	n.s. ^a	
DMO (g/cm ³)																										
Col. - L3	<i>aa</i> (n=11)	0,801 (0,137)	<i>Aa</i> (n=13)	0,827 (0,175)	<i>AA</i> (n=12)	0,866 (0,222)	<i>aa</i> (n=8)	0,874 (0,192)	<i>Aa</i> (n=17)	0,824 (0,223)	<i>AA</i> (n=12)	0,811 (0,204)	<i>aa</i> (n=14)	0,739 (0,072)	<i>Aa</i> (n=27)	0,819 (0,174)	<i>AA</i> (n=16)	0,744 (0,135)	<i>aa</i> (n=21)	0,815 (0,134)	<i>Aa</i> (n=39)	0,740 (0,105)	<i>AA</i> (n=20)	0,809 (0,113)	n.s. ^a	
DMO (g/cm ³)																										
Col. - L4	<i>aa</i> (n=11)	0,826 (0,130)	<i>Aa</i> (n=13)	0,822 (0,172)	<i>AA</i> (n=12)	0,890 (0,241)	<i>aa</i> (n=8)	0,901 (0,214)	<i>Aa</i> (n=17)	0,835 (0,241)	<i>AA</i> (n=12)	0,820 (0,220)	<i>aa</i> (n=14)	0,726 (0,118)	<i>Aa</i> (n=27)	0,837 (0,182)	<i>AA</i> (n=16)	0,751 (0,136)	<i>aa</i> (n=21)	0,814 (0,129)	<i>Aa</i> (n=39)	0,756 (0,114)	<i>AA</i> (n=20)	0,834 (0,121)	n.s. ^a	
DMO (g/cm ³)																										
Col. - L2-L4	<i>aa</i> (n=11)	0,780 (0,126)	<i>Aa</i> (n=13)	0,825 (0,182)	<i>AA</i> (n=12)	0,828 (0,199)	<i>aa</i> (n=8)	0,853 (0,191)	<i>Aa</i> (n=17)	0,820 (0,223)	<i>AA</i> (n=12)	0,785 (0,192)	<i>aa</i> (n=14)	0,696 (0,075)	<i>Aa</i> (n=27)	0,799 (0,180)	<i>AA</i> (n=16)	0,743 (0,137)	<i>aa</i> (n=21)	0,819 (0,164)	<i>Aa</i> (n=39)	0,717 (0,107)	<i>AA</i> (n=20)	0,786 (0,120)	n.s. ^a	
DMO (g/cm ³)																										

^aNo existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (sin datos de ingesta de calcio, ingesta de calcio baja, ingesta de calcio normal e ingesta de calcio alta) y ninguno de los genotipos del polimorfismo *Apal* del VDR.

^bComparación en el grupo de "ingesta de calcio normal" e "ingesta de calcio alta" de los genotipos *aa* y *Aa* intragrupo del polimorfismo *Apal* del VDR.

^cComparación en el grupo de "ingesta de calcio alta" de los genotipos *Aa* y *AA* del polimorfismo *Apal* del VDR.

AA, ausencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; *Aa*, heterocigóticos; *aa*, presencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; SD, standar deviation; Sig., significación estadística; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *Apal* del VDR; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

El estudio del genotipo combinado *BsmI/ApaI* en función del consumo de calcio diario y la DMO, T-score y Z-score en las diferentes áreas corporales estudiadas se muestra en la Tabla 39 y Tabla 40. Se han observado diferencias significativas entre los genotipos *Bbaa* y *BbAa* en los grupos con consumo >1200 mg/día de calcio en la DMO a nivel de L4, el T-score en el TR y L4 y el Z-score en el TR y L4 (Tabla 40). La DMO en el genotipo *Bbaa* a nivel de L4 fue de 0.867 ± 0.145 g/cm² frente a 0.682 ± 0.108 g/cm² en el genotipo *BbAa* ($P < 0.05$). Respecto del T-score a nivel de L4 en ambos casos fue < -1 (Tabla 40; $P < 0.01$) y a nivel del TR en ambos casos el T-score medio fue > -1 (Tabla 40; $P < 0.05$). Una vez ajustados los valores por la edad de las participantes en el estudio, las diferencias en el Z-score a nivel del TR permanecieron > -1 en ambos casos ($P < 0.05$), sin embargo a nivel de L4 el Z-score del genotipo *Bbaa* fue > -1 mientras que en el grupo *BbAa* el valor se situó entre < -1 y > -2.5 (Tabla 40; $P < 0.05$).

Conforme a las recomendaciones para la población adulta española, las participantes en el estudio se clasificaron conforme a su ingesta diaria de vitamina D en < 15 µg/día (ingesta baja) o > 15 µg/día (ingesta adecuada). De la muestra de estudio, 154 participantes fueron clasificadas por debajo de las recomendaciones diarias de ingesta de vitamina D (73.3% del total del estudio), 22 reportaron una ingesta adecuada de dicha vitamina (10.5%) y en un total de 34 mujeres no pudo obtenerse información acerca de la ingesta de dicha vitamina ($n=34$; 16.2% de la muestra). No se encontraron diferencias significativas entre el genotipo *BsmI* y la DMO, T-score y Z-score en ninguna de las áreas anatómicas estudiadas en función del consumo diario de vitamina D (Tabla 41; $P > 0.05$). De la misma manera tampoco se observaron cambios en la DMO, T-score y Z-score en función del genotipo *ApaI* y el consumo diario de vitamina D en las mujeres participantes de nuestro estudio (Tabla 41; $P > 0.05$).

Tabla 39: Distribución de los valores DMO, T-score y Z-score por áreas corporales en función de los genotipos combinados de los polimorfismos *BsmI* y *ApaI* del VDR y la ingesta de calcio diarias (1).

DMO (g/cm ³)	GENOTIPOS COMBINADOS SEGÚN INGESTA DE CALCIO DIARIA (1)																		Sig.
	Sin datos de ingesta de calcio diaria									Ingesta de calcio baja (0-800 mg/día)									
	Genotipo Combinado			Genotipo Combinado			Genotipo Combinado			Genotipo Combinado			Genotipo Combinado			Genotipo Combinado			
	<i>bbaa</i>	<i>bbAa</i>	<i>bBAa</i>	<i>Bbaa</i>	<i>BBAa</i>	<i>BbAa</i>	<i>BBAa</i>	<i>Bbaa</i>	<i>BBAa</i>	<i>bbaa</i>	<i>bbAa</i>	<i>bBAa</i>	<i>Bbaa</i>	<i>BBAa</i>	<i>BbAa</i>	<i>BBAa</i>	<i>Bbaa</i>	<i>BBAa</i>	
Cuello F.	0,691	0,803	0,758	0,705	0,765	0,850	0,835	0,747	0,808	0,763	0,667	0,731	0,808	0,795	0,635	0,721	0,799	n.s. ^a	
Trocánter	0,609	0,585	0,586	0,532	0,605	0,729	0,633	0,627	0,668	0,611	0,510	0,598	0,636	0,610	0,524	0,609	0,657	n.s. ^a	
Tri Ward	0,486	0,539	0,513	0,461	0,531	0,657	0,645	0,509	0,574	0,563	0,465	0,507	0,577	0,559	0,466	0,472	0,575	n.s. ^a	
Col. - L2	0,818	0,879	0,757	0,782	0,824	1,091	0,741	0,717	0,856	0,779	0,805	0,889	0,897	0,864	0,815	0,655	0,803	n.s. ^a	
Col. - L3	0,840	0,860	0,771	0,829	0,833	1,131	0,732	0,709	0,888	0,786	0,779	0,928	0,915	0,869	0,835	0,730	0,765	n.s. ^a	
Col. - L4	0,792	0,852	0,731	0,794	0,846	1,023	0,661	0,696	0,866	0,793	0,684	0,854	0,879	0,825	0,813	0,658	0,808	n.s. ^a	
Col. - L2-L4	0,816	0,863	0,753	0,802	0,840	1,092	0,710	0,707	0,873	0,785	0,753	0,890	0,895	0,850	0,821	0,686	0,792	n.s. ^a	
Cuello F.	-1,377	-0,345	-0,761	-1,243	-0,673	0,345	-0,040	-0,860	-0,300	-0,711	-1,773	-1,003	-0,294	-0,413	-1,890	-1,090	-0,373	n.s. ^a	
Trocánter	0,233	-0,020	-0,034	-0,572	0,190	1,478	0,490	0,415	0,847	0,248	-0,800	0,117	0,511	0,238	-0,660	0,240	0,730	n.s. ^a	
Tri Ward	-0,068	0,408	0,173	-0,303	0,340	1,495	1,390	0,147	0,730	0,637	-0,267	0,118	0,769	0,595	-0,250	-0,200	0,743	n.s. ^a	
Col. - L2	-1,695	-1,150	-2,245	-2,023	-1,641	0,743	-2,380	-2,595	-1,357	-2,042	-1,813	-1,058	-0,997	-1,285	-1,720	-3,150	-1,830	n.s. ^a	
Col. - L3	-1,637	-1,615	-2,418	-1,890	-1,734	0,813	-2,760	-2,945	-1,367	-2,280	-2,343	-1,003	-1,116	-1,528	-1,830	-2,780	-2,463	n.s. ^a	
Col. - L4	-2,327	-1,770	-2,883	-2,308	-1,821	-0,192	-3,530	-3,205	-1,640	-2,317	-3,320	-1,750	-1,524	-2,037	-2,120	-3,550	-2,173	n.s. ^a	
Col. - L2-L4	-2,237	-1,783	-2,839	-2,370	-2,010	0,408	-3,250	-3,275	-1,693	-2,532	-2,840	-1,535	-1,484	-1,910	-2,190	-3,480	-2,467	n.s. ^a	
Cuello F.	-0,233	0,680	0,289	0,105	0,617	1,460	1,640	0,325	0,987	0,506	-0,947	0,355	0,930	0,733	-0,340	0,320	0,953	n.s. ^a	
Trocánter	0,377	0,102	-0,023	-0,397	0,300	1,695	0,930	0,665	1,007	0,358	-0,800	0,310	0,613	0,343	-0,270	0,480	0,833	n.s. ^a	
Tri Ward	0,122	0,585	0,188	-0,060	0,504	1,818	2,070	0,460	0,953	0,790	-0,270	0,388	0,904	0,738	-0,290	0,120	0,887	n.s. ^a	
Col. - L2	-0,217	0,133	-0,945	-0,315	-0,157	1,913	-0,300	-1,040	0,043	-0,468	-0,887	0,533	0,273	0,053	0,220	-1,060	-0,277	n.s. ^a	
Col. - L3	-0,357	-0,255	-1,068	-0,255	-0,267	1,868	-0,670	-1,380	-0,030	-0,694	-1,313	0,527	0,103	-0,215	0,030	-0,820	-0,827	n.s. ^a	
Col. - L4	-0,908	-0,540	-1,479	-0,780	-0,419	0,855	-1,470	-1,605	-0,407	-0,910	-2,040	-0,272	-0,363	-0,760	-0,420	-1,670	-0,717	n.s. ^a	
Col. - L2-L4	-0,542	-0,248	-1,231	-0,503	-0,343	1,740	-0,910	-1,410	-0,143	-0,749	-1,513	0,258	-0,019	-0,363	-0,080	-1,230	-0,663	n.s. ^a	

^aNo existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (sin datos de ingesta de calcio, ingesta de calcio normal e ingesta de calcio alta) y ninguno de los genotipos del polimorfismo combinado *BsmI* y *ApaI* del VDR.

bbaa, presencia de las enzimas de restricción *BsmI* y *ApaI* en ambos alelos; *bbAa*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos heterocigótico para la enzima de restricción *ApaI*; *Bbaa*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* y ausencia de la enzima de restricción *ApaI* en ambos alelos; *BBAa*, heterocigótico para la enzima de restricción *BsmI* y presencia de la enzima de restricción *ApaI*; *Bbaa*, heterocigótico para las enzimas de restricción *BsmI* y *ApaI*; *BBAa*, heterocigótico para la enzima de restricción *BsmI* y ausencia de la enzima de restricción *ApaI*; *BBAa*, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* y presencia de la enzima de restricción *ApaI* en ambos alelos; *BBAa*, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos heterocigótico para la enzima de restricción *ApaI*; *BBAa*, ausencia de las enzimas de restricción *BsmI* y *ApaI* en ambos alelos; Sig., significación estadística; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *ApaI* del VDR; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

Tabla 41: Distribución de los valores DMO, T-score y Z-score por áreas corporales en función de los genotipos de los polimorfismos *BsmI* y *ApaI* del VDR y la ingesta de Vitamina D diarias (III).

DMO (g/cm ²)	GENOTIPOS COMBINADOS SEGÚN INGESTA DE VITAMINA D DIARIA (III)																								Sig.													
	Sin datos de ingesta de Vitamina D diaria (n=34)						Ingesta de Vitamina D baja (<15 µg/día) (n=154)						Ingesta de Vitamina D adecuada (>15 µg/día) (n=22)						Sin datos de ingesta de Vitamina D diaria (n=34)							Ingesta de Vitamina D baja (<15 µg/día) (n=154)						Ingesta de Vitamina D adecuada (>15 µg/día) (n=22)						
	Genotipo <i>BsmI</i>		Genotipo <i>BsmI</i>		Genotipo <i>BsmI</i>		Genotipo <i>BsmI</i>		Genotipo <i>BsmI</i>		Genotipo <i>BsmI</i>		Genotipo <i>BsmI</i>		Genotipo <i>ApaI</i>		Genotipo <i>ApaI</i>		Genotipo <i>ApaI</i>		Genotipo <i>ApaI</i>		Genotipo <i>ApaI</i>			Genotipo <i>ApaI</i>		Genotipo <i>ApaI</i>										
	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media	Media		Media	Media	Media	Media	Media	Media							
Cuello F.	0,745	0,783	0,776	0,719	0,744	0,731	0,725	0,717	0,759	0,715	0,774	0,792	0,725	0,736	0,735	0,757	0,722	0,718	0,745	0,633	0,629	0,571	0,584	0,577	0,575	0,554	0,538	0,540	n.s. ^a									
Trocánter	0,594	0,633	0,629	0,571	0,584	0,577	0,531	0,547	0,552	0,594	0,602	0,639	0,583	0,577	0,575	0,554	0,538	0,540	0,510	0,558	0,554	0,515	0,523	0,519	0,476	0,504	0,523	0,500	0,530	0,564	0,509	0,524	0,521	0,515	0,486	0,513	n.s. ^a	
Tri Ward	0,510	0,558	0,554	0,515	0,523	0,519	0,476	0,504	0,523	0,808	0,825	0,880	0,810	0,793	0,794	0,772	0,771	0,827	0,804	0,910	0,725	0,789	0,809	0,785	0,772	0,776	0,810	0,808	0,825	0,880	0,810	0,793	0,794	0,772	0,771	0,827	n.s. ^a	
Col. - L2	0,804	0,910	0,725	0,789	0,809	0,785	0,772	0,776	0,810	0,836	0,822	0,908	0,801	0,806	0,800	0,788	0,771	0,811	0,814	0,814	0,942	0,717	0,783	0,820	0,799	0,796	0,763	0,771	0,771	0,771	0,771	0,771	0,771	0,811	n.s. ^a			
Col. - L3	0,814	0,942	0,717	0,783	0,820	0,799	0,796	0,763	0,771	0,787	0,825	0,842	0,782	0,774	0,771	0,819	0,727	0,756	0,778	0,778	0,907	0,684	0,764	0,784	0,777	0,755	0,743	0,708	0,810	0,827	0,842	0,801	0,790	0,787	0,790	0,756	0,787	n.s. ^a
Col. - L4	0,799	0,927	0,708	0,780	0,802	0,787	0,774	0,759	0,754	0,810	0,827	0,881	0,801	0,790	0,787	0,790	0,756	0,787	0,799	0,799	0,927	0,708	0,780	0,802	0,787	0,774	0,759	0,754	0,810	0,827	0,842	0,801	0,790	0,787	0,790	0,756	0,787	n.s. ^a
Col. - L2-L4	0,874	0,444	0,587	-1,128	-0,881	-1,004	-1,057	-1,132	-0,750	-1,155	-0,601	-0,355	-1,064	-0,957	-0,984	-0,767	-1,084	-1,123	0,058	0,480	0,440	-0,166	-0,079	-0,099	-0,586	-0,383	-0,360	0,078	0,160	0,523	-0,039	-0,106	-0,197	-0,247	-0,511	-0,490	n.s. ^a	
Cuello F.	0,874	0,444	0,587	-1,128	-0,881	-1,004	-1,057	-1,132	-0,750	-1,155	-0,601	-0,355	-1,064	-0,957	-0,984	-0,767	-1,084	-1,123	0,058	0,480	0,440	-0,166	-0,079	-0,099	-0,586	-0,383	-0,360	0,078	0,160	0,523	-0,039	-0,106	-0,197	-0,247	-0,511	-0,490	n.s. ^a	
Trocánter	0,058	0,480	0,440	-0,166	-0,079	-0,099	-0,586	-0,383	-0,360	0,078	0,160	0,523	-0,039	-0,106	-0,197	-0,247	-0,511	-0,490	0,144	0,584	0,561	0,195	0,227	0,232	-0,168	0,094	0,263	0,056	0,331	0,637	0,142	0,275	0,193	0,190	-0,071	0,173	n.s. ^a	
Tri Ward	0,144	0,584	0,561	0,195	0,227	0,232	-0,168	0,094	0,263	0,056	0,331	0,637	0,142	0,275	0,193	0,190	-0,071	0,173	0,144	0,584	0,561	0,195	0,227	0,232	-0,168	0,094	0,263	0,056	0,331	0,637	0,142	0,275	0,193	0,190	-0,071	0,173	n.s. ^a	
Col. - L2	-1,818	-0,872	-2,523	-1,962	-1,777	-1,986	-2,105	-2,071	-2,063	-1,783	-1,637	-1,139	-1,772	-1,920	-1,909	-2,110	-2,114	-1,910	-1,818	-0,872	-2,523	-1,962	-1,777	-1,986	-2,105	-2,071	-2,063	-1,783	-1,637	-1,139	-1,772	-1,920	-1,909	-2,110	-2,114	-1,910	n.s. ^a	
Col. - L3	-1,979	-0,815	-2,883	-2,153	-2,010	-2,164	-2,186	-2,487	-2,413	-1,735	-1,884	-1,185	-2,054	-2,128	-2,055	-2,263	-2,408	-2,053	-1,979	-0,815	-2,883	-2,153	-2,010	-2,164	-2,186	-2,487	-2,413	-1,735	-1,884	-1,185	-2,054	-2,128	-2,055	-2,263	-2,408	-2,053	n.s. ^a	
Col. - L4	-2,450	-1,260	-3,313	-2,513	-2,369	-2,457	-2,662	-2,777	-3,093	-2,369	-2,018	-1,863	-2,418	-2,464	-2,519	-2,487	-2,919	-2,657	-2,450	-1,260	-3,313	-2,513	-2,369	-2,457	-2,662	-2,777	-3,093	-2,369	-2,018	-1,863	-2,418	-2,464	-2,519	-2,487	-2,919	-2,657	n.s. ^a	
Col. - L2-L4	-2,403	-1,182	-3,267	-2,513	-2,369	-2,475	-2,643	-2,789	-2,840	-2,293	-2,135	-1,614	-2,268	-2,491	-2,519	-2,487	-2,919	-2,657	-2,403	-1,182	-3,267	-2,513	-2,369	-2,475	-2,643	-2,789	-2,840	-2,293	-2,135	-1,614	-2,268	-2,491	-2,519	-2,487	-2,919	-2,657	n.s. ^a	
Cuello F.	0,202	0,808	0,763	0,057	0,312	0,252	0,189	0,001	0,157	0,060	0,592	0,739	0,125	0,254	0,207	0,073	0,198	-0,337	0,202	0,808	0,763	0,057	0,312	0,252	0,189	0,001	0,157	0,060	0,592	0,739	0,125	0,254	0,207	0,073	0,198	-0,337	n.s. ^a	
Trocánter	0,138	0,616	0,753	-0,027	0,056	0,100	-0,411	-0,268	-0,360	0,221	0,295	0,610	0,118	0,040	-0,062	-0,210	-0,344	-0,490	0,138	0,616	0,753	-0,027	0,056	0,100	-0,411	-0,268	-0,360	0,221	0,295	0,610	0,118	0,040	-0,062	-0,210	-0,344	-0,490	n.s. ^a	
Tri Ward	0,254	0,787	0,997	0,383	0,405	0,470	0,081	0,271	0,263	0,258	0,522	0,765	0,328	0,476	0,372	0,237	0,176	0,173	0,254	0,787	0,997	0,383	0,405	0,470	0,081	0,271	0,263	0,258	0,522	0,765	0,328	0,476	0,372	0,237	0,176	0,173	n.s. ^a	
Col. - L2	-0,463	0,555	-0,793	-0,488	-0,315	-0,290	-0,460	-0,540	-0,880	-0,234	-0,204	0,136	-0,253	-0,421	-0,427	-0,987	-0,421	-0,900	-0,463	0,555	-0,793	-0,488	-0,315	-0,290	-0,460	-0,540	-0,880	-0,234	-0,204	0,136	-0,253	-0,421	-0,427	-0,987	-0,421	-0,900	n.s. ^a	
Col. - L3	-0,650	0,543	-1,143	-0,743	-0,572	-0,566	-0,577	-0,912	-1,270	-0,324	-0,435	0,075	-0,576	-0,620	-0,716	-1,137	-0,706	-1,027	-0,650	0,543	-1,143	-0,743	-0,572	-0,566	-0,577	-0,912	-1,270	-0,324	-0,435	0,075	-0,576	-0,620	-0,716	-1,137	-0,706	-1,027	n.s. ^a	
Col. - L4	-1,080	0,025	-1,560	-1,118	-0,968	-0,949	-1,111	-1,242	-1,750	-0,907	-0,638	-0,585	-0,983	-1,024	-1,057	-1,000	-1,256	-1,480	-1,080	0,025	-1,560	-1,118	-0,968	-0,949	-1,111	-1,242	-1,750	-0,907	-0,638	-0,585	-0,983	-1,024	-1,057	-1,000	-1,256	-1,480	n.s. ^a	
Col. - L2-L4	-0,783	0,397	-1,243	-0,824	-0,656	-0,538	-0,769	-0,971	-1,390	-0,541	-0,478	-0,095	-0,631	-0,721	-0,738	-1,083	-0,863	-1,180	-0,783	0,397	-1,243	-0,824	-0,656	-0,538	-0,769	-0,971	-1,390	-0,541	-0,478	-0,095	-0,631	-0,721	-0,738	-1,083	-0,863	-1,180	n.s. ^a	

^aNo existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (sin datos de ingesta de Vitamina D diaria, ingesta de Vitamina D baja e ingesta de Vitamina D adecuada) y ninguno de los genotipos del polimorfismo *BsmI* y *ApaI* del VDR.
Bb, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Bb*, heterocigóticos; *bb*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *AA*, ausencia de la enzima de restricción *ApaI* en ambos alelos; *Aa*, heterocigóticos; *aa*, presencia de la enzima de restricción *ApaI* en ambos alelos; Sig., significación estadística; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo combinados *BsmI* y *ApaI* del VDR; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar.

11.5. Historia de fracturas, antecedentes y genotipo VDR

En la Tabla 42 se muestran los resultados correspondientes a la historia de fracturas en cadera, húmero, muñeca y vertebras entre las participantes y el genotipo *BsmI*. Adicionalmente también se han analizado los resultados correspondientes a los antecedentes de fractura en el padre y en la madre. En ningún caso se han observado diferencias en la frecuencia de fracturas y la localización anatómica de las mismas y el genotipo *BsmI* (Tabla 42; $P > 0.05$).

Tabla 42: Distribución de antecedentes de fracturas según el polimorfismo *BsmI* del VDR.

		GENOTIPO SEGÚN TIPO DE FRACTURAS						Sig.
		Genotipo <i>BsmI</i>						
		<i>bb</i> (n=87)		<i>Bb</i> (n=95)		<i>BB</i> (n=28)		
		n	%	n	%	n	%	
Fx Paciente	Cadera	1	1,1	0	0	0	0	n.s.
	Húmero	2	2,3	2	2,1	0	0	n.s.
	Muñeca	5	5,7	3	3,2	1	3,6	n.s.
	Vertebras	1	1,1	0	0	0	0	n.s.
	Sin Fx	78	89,7	90	94,7	27	96,4	n.s.
Fx Padre	Cadera	1	1,1	0	0	0	0	n.s.
	Muñeca	1	1,1	0	0	0	0	n.s.
	Sin Fx	85	97,7	95	100	28	100	n.s.
Fx Madre	Cadera	11	12,6	6	6,3	3	10,7	n.s.
	Húmero	0	0,0	2	2,1	1	3,6	n.s.
	Muñeca	7	8,0	5	5,3	0	0	n.s.
	Vertebras	0	0	1	1,1	0	0	n.s.
	Sin Fx	69	79,3	81	85,3	24	85,7	n.s.
Antecedentes Fx Madre	No	69	79,3	81	85,3	24	85,7	n.s.
	Sí	18	20,7	14	14,7	4	14,3	n.s.
Antecedentes Fx Familiares	No	67	77,0	81	85,3	24	85,7	n.s.
	Sí	20	23,0	14	14,7	4	14,3	n.s.
Antecedentes Fx Paciente	No	78	89,7	90	94,7	27	96,4	n.s.
	Sí	9	10,3	5	5,3	1	3,6	n.s.

BB, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Bb*, heterocigóticos; *bb*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; Sig., significación estadística; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR; Fx, fracturas.

Igualmente se realizó un análisis semejante con la historia de fracturas, los antecedentes y el genotipo *Apal* (Tabla 43), no observándose diferencia en la frecuencia de casos entre genotipos ($P>0.05$). El análisis del genotipo combinado *BsmI/Apal* tampoco reveló diferencias significativas en la frecuencia de fracturas comunicadas (Tabla 44; $P>0.05$).

Tabla 43: Distribución de antecedentes de fracturas según el polimorfismo *Apal* del VDR.

		GENOTIPO SEGÚN TIPO DE FRACTURAS						Sig.
		Genotipo <i>Apal</i>						
		<i>aa</i> (n=54)		<i>Aa</i> (n=96)		<i>AA</i> (n=60)		
		n	%	n	%	n	%	
Fx Paciente	Cadera	1	1,9	0	0	0	0	n.s.
	Húmero	0	0,0	4	4,2	0	0	n.s.
	Muñeca	1	1,9	7	7,3	1	1,7	n.s.
	Vertebras	0	0	1	1	0	0	n.s.
	Sin Fx	52	96,3	84	87,5	59	98,3	n.s.
Fx Padre	Cadera	0	0	1	1	0	0	n.s.
	Muñeca	0	0	0	0	1	1,7	n.s.
	Sin Fx	54	100	95	99	59	98,3	n.s.
Fx Madre	Cadera	1	1,9	12	12,5	7	11,7	n.s.
	Húmero	0	0	1	1	2	3,3	n.s.
	Muñeca	6	11,1	4	4,2	2	3,3	n.s.
	Vertebras	0	0	1	1	0	0	n.s.
	Sin Fx	47	87	78	81,3	49	81,7	n.s.
Antecedentes Fx Madre	No	47	87	78	81,3	49	81,7	n.s.
	Sí	7	13	18	18,8	11	18,3	n.s.
Antecedentes Fx Familiares	No	47	87	77	80,2	48	80	n.s.
	Sí	7	13	19	19,8	12	20	n.s.
Antecedentes Fx Paciente	No	52	96,3	84	87,5	59	98,3	n.s.
	Sí	2	3,7	12	12,5	1	1,7	n.s.

AA, ausencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; *Aa*, heterocigóticos; *aa*, presencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; Sig., significación estadística; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *Apal* del VDR; Fx, fracturas.

Tabla 44: Distribución de antecedentes de fracturas según el polimorfismo combinado *BsmI* y *Apal* del VDR.

	Genotipo combinado														Sig.								
	<i>bbaa</i> (n=24)		<i>bbAa</i> (n=40)		<i>bbAA</i> (n=23)		<i>Bbaa</i> (n=23)		<i>BbAa</i> (n=46)		<i>BbAA</i> (n=26)		<i>BBaa</i> (n=7)			<i>BBAa</i> (n=10)		<i>BBAA</i> (n=11)					
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		n	%	n	%	n	%		
Fx Paciente																							
Cadera	1	4,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.s.
Húmero	0	0	2	5	0	0	0	0	2	4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.s.
Muñeca	0	0	4	10	1	4,3	1	4,3	2	4,3	0	0	0	0	0	0	1	10	0	0	0	0	n.s.
Vertebras	0	0	1	2,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.s.
Sin Fx	23	95,8	33	82,5	22	95,7	22	95,7	42	91,3	26	100	7	100	9	90	11	100	11	100	11	100	n.s.
Fx Padre																							
Cadera	0	0	1	2,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.s.
Muñeca	0	0	0	0	1	4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.s.
Sin Fx	24	100	39	97,5	22	95,7	23	100	46	100	26	100	7	100	10	100	11	100	11	100	11	100	n.s.
Fx Madre																							
Cadera	0	0	8	20	3	13	0	0	3	6,5	3	11,5	1	14,3	1	10	1	9,1	1	9,1	1	9,1	n.s.
Húmero	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2,2	1	3,8	0	0	0	0	0	0	1	9,1	1	9,1	n.s.
Muñeca	3	12,5	2	5	2	8,7	3	13	2	4,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.s.
Vertebras	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.s.
Sin Fx	21	87,5	30	75	18	78,3	20	87	39	84,8	22	84,6	6	85,7	9	90	9	81,8	9	81,8	9	81,8	n.s.
Antecedentes Fx Madre																							
No	21	87,5	30	75	18	78,3	20	87	39	84,8	22	84,6	6	85,7	9	90	9	81,8	9	81,8	9	81,8	n.s.
Sí	3	12,5	10	25	5	21,7	3	13	7	15,2	4	15,4	1	14,3	1	10	2	18,2	2	18,2	2	18,2	n.s.
Antecedentes Fx Familiares																							
No	21	87,5	29	72,5	17	73,9	20	87	39	84,8	22	84,6	6	85,7	9	90	9	81,8	9	81,8	9	81,8	n.s.
Sí	3	12,5	11	27,5	6	26,1	3	13	7	15,2	4	15,4	1	14,3	1	10	2	18,2	2	18,2	2	18,2	n.s.
Antecedentes Fx Paciente																							
No	23	95,8	33	82,5	22	95,7	22	95,7	42	91,3	26	100	7	100	9	90	11	100	11	100	11	100	n.s.
Sí	1	4,2	7	17,5	1	4,3	1	4,3	4	8,7	0	0	0	0	1	10	0	0	0	0	0	0	n.s.

bbaa, presencia de las enzimas de restricción *BsmI* y *Apal* en ambos alelos; *bbAa*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos heterocigótico para la enzima de restricción *Apal*; *bbAA*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* y ausencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; *Bbaa*, heterocigótico para la enzima de restricción *BsmI* y presencia de la enzima de restricción *Apal*; *BbAa*, heterocigótico para las enzimas de restricción *BsmI* y *Apal*; *BbAA*, heterocigótico para la enzima de restricción *BsmI* y ausencia de la enzima de restricción *Apal*; *BBaa*, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* y presencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; *BBAa*, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos heterocigótico para la enzima de restricción *Apal*; *BBAA*, ausencia de las enzimas de restricción *BsmI* y *Apal* en ambos alelos; Sig., significación estadística; n.s., no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes genotipos del polimorfismo *BsmI* y *Apal* del VDR; Fx, fracturas.

11.6. Estudio de correlación entre DMO, ingesta de calcio y vitamina D y genotipo VDR

El estudio de correlaciones bivariadas entre ingesta de calcio y la DMO en las diferentes localizaciones anatómicas estudiadas no reveló ninguna significancia en el caso del genotipo *BsmI* ($P > 0.05$) en todos los casos (Tabla 45). En el caso del genotipo *Apal* se encontró una correlación significativa y negativa entre la DMO en el TR y la ingesta de calcio ($r = -0.285$; $P = 0.009$) para el genotipo heterocigótico *Aa* (Tabla 46). En el genotipo combinado *BsmI/Apal* no se observaron correlaciones significativas entre la DMO y la ingesta de calcio en ninguno de los genotipos estudiados (Tabla 47).

Tabla 45: Correlaciones bivariadas parciales de Pearson de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR y la ingesta diaria de Calcio.

Genotipo <i>BsmI</i>		Ingesta de Calcio		Sig.
			diaria (mg)	
bb (n=69)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	$r = -0,138$	0,258	
	DMO (g/cm ²) - Trocánter	$r = -0,228$	0,060	
	DMO (g/cm ²) - Tri Ward	$r = -0,160$	0,189	
	DMO (g/cm ²) - Col. - L2	$r = -0,164$	0,178	
	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	$r = -0,103$	0,399	
	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	$r = -0,146$	0,232	
	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	$r = -0,151$	0,216	
	Bb (n=80)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	$r = -0,058$	0,610
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	$r = -0,010$	0,928
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	$r = 0,007$	0,954
DMO (g/cm ²) - Col. - L2		$r = -0,090$	0,426	
BB (n=25)	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	$r = -0,104$	0,358	
	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	$r = -0,065$	0,564	
	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	$r = -0,091$	0,423	
	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	$r = 0,115$	0,583	
	DMO (g/cm ²) - Trocánter	$r = 0,047$	0,825	
	DMO (g/cm ²) - Tri Ward	$r = 0,107$	0,612	
	DMO (g/cm ²) - Col. - L2	$r = 0,185$	0,377	
	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	$r = 0,139$	0,508	
	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	$r = 0,006$	0,976	
	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	$r = 0,108$	0,607	

BB, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Bb*, heterocigóticos; *bb*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; Sig., significación estadística; DMO, densidad mineral ósea.

*No existen datos de la ingesta de calcio diarias correspondientes a 36 pacientes.

Tabla 46: Correlaciones bivariadas parciales de Pearson de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo *Apal* del VDR y la ingesta diaria de Calcio.

Genotipo <i>Apal</i>			Ingesta de Calcio	Sig.
			diaria (mg)	
aa (n=43)		DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,025	0,873
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,006	0,972
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,011	0,944
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,131	0,403
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,100	0,524
		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,004	0,978
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,088	0,573
Aa (n=83)		DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,132	0,234
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,285	0,009
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,142	0,200
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,151	0,172
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,162	0,144
		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,210	0,057
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,179	0,105
AA (n=48)		DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,073	0,620
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,199	0,174
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,111	0,455
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,131	0,375
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,181	0,218
		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,114	0,440
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=0,140	0,343

AA, ausencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; Aa, heterocigóticos; aa, presencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos Sig., significación estadística; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar; DMO, densidad mineral ósea.

*No existen datos de la ingesta de calcio diarias correspondientes a 36 pacientes.

Tabla 47: Correlaciones bivariadas parciales de Pearson de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos combinados del polimorfismo *BsmI* y *ApaI* del VDR y la ingesta diaria de Calcio.

		CORRELACIONES BIVARIADAS PARCIALES DE PEARSON SEGÚN GENOTIPO COMBINADO						
		Ingesta de Calcio diaria (mg)		Ingesta de Calcio diaria (mg)		Ingesta de Calcio diaria (mg)		
		Sig.	Sig.	Sig.	Sig.	Sig.	Sig.	
bbaa (n=18)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,203	0,420	r=0,064	0,795	r=-0,249	0,635	
	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,186	0,459	r=0,062	0,802	r=-0,540	0,269	
	DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,121	0,633	r=0,130	0,595	r=-0,271	0,604	
	DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,268	0,283	r=-0,094	0,703	r=-0,097	0,855	
	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,122	0,630	r=-0,165	0,499	r=-0,073	0,891	
	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,192	0,446	r=0,092	0,708	r=-0,055	0,918	
	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,242	0,333	r=-0,050	0,840	r=-0,026	0,960	
	bbaa (n=36)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,167	0,330	r=-0,193	0,238	r=-0,117	0,783
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,322	0,055	r=-0,260	0,110	r=-0,282	0,499
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,231	0,175	r=-0,151	0,357	r=-0,127	0,755
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,134	0,435	r=-0,220	0,177	r=-0,089	0,834
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,101	0,559	r=-0,240	0,141	r=-0,196	0,641
DMO (g/cm ²) - Col. - L4		r=-0,165	0,338	r=-0,294	0,069	r=-0,239	0,568	
DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4		r=-0,133	0,440	r=-0,265	0,103	r=-0,182	0,666	
bbaa (n=15)		DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,093	0,742	r=0,057	0,801	r=-0,028	0,936
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,025	0,931	r=0,210	0,347	r=-0,223	0,510
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,095	0,737	r=0,168	0,455	r=-0,040	0,907
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,125	0,658	r=0,047	0,836	r=-0,434	0,183
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,038	0,894	r=-0,104	0,644	r=-0,446	0,169
	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,049	0,862	r=-0,098	0,664	r=-0,235	0,487	
	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,041	0,885	r=-0,082	0,718	r=-0,392	0,233	
	Bbaa (n=19)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,064	0,795	r=0,064	0,795	r=-0,249	0,635
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,062	0,802	r=0,062	0,802	r=-0,540	0,269
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,130	0,595	r=0,130	0,595	r=-0,271	0,604
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,094	0,703	r=-0,094	0,703	r=-0,097	0,855
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,165	0,499	r=-0,165	0,499	r=-0,073	0,891
DMO (g/cm ²) - Col. - L4		r=0,092	0,708	r=0,092	0,708	r=-0,055	0,918	
DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4		r=-0,050	0,840	r=-0,050	0,840	r=-0,026	0,960	
Bbaa (n=39)		DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,193	0,238	r=-0,193	0,238	r=-0,117	0,783
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,260	0,110	r=-0,260	0,110	r=-0,282	0,499
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,151	0,357	r=-0,151	0,357	r=-0,127	0,755
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,220	0,177	r=-0,220	0,177	r=-0,089	0,834
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,240	0,141	r=-0,240	0,141	r=-0,196	0,641
	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,294	0,069	r=-0,294	0,069	r=-0,239	0,568	
	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,265	0,103	r=-0,265	0,103	r=-0,182	0,666	
	Bbaa (n=22)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,057	0,801	r=0,057	0,801	r=-0,028	0,936
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,210	0,347	r=0,210	0,347	r=-0,223	0,510
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,168	0,455	r=0,168	0,455	r=-0,040	0,907
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,047	0,836	r=0,047	0,836	r=-0,434	0,183
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,104	0,644	r=-0,104	0,644	r=-0,446	0,169
DMO (g/cm ²) - Col. - L4		r=-0,098	0,664	r=-0,098	0,664	r=-0,235	0,487	
DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4		r=-0,082	0,718	r=-0,082	0,718	r=-0,392	0,233	
BBaa (n=6)		DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,249	0,635	r=-0,249	0,635	r=-0,249	0,635
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,540	0,269	r=-0,540	0,269	r=-0,540	0,269
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,271	0,604	r=-0,271	0,604	r=-0,271	0,604
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,097	0,855	r=-0,097	0,855	r=-0,097	0,855
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,073	0,891	r=-0,073	0,891	r=-0,073	0,891
	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,055	0,918	r=-0,055	0,918	r=-0,055	0,918	
	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,026	0,960	r=-0,026	0,960	r=-0,026	0,960	

bbaa, presencia de las enzimas de restricción *BsmI* y *ApaI* en ambos alelos; *bbaa*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos heterocigótico para la enzima de restricción *ApaI*; *bbaa*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* y ausencia de la enzima de restricción *ApaI* en ambos alelos; *Bbaa*, heterocigótico para la enzima de restricción *BsmI* y presencia de la enzima de restricción *ApaI*; *Bbaa*, heterocigótico para las enzimas de restricción *BsmI* y *ApaI*; *BBaa*, heterocigótico para la enzima de restricción *BsmI* y ausencia de la enzima de restricción *ApaI*; *BBaa*, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* y presencia de la enzima de restricción *ApaI* en ambos alelos; *BBaa*, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos heterocigótico para la enzima de restricción *ApaI*;

*No existen datos de la ingesta de calcio diarias correspondientes a 36 pacientes.

Posteriormente se procedió al análisis de correlación (correlaciones parciales), tras el ajuste de las participantes por edad e IMC. Tras el ajuste, calcio y DMO continuaron sin correlacionar significativamente en función del genotipo *BsmI* (Tabla 48). La correlación entre DMO en el TR e ingesta de calcio analizada anteriormente (en el genotipo *Apal*) no permaneció como significativa después del ajuste ($r=-0.133$; $P=0.236$) (Tabla 49) y tampoco se observaron correlaciones significativas en función del genotipo combinado *BsmI/Apal* respecto de la DMO y la ingesta diaria de calcio (Tabla 50).

Tabla 48: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por edad e IMC de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR y la ingesta diaria de Calcio.

Genotipo <i>BsmI</i>	Ajuste		Ingesta de Calcio diaria (mg)	Sig.
bb (n=69)	Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,117	0,344
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,008	0,951
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,078	0,528
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,020	0,869
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,051	0,683
		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,024	0,846
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=0,038	0,759
Bb (n=80)	Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,078	0,497
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,019	0,868
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,008	0,946
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,108	0,345
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,112	0,327
		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,074	0,519
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,104	0,364
BB (n=25)	Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,083	0,707
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,118	0,591
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,018	0,935
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,151	0,491
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,074	0,738
		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,042	0,850
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=0,052	0,813

BB, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Bb*, heterocigóticos; *bb*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; Tri Ward, triángulo de Ward DMO, densidad mineral ósea; IMC, Índice de Masa Corporal.

*No existen datos de la ingesta de calcio diarias correspondientes a 36 pacientes.

Tabla 49: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por edad e IMC de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo *Apal* del VDR y la ingesta diaria de Calcio.

Genotipo <i>Apal</i>	Ajuste		Ingesta de Calcio diaria (mg)	Sig.
aa (n=43)	Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,172	0,284
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,041	0,799
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,118	0,462
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,282	0,074
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,185	0,247
		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,064	0,691
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,199	0,212
Aa (n=83)	Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,051	0,654
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,133	0,236
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,004	0,969
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,007	0,951
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,062	0,584
		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,117	0,299
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,063	0,574
AA (n=48)	Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,036	0,812
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,197	0,189
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,084	0,580
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,103	0,495
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,160	0,288
		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,098	0,517
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=0,116	0,441

AA, ausencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; Aa, heterocigóticos; aa, presencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; Tri Ward, triángulo de Ward; DMO, densidad mineral ósea; IMC, Índice de Masa Corporal.

*No existen datos de la ingesta de calcio diarias correspondientes a 36 pacientes.

No se observaron correlaciones significativas (bivariadas) entre la DMO en las diferentes localizaciones corporales estudiadas y la ingesta diaria de vitamina D ni en función del genotipo *BsmI* (Tabla 51), ni en función del genotipo *Apal* (Tabla 52) ($P > 0.05$ para todas las correlaciones y en todos los casos). Respecto al genotipo combinado *BsmI/Apal* según la DMO y la ingesta diaria de vitamina D (Tabla 53), tampoco se observaron correlaciones significativas.

Tabla 51: Correlaciones bivariadas parciales de Pearson de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR y la ingesta diaria de Vitamina D.

Genotipo <i>BsmI</i>			Ingesta de Vit. D	Sig.
			diaria (μg)	
bb (n=69)		DMO (g/cm^2) - Cuello Femoral	$r=0,029$	0,815
		DMO (g/cm^2) - Trocánter	$r=-0,029$	0,816
		DMO (g/cm^2) - Tri Ward	$r=-0,063$	0,610
		DMO (g/cm^2) - Col. - L2	$r=-0,022$	0,858
		DMO (g/cm^2) - Col. - L3	$r=0,032$	0,796
		DMO (g/cm^2) - Col. - L4	$r=0,051$	0,675
		DMO (g/cm^2) - Col. - L2-L4	$r=0,028$	0,819
Bb (n=82)		DMO (g/cm^2) - Cuello Femoral	$r=-0,057$	0,613
		DMO (g/cm^2) - Trocánter	$r=0,024$	0,830
		DMO (g/cm^2) - Tri Ward	$r=0,003$	0,977
		DMO (g/cm^2) - Col. - L2	$r=0,017$	0,882
		DMO (g/cm^2) - Col. - L3	$r=-0,008$	0,941
		DMO (g/cm^2) - Col. - L4	$r=-0,040$	0,724
		DMO (g/cm^2) - Col. - L2-L4	$r=-0,012$	0,916
BB (n=25)		DMO (g/cm^2) - Cuello Femoral	$r=-0,030$	0,885
		DMO (g/cm^2) - Trocánter	$r=0,025$	0,906
		DMO (g/cm^2) - Tri Ward	$r=0,019$	0,928
		DMO (g/cm^2) - Col. - L2	$r=0,201$	0,334
		DMO (g/cm^2) - Col. - L3	$r=0,065$	0,759
		DMO (g/cm^2) - Col. - L4	$r=-0,056$	0,789
		DMO (g/cm^2) - Col. - L2-L4	$r=0,030$	0,888

BB, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Bb*, heterocigóticos; *bb*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; Vit. D, Vitamina D; Sig., significación estadística; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar; DMO, densidad mineral ósea.

*No existen datos de la ingesta de Vitamina D diarias correspondientes a 34 pacientes.

Tabla 52: Correlaciones bivariadas parciales de Pearson de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo *Apal* del VDR y la ingesta diaria de Vitamina D.

Genotipo <i>Apal</i>			Ingesta de Vit. D	Sig.
			diaria (µg)	
aa (n=44)		DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,046	0,769
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,024	0,876
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,013	0,936
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,022	0,888
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,051	0,742
		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,122	0,429
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=0,025	0,872
Aa (n=83)		DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,045	0,683
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,027	0,807
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,001	0,994
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,035	0,752
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,012	0,918
		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,043	0,698
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=0,001	0,994
AA (n=49)		DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,060	0,681
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,001	0,995
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,038	0,797
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,057	0,700
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,036	0,809
		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,030	0,836
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=0,000	0,999

AA, ausencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; Aa, heterocigóticos; aa, presencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; Vit. D, Vitamina D; Sig., significación estadística; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar; DMO, densidad mineral ósea.

*No existen datos de la ingesta de Vitamina D diarias correspondientes a 34 pacientes.

Tabla 53: Correlaciones bivariadas parciales de Pearson de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos combinados del polimorfismo *BsmI* y *ApaI* del VDR y la ingesta diaria de Vitamina D.

CORRELACIONES BIVARIADAS PARCIALES DE PEARSON SEGÚN GENOTIPO COMBINADO											
	Ingesta de Vit. D diaria (µg)			Ingesta de Vit. D diaria (µg)			Ingesta de Vit. D diaria (µg)				
	Sig.		Sig.	Sig.		Sig.		Sig.		Sig.	
bbaa (n=18)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,261	0,295	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,173	0,467	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,221	0,674		
	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,226	0,367	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,052	0,826	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,674	0,142		
	DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,147	0,559	DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,073	0,760	DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,319	0,538		
	DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,167	0,508	DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,029	0,903	DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,438	0,384		
	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,168	0,504	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,045	0,850	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,286	0,583		
DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,014	0,957	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,106	0,655	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,480	0,335			
DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,084	0,741	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,005	0,984	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=0,416	0,412			
bbaa (n=36)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,075	0,662	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,082	0,619	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,126	0,766		
	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,029	0,868	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,056	0,736	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,384	0,348		
	DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,104	0,548	DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,024	0,886	DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,107	0,802		
	DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,057	0,740	DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,048	0,771	DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,380	0,353		
	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,118	0,492	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,009	0,955	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,586	0,127		
DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,055	0,751	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,043	0,794	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,569	0,141			
DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=0,079	0,646	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,004	0,982	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,529	0,177			
bbaa (n=15)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,131	0,641	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,173	0,430	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,132	0,698		
	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,227	0,417	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,120	0,586	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,030	0,930		
	DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,068	0,809	DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,154	0,482	DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,038	0,913		
	DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,282	0,309	DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,134	0,543	DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,410	0,210		
	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,223	0,423	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,100	0,649	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,280	0,405		
DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,063	0,823	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,141	0,522	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,045	0,895			
DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,147	0,602	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,124	0,574	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=0,205	0,545			

bbaa, presencia de las enzimas de restricción *BsmI* y *ApaI* en ambos alelos; *bbaa*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos heterocigótico para la enzima de restricción *ApaI*; *bbaa*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* y ausencia de la enzima de restricción *ApaI* en ambos alelos; *Bbaa*, heterocigótico para la enzima de restricción *BsmI* y presencia de la enzima de restricción *ApaI*; *Bbaa*, heterocigótico para las enzimas de restricción *BsmI* y *ApaI*; *Bbaa*, heterocigótico para la enzima de restricción *BsmI* y ausencia de la enzima de restricción *ApaI*; *Bbaa*, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* y presencia de la enzima de restricción *ApaI* en ambos alelos; *Bbaa*, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos heterocigótico para la enzima de restricción *ApaI*; *Bbaa*, ausencia de las enzimas de restricción *BsmI* y *ApaI* en ambos alelos; Vit. D, Vitamina D; Sig., significación estadística; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar; DMO, densidad mineral ósea.

*No existen datos de la ingesta de Vitamina D diarias correspondientes a 34 pacientes.

Tras el posterior ajuste por edad e IMC continuó manteniéndose una ausencia de significación en las correlaciones observadas entre DMO e ingesta de diaria de vitamina D en función del genotipo *BsmI* (Tabla 54), *Apal* (Tabla 55) y el genotipo combinado *BsmI/Apal* (Tabla 56) ($P>0.05$ en todas las correlaciones y en todos los casos).

Tabla 54: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por edad e IMC de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR y la ingesta diaria de Vitamina D.

Genotipo <i>BsmI</i>	Ajuste		Ingesta de Vit. D diaria (μg)	Sig.
bb (n=69)	Edad & IMC (kg/m^2)	DMO (g/cm^2) - Cuello Femoral	$r=0,152$	0,220
		DMO (g/cm^2) - Trocánter	$r=0,052$	0,673
		DMO (g/cm^2) - Tri Ward	$r=0,042$	0,733
		DMO (g/cm^2) - Col. - L2	$r=0,043$	0,729
		DMO (g/cm^2) - Col. - L3	$r=0,089$	0,475
		DMO (g/cm^2) - Col. - L4	$r=0,107$	0,387
		DMO (g/cm^2) - Col. - L2-L4	$r=0,097$	0,433
Bb (n=82)	Edad & IMC (kg/m^2)	DMO (g/cm^2) - Cuello Femoral	$r=-0,062$	0,586
		DMO (g/cm^2) - Trocánter	$r=0,036$	0,752
		DMO (g/cm^2) - Tri Ward	$r=-0,006$	0,961
		DMO (g/cm^2) - Col. - L2	$r=0,013$	0,906
		DMO (g/cm^2) - Col. - L3	$r=-0,006$	0,956
		DMO (g/cm^2) - Col. - L4	$r=-0,035$	0,760
		DMO (g/cm^2) - Col. - L2-L4	$r=-0,011$	0,921
BB (n=25)	Edad & IMC (kg/m^2)	DMO (g/cm^2) - Cuello Femoral	$r=-0,084$	0,705
		DMO (g/cm^2) - Trocánter	$r=0,151$	0,491
		DMO (g/cm^2) - Tri Ward	$r=-0,094$	0,669
		DMO (g/cm^2) - Col. - L2	$r=0,200$	0,360
		DMO (g/cm^2) - Col. - L3	$r=-0,011$	0,960
		DMO (g/cm^2) - Col. - L4	$r=-0,102$	0,645
		DMO (g/cm^2) - Col. - L2-L4	$r=-0,031$	0,888

BB, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Bb*, heterocigóticos; *bb*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; Vit. D, Vitamina D; Sig., significación estadística; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar; DMO, densidad mineral ósea; IMC, Índice de Masa Corporal.

*No existen datos de la ingesta de Vitamina D diarias correspondientes a 34 pacientes.

Tabla 55: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por edad e IMC de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo *Apal* del VDR y la ingesta diaria de Vitamina D.

Genotipo <i>Apal</i>	Ajuste		Ingesta de Vit. D diaria (μg)	Sig.
aa (n=44)	Edad & IMC (kg/m^2)	DMO (g/cm^2) - Cuello Femoral	$r=-0,064$	0,687
		DMO (g/cm^2) - Trocánter	$r=-0,041$	0,794
		DMO (g/cm^2) - Tri Ward	$r=-0,102$	0,521
		DMO (g/cm^2) - Col. - L2	$r=-0,134$	0,396
		DMO (g/cm^2) - Col. - L3	$r=-0,120$	0,451
		DMO (g/cm^2) - Col. - L4	$r=0,069$	0,665
		DMO (g/cm^2) - Col. - L2-L4	$r=-0,058$	0,715
Aa (n=83)	Edad & IMC (kg/m^2)	DMO (g/cm^2) - Cuello Femoral	$r=-0,020$	0,862
		DMO (g/cm^2) - Trocánter	$r=0,065$	0,567
		DMO (g/cm^2) - Tri Ward	$r=0,021$	0,855
		DMO (g/cm^2) - Col. - L2	$r=0,064$	0,568
		DMO (g/cm^2) - Col. - L3	$r=0,032$	0,779
		DMO (g/cm^2) - Col. - L4	$r=-0,023$	0,835
		DMO (g/cm^2) - Col. - L2-L4	$r=0,024$	0,830
AA (n=49)	Edad & IMC (kg/m^2)	DMO (g/cm^2) - Cuello Femoral	$r=-0,115$	0,442
		DMO (g/cm^2) - Trocánter	$r=0,024$	0,871
		DMO (g/cm^2) - Tri Ward	$r=-0,089$	0,550
		DMO (g/cm^2) - Col. - L2	$r=0,011$	0,944
		DMO (g/cm^2) - Col. - L3	$r=0,003$	0,985
		DMO (g/cm^2) - Col. - L4	$r=-0,038$	0,797
		DMO (g/cm^2) - Col. - L2-L4	$r=-0,033$	0,824

AA, ausencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; Aa, heterocigóticos; aa, presencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; Vit. D, Vitamina D; Sig., significación estadística; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar; DMO, densidad mineral ósea; IMC, Índice de Masa Corporal.

*No existen datos de la ingesta de Vitamina D diarias correspondientes a 34 pacientes.

Las participantes fueron posteriormente estratificadas en función de la ingesta de calcio, creándose los ya previamente descritos tres grupos <800 mg/día, 800-1200 mg/día y >1200 mg/día. Se realizó a continuación el estudio de correlación (bivariadas) observándose una correlación significativa y negativa en el grupo <800 mg/día entre la DMO L4 y la ingesta de calcio en dicho grupo ($r=-0.541$; $P=0.037$) en el genotipo *bb* (Tabla 57). Igualmente en el genotipo *BsmI* se observó una correlación significativa y positiva en el grupo de calcio 800-1200 mg/día entre la DMO L2 y la ingesta de calcio ($r=0.419$; $P=0.037$) y la DMO L2-L4 y la ingesta de calcio ($r=0.400$; $P=0.047$) (Tabla 57). En el resto de grupos y genotipos *BsmI* no se observaron correlaciones significativas (Tabla 57). Por el contrario, tras estratificar a las participantes en función del consumo de calcio, y el genotipo *Apal* no se observó ninguna correlación significativa entre la DMO medida en las diferentes localizaciones corporales y la ingesta de calcio (Tabla 58) ($P>0.05$ en todas las correlaciones y todos los casos). El estudio del genotipo combinado *BsmI/Apal* mostró correlaciones significativas y negativas en el genotipo *bbAa* entre la DMO y la ingesta de calcio en el grupo de ingesta <800 mg/día en CF, TW, L2-L4 y L4 ($r=-0.704$; $P=0.034$) ($r=-0.683$; $P=0.042$), ($r=-0.690$; $P=0.040$) y ($r=-0.771$; $P=0.015$) respectivamente (Tabla 59) y significativas y positivas con la DMO en L2-L4, L3 y L4 en el grupo de 800-1200 mg/día respectivamente ($r=0.653$; $P=0.030$) ($r=0.649$; $P=0.031$) y ($r=0.668$; $P=0.025$) (Tabla 59). En el genotipo *bbAA* se observaron correlaciones significativas entre la DMO en L4 y el consumo de calcio en el grupo <800 mg/día ($r=-0.998$; $P=0.036$), y con la DMO en L3 y el consumo de calcio en el grupo >1200 mg/día ($r=0.828$; $P=0.042$) (Tabla 59). En el genotipo combinado *BbAA* se observaron correlaciones (bivariadas) significativas entre la DMO en CF y la ingesta de calcio en el grupo con ingesta <800 mg/día ($r=0.979$; $P=0.001$) y también con L2, L2-L4 y L3 ($r=0.895$; $P=0.016$), ($r=0.846$; $P=0.034$) y ($r=0.828$; $P=0.042$) (Tabla 60). En el

genotipo combinado dominante *BBAA* se observó una correlación significativa y negativa ($r=-0.999$; $P=0.016$) entre la ingesta de calcio y la DMO en el TW en el grupo <800 mg/día. Igualmente en este genotipo se observaron correlaciones significativas y negativas entre la DMO en CF y L2 con la ingesta de calcio en el grupo 800-1200 mg/día ($r=-0.940$; $P=0.017$) y ($r=-0.940$; $P=0.017$) (Tabla 61). Ninguna correlación adicional fue significativa en función del genotipo o el grupo de ingesta de calcio ($P>0.05$ en todas las correlaciones y todos los casos).

El análisis de correlación parcial ajustado por edad e IMC de las participantes, y en función del grupo de consumo diario de calcio detectó correlaciones persistentes entre la DMO en CF y la ingesta de calcio en el grupo 800-1200 mg/día en el genotipo *bb* ($r=0.418$; $P=0.047$) y entre la DMO en L2-L4 y la ingesta de calcio ($r=0.465$; $P=0.025$) (Tabla 62). No se observó ninguna correlación adicional significativa entre la DMO y la ingesta de calcio en función del genotipo *BsmI* y el grupo de ingesta de calcio (Tabla 62) ($P>0.05$ en todos los casos). En cuanto al genotipo *Apal* se observaron correlaciones persistentes, significativas y positivas, entre la DMO en el CF y TW y la ingesta de calcio en el grupo >1200 mg/día y asociadas al genotipo heterocigótico *Aa* después del ajuste de la muestra por edad e IMC. La correlación observada entre la DMO en el CF y el consumo de calcio fue de $r=0.405$ ($P=0.013$) y $r=0.367$ ($P=0.026$) para TW. Igualmente en el grupo >1200 mg/día y asociada al genotipo dominante *AA* se observó una correlación significativa y positiva entre la DMO en el TR y la ingesta de calcio ($r=0.474$; $P=0.047$) (Tabla 63). El análisis del genotipo combinado *BsmI/Apal* (Tabla 64) reveló correlaciones significativas (después del ajuste por edad e IMC) en el genotipo *bbAa* y el grupo <800 mg/día de calcio entre la DMO en L4 y la ingesta de calcio ($r=-0.781$; $P=0.038$), en el grupo >1200 mg/día entre la DMO en CF, TW y la ingesta de calcio ($r=0.718$; $P=0.004$) y ($r=0.671$; $P=0.009$) respectivamente, y en el grupo

800-1200 mg/día de calcio con la L2, L3, L4 y L2-L4 con ($r=0.926;P<0.001$), ($r=0.935;P<0.001$), ($r=0.938;P<0.001$) y ($r=0.953;P<0.0001$) respectivamente (Tabla 64). En el genotipo combinado *BbAa* también se observaron correlaciones (parciales) significativas tras el ajuste por edad e IMC (Tabla 65). En el grupo 800-1200 mg/día de calcio la DMO en L2, L3, L4 y L2-L4 correlacionó significativa y negativamente con la ingesta de calcio ($r=-0.580;P=0.048$), ($r=-0.639;P=0.025$), ($r=-0.578;P=0.049$) y ($r=-0.615;P=0.033$) respectivamente. En el genotipo *BbAA* (grupo <800 mg/día) se observó la existencia de una correlación (parcial) entre la DMO en el CF y la ingesta de calcio ($r=0.987;P=0.013$) (Tabla 65). En el genotipo *BBAa* del grupo >1200 mg/día, se observó una correlación significativa y negativa ajustada por edad e IMC entre la DMO en columna lumbar y la ingesta de calcio ($r=-0.997;P=0.046$) (Tabla 66). Finalmente, en el genotipo dominante combinado *BBAA* se observó una correlación significativa y negativa ($r=-0.999;P=0.032$) en el grupo 800-1200 mg/día entre la DMO en L2 y la ingesta de calcio (Tabla 66).

Posteriormente procedimos a ajustar adicionalmente la muestra por los años desde la menopausia. En este caso y referido al genotipo *Bsml*, las mujeres con genotipo *bb* y un consumo de calcio entre 800-1200 mg/día presentaron una correlación significativa y positiva (ajustada por edad, IMC y años desde la menopausia) entre la DMO en la columna lumbar y el consumo de calcio ($r=0.464;P=0.029;n=25$) y adicionalmente también entre la DMO en L2 y el consumo de calcio ($r=0.528;P=0.012$) (Figura 14). En cuanto al genotipo *Apal*, y tras el ajuste adicional por los años desde la menopausia, se observan correlaciones significativas y positivas entre el consumo de calcio y la DMO en el CF ($r=0.400;P=0.019$) (Figura 15) y la DMO en el TW y la ingesta de calcio

($r=0.363$; $P=0.035$) en el genotipo heterocigótico *Aa* y entre las mujeres con una ingesta >1200 mg/día de calcio.

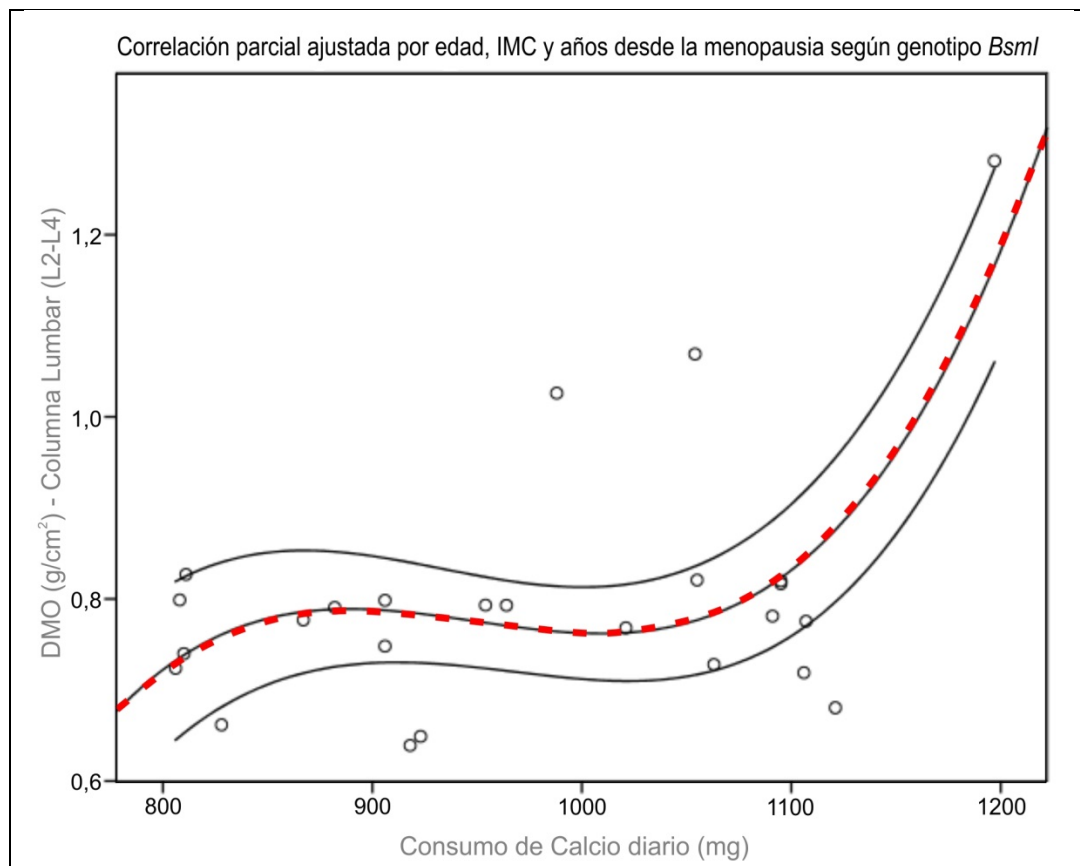


Figura 14: Correlación parcial ajustada por edad, IMC y años desde la menopausia del consumo de Calcio diario y la DMO en Columna Lumbar (L2-L4), según genotipo *BsmI*

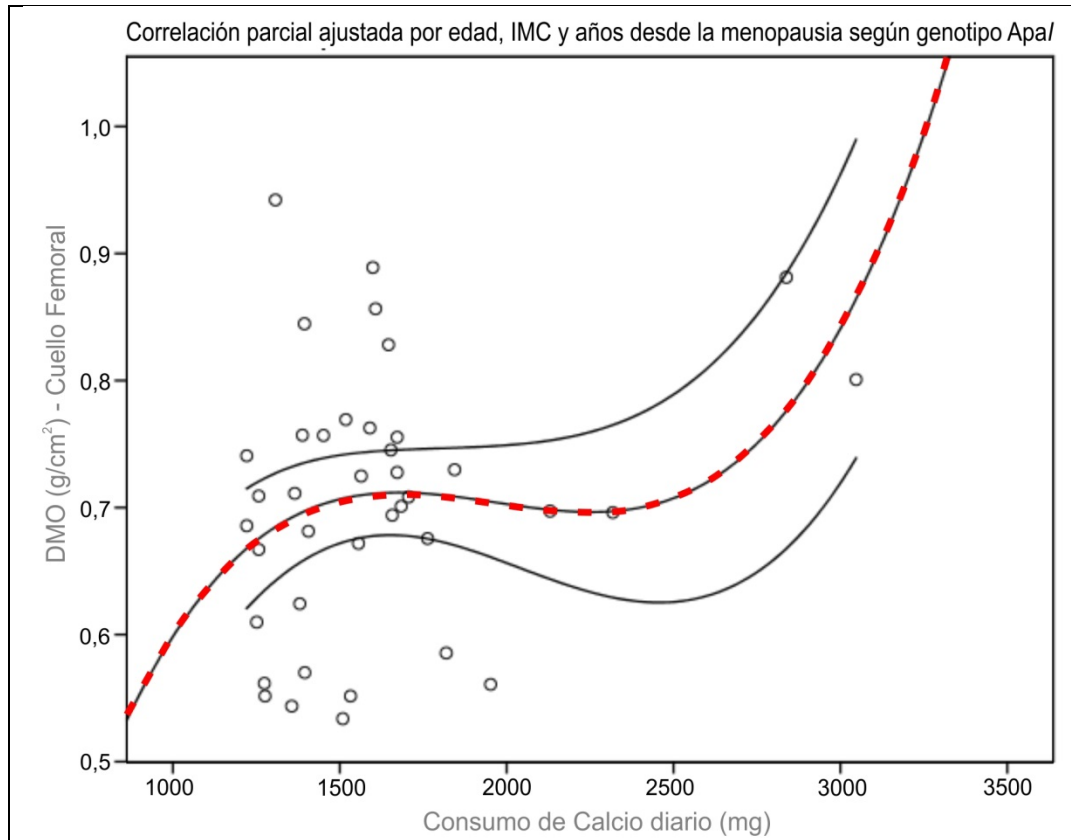


Figura 15: Correlación parcial ajustada por edad, IMC y años desde la menopausia del consumo de Calcio diario y la DMO en Cuello Femoral, según genotipo *Bsm1*

Tabla 57: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por ingesta de Calcio diaria de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR y la ingesta diaria de Calcio.

CORRELACIONES PARCIALES DE PEARSON AJUSTADAS POR CONSUMO DE CALCIO DIARIO SEGÚN GENOTIPO <i>BsmI</i>													
Ajust.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.	Ajust.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.	Ajust.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.	Ajust.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.		
bb (n=15)	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	r=-0,462	0,083	Bb (n=17)	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	r=0,373	0,141	BB (n=5)	Ing. Calcio Baja (0-800 mg/día)	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	r=-0,566	0,320	
	DMO (g/cm ³) - Trocánter	r=-0,412	0,127		DMO (g/cm ³) - Trocánter	r=0,286	0,266			DMO (g/cm ³) - Trocánter	r=-0,534	0,354	
	DMO (g/cm ³) - Tri Ward	r=-0,409	0,130		DMO (g/cm ³) - Tri Ward	r=0,392	0,120			DMO (g/cm ³) - Tri Ward	r=-0,462	0,434	
	DMO (g/cm ³) - Col. - L2	r=-0,425	0,114		DMO (g/cm ³) - Col. - L2	r=0,387	0,125			DMO (g/cm ³) - Col. - L2	r=0,177	0,776	
	DMO (g/cm ³) - Col. - L3	r=-0,450	0,092		DMO (g/cm ³) - Col. - L3	r=0,293	0,254			DMO (g/cm ³) - Col. - L3	r=-0,319	0,601	
	DMO (g/cm ³) - Col. - L4	r=-0,541	0,037		DMO (g/cm ³) - Col. - L4	r=0,304	0,236			DMO (g/cm ³) - Col. - L4	r=-0,038	0,952	
	DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	r=-0,482	0,069		DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	r=0,329	0,197			DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	r=-0,053	0,932	
	bb (n=25)	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	r=0,284	0,169	Bb (n=22)	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	r=-0,283	0,203	BB (n=10)	Ing. Calcio Nor. (800-1200 mg/día)	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	r=-0,488	0,153
		DMO (g/cm ³) - Trocánter	r=0,176	0,400		DMO (g/cm ³) - Trocánter	r=-0,283	0,201			DMO (g/cm ³) - Trocánter	r=-0,067	0,854
DMO (g/cm ³) - Tri Ward		r=0,159	0,447		DMO (g/cm ³) - Tri Ward	r=-0,341	0,121			DMO (g/cm ³) - Tri Ward	r=-0,316	0,373	
DMO (g/cm ³) - Col. - L2		r=0,419	0,037		DMO (g/cm ³) - Col. - L2	r=-0,330	0,134			DMO (g/cm ³) - Col. - L2	r=-0,390	0,266	
DMO (g/cm ³) - Col. - L3		r=0,360	0,077		DMO (g/cm ³) - Col. - L3	r=-0,361	0,099			DMO (g/cm ³) - Col. - L3	r=-0,319	0,369	
DMO (g/cm ³) - Col. - L4		r=0,336	0,101		DMO (g/cm ³) - Col. - L4	r=-0,355	0,104			DMO (g/cm ³) - Col. - L4	r=-0,012	0,973	
DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4		r=0,400	0,047		DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	r=-0,357	0,103			DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	r=-0,222	0,538	
bb (n=29)		DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	r=0,165	0,392	Bb (n=41)	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	r=0,038	0,812	BB (n=10)	Ing. Calcio Alta (>1200 mg/día)	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	r=0,196	0,588
		DMO (g/cm ³) - Trocánter	r=-0,090	0,643		DMO (g/cm ³) - Trocánter	r=0,179	0,263			DMO (g/cm ³) - Trocánter	r=0,027	0,941
	DMO (g/cm ³) - Tri Ward	r=0,126	0,513		DMO (g/cm ³) - Tri Ward	r=0,169	0,290			DMO (g/cm ³) - Tri Ward	r=-0,183	0,613	
	DMO (g/cm ³) - Col. - L2	r=-0,141	0,465		DMO (g/cm ³) - Col. - L2	r=0,187	0,241			DMO (g/cm ³) - Col. - L2	r=-0,245	0,495	
	DMO (g/cm ³) - Col. - L3	r=0,015	0,940		DMO (g/cm ³) - Col. - L3	r=0,226	0,155			DMO (g/cm ³) - Col. - L3	r=-0,241	0,502	
	DMO (g/cm ³) - Col. - L4	r=-0,046	0,812		DMO (g/cm ³) - Col. - L4	r=0,199	0,211			DMO (g/cm ³) - Col. - L4	r=-0,290	0,416	
					DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	r=0,219	0,168			DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	r=-0,248	0,491	

BB, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Bb*, heterocigóticos; *bb*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Sig.*, significación estadística; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar; DMO, densidad mineral ósea.

*No existen datos de la ingesta de Calcio diarias correspondientes a 36 pacientes.

Tabla 58. Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por ingesta de Calcio diaria de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo *Apa1* del VDR y la ingesta diaria de Calcio.

CORRELACIONES PARCIALES DE PEARSON AJUSTADAS POR CONSUMO DE CALCIO DIARIO SEGÚN GENOTIPO <i>Apa1</i>														
Ajust.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.	Ajust.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.	Ajust.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.				
											Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.
aa (n=8)	Ing. Calcio Baja (0-800 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,219	0,603	Aa (n=17)	Ing. Calcio Baja (0-800 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,195	0,453	AA (n=12)	Ing. Calcio Baja (0-800 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,300	0,343
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,293	0,481			DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,227	0,381			DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,056	0,864
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,081	0,849			DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,210	0,419			DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,324	0,303
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,318	0,443			DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,166	0,524			DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,550	0,064
aa (n=14)	Ing. Calcio Nor. (800-1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,491	0,217	Aa (n=27)	Ing. Calcio Nor. (800-1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,162	0,535	AA (n=16)	Ing. Calcio Nor. (800-1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,465	0,128
		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,458	0,254			DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,169	0,516			DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,397	0,201
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,436	0,280			DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,168	0,520			DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,478	0,116
		DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,158	0,590			DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,030	0,883			DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,055	0,841
aa (n=21)	Ing. Calcio Alta (>1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,267	0,356	Aa (n=39)	Ing. Calcio Alta (>1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,024	0,904	AA (n=20)	Ing. Calcio Alta (>1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,419	0,066
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,307	0,285			DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,052	0,795			DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,142	0,550
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,191	0,512			DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,152	0,450			DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,169	0,477
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,094	0,748			DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,060	0,765			DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,199	0,401
aa (n=21)	Ing. Calcio Alta (>1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,076	0,795	Aa (n=39)	Ing. Calcio Alta (>1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,030	0,881	AA (n=20)	Ing. Calcio Alta (>1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,143	0,548
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,238	0,412			DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,084	0,676			DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,013	0,961
		DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,135	0,560			DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,263	0,105			DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,208	0,378
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,163	0,479			DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,118	0,474			DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,142	0,550
aa (n=21)	Ing. Calcio Alta (>1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,145	0,531	Aa (n=39)	Ing. Calcio Alta (>1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,057	0,728	AA (n=20)	Ing. Calcio Alta (>1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,169	0,477
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,081	0,726			DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,120	0,467			DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,199	0,401
		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,093	0,690			DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,108	0,514			DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,143	0,548
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,103	0,656			DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,116	0,480			DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,180	0,447

AA, ausencia de la enzima de restricción *Apa1* en ambos alelos; Aa, heterocigóticos; aa, presencia de la enzima de restricción *Apa1* en ambos alelos; Sig., significación estadística; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar; DMO, densidad mineral ósea.

*No existen datos de la ingesta de Calcio diarias correspondientes a 36 pacientes.

Tabla 59: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por ingesta de Calcio diaria de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos combinados del polimorfismo *BsmI* y *Apal* del VDR y la ingesta diaria de Calcio. (I)

CORRELACIONES PARCIALES DE PEARSON AJUSTADAS POR CONSUMO DE CALCIO DIARIO SEGÚN GENOTIPO COMBINADO (I)											
Ajust.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.	Ajust.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.	Ajust.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.	Ajust.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.
bbaa (n=3)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,145	bbAa (n=9)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,704	bbAA (n=3)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,586	Ing. Calcio	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,586
	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,010	Baja (0-800 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,618	Calcio (800-1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,984	Baja (0-800 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,984
	DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,025		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,683		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,749		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,749
	DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,407		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,651		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,671		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,671
	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,404		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,638		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,738		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,738
	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,063		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,771		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,998		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,998
bbaa (n=8)	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=0,305		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,690		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,802		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,802
	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,183	bbAa (n=11)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,373	bbAA (n=6)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,207	Ing. Calcio	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,207
	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,006	Calcio (800-1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,337	Nor. (>1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,180	Calcio (800-1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,180
	DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,028		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,389		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,194		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,194
	DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,008		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,601		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,340		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,340
	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,026		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,649		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,468		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,468
bbaa (n=7)	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,067		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,668		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,210		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,210
	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,126		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=0,653		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=0,340		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=0,340
	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,109	bbAa (n=16)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,454	bbAA (n=6)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,448	Ing. Calcio	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,448
	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,209	Calcio (>1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,006	Alta (>1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,108	Alta (>1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,108
	DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,208		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,443		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,318		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,318
	DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,321		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,045		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,348		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,348
bbaa (n=7)	DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,209		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,326		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,828		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,828
	DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,216		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,183		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,760		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,760
	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,249		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=0,218		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=0,724		DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=0,724
	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,817		DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,077		DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,448		DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,448
	DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,652		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,984		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,448		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,448
	DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,654		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,085		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,318		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,318

bbaa, presencia de las enzimas de restricción *BsmI* y *Apal* en ambos alelos; *bbAa*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos heterocigótico para la enzima de restricción *Apal*; *bbAA*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* y ausencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; Sig., significación estadística; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar; DMO, densidad mineral ósea; IMC, Índice de Masa Corporal.

*No existen datos de la ingesta de Calcio diarias correspondientes a 36 pacientes.

Tabla 60: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por ingesta de Calcio diaria de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos combinados del polimorfismo *BsmI* y *ApaI* del VDR y la ingesta diaria de Calcio. (II)

CORRELACIONES PARCIALES DE PEARSON AJUSTADAS POR CONSUMO DE CALCIO DIARIO SEGÚN GENOTIPO COMBINADO (II)														
Ajust.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.	Ajust.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.	Ajust.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.				
Bbaa (n=4)	Ing. Calcio Baja (0-800 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,932	0,068	BbAa (n=7)	Ing. Calcio Baja (0-800 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,345	0,449	BbAA (n=6)	Ing. Calcio Baja (0-800 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,979	0,001
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,918	0,082			DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,473	0,283			DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,763	0,078
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,945	0,055			DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,312	0,496			DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,812	0,050
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,754	0,246			DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,132	0,778			DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,895	0,016
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,799	0,201			DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,209	0,652			DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,828	0,042
		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,739	0,261			DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,254	0,582			DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,798	0,057
			DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,213	0,647	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,846	0,034						
Bbaa (n=3)	Ing. Calcio Nor. (800-1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,966	0,166	bbAa (n=14)	Ing. Calcio Nor. (800-1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,444	0,111	BbAA (n=5)	Ing. Calcio Nor. (800-1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,557	0,330
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,971	0,153			DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,328	0,252			DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,615	0,269
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,947	0,207			DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,464	0,095			DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,553	0,334
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,954	0,194			DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,438	0,118			DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,224	0,717
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,695	0,511			DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,441	0,114			DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,275	0,655
		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,720	0,488			DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,444	0,112			DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,542	0,346
			DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,798	0,412	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,451	0,105	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,339	0,576			
Bbaa (n=12)	Ing. Calcio Alta (>1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,119	0,712	BbAa (n=18)	Ing. Calcio Alta (>1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=0,127	0,616	BbAA (n=11)	Ing. Calcio Alta (>1200 mg/día)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral	r=-0,158	0,644
		DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=-0,414	0,181			DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,327	0,186			DMO (g/cm ²) - Trocánter	r=0,330	0,322
		DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,006	0,985			DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=0,322	0,193			DMO (g/cm ²) - Tri Ward	r=-0,032	0,926
		DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,296	0,350			DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=0,301	0,225			DMO (g/cm ²) - Col. - L2	r=-0,324	0,330
		DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,202	0,529			DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=0,385	0,114			DMO (g/cm ²) - Col. - L3	r=-0,230	0,497
		DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,185	0,565			DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,348	0,157			DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=-0,166	0,626
			DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=0,228	0,476	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,380	0,120	DMO (g/cm ²) - Col. - L2-L4	r=-0,251	0,457			

Bbaa, heterocigótico para la enzima de restricción *ApaI*; *BbAa*, heterocigótico para las enzimas de restricción *BsmI* y *ApaI*; *BbAA*, heterocigótico para la enzima de restricción *BsmI* y ausencia de la enzima de restricción *ApaI*; Sig., significación estadística; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar; DMO, densidad mineral ósea; IMC, Índice de Masa Corporal.

*No existen datos de la ingesta de Calcio diarias correspondientes a 36 pacientes.

Tabla 62: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por Edad e IMC a partir de la ingesta de Calcio diaria de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo *BsmI* del VDR y la ingesta diaria de Calcio.

CORRELACIONES PARCIALES DE PEARSON AJUSTADAS POR EDAD E IMC A PARTIR DEL CONSUMO DE CALCIO DIARIO SEGUN GENOTIPO <i>BsmI</i>					
		Ingesta Calcio diaria (mg)		Ingesta Calcio diaria (mg)	
Ajust.		Sig.	Ajust.	Sig.	Ajust.
bb (n=15)	Ingesta Calcio Baja (0-800 mg/día) + Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral DMO (g/cm ²) - Trocánter DMO (g/cm ²) - Tri Ward DMO (g/cm ²) - Col. - L2 DMO (g/cm ²) - Col. - L3 DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,291 r=0,242 r=0,235 r=0,201 r=0,256 r=0,431 r=0,313	0,334 0,426 0,441 0,511 0,399 0,141 0,298	Bb (n=17)
	Ingesta Calcio Baja (0-800 mg/día) + Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral DMO (g/cm ²) - Trocánter DMO (g/cm ²) - Tri Ward DMO (g/cm ²) - Col. - L2 DMO (g/cm ²) - Col. - L3 DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,370 r=0,288 r=0,400 r=0,382 r=0,284 r=0,297 r=0,322	0,175 0,299 0,140 0,160 0,304 0,282 0,242	BB (n=5)
	Ingesta Calcio Baja (0-800 mg/día) + Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral DMO (g/cm ²) - Trocánter DMO (g/cm ²) - Tri Ward DMO (g/cm ²) - Col. - L2 DMO (g/cm ²) - Col. - L3 DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,988 r=0,986 r=0,830 r=0,154 r=0,080 r=0,061 r=0,007	0,099 0,106 0,377 0,902 0,949 0,961 0,996	Calcio diaria (mg)
bb (n=25)	Ingesta Calcio Nor. (800- 1200 mg/día) + Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral DMO (g/cm ²) - Trocánter DMO (g/cm ²) - Tri Ward DMO (g/cm ²) - Col. - L2 DMO (g/cm ²) - Col. - L3 DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,418 r=0,279 r=0,336 r=0,526 r=0,365 r=0,337 r=0,465	0,047 0,197 0,117 0,010 0,087 0,116 0,025	Bb (n=22)
	Ingesta Calcio Nor. (800- 1200 mg/día) + Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral DMO (g/cm ²) - Trocánter DMO (g/cm ²) - Tri Ward DMO (g/cm ²) - Col. - L2 DMO (g/cm ²) - Col. - L3 DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,299 r=0,316 r=0,350 r=0,335 r=0,358 r=0,356 r=0,356	0,200 0,174 0,130 0,149 0,121 0,123 0,123	BB (n=10)
	Ingesta Calcio Nor. (800- 1200 mg/día) + Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral DMO (g/cm ²) - Trocánter DMO (g/cm ²) - Tri Ward DMO (g/cm ²) - Col. - L2 DMO (g/cm ²) - Col. - L3 DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,135 r=0,015 r=0,379 r=0,023 r=0,032 r=0,237 r=0,098	0,749 0,972 0,354 0,958 0,941 0,573 0,818	Calcio diaria (mg)
bb (n=29)	Ingesta Calcio Alta (>1200 mg/día) + Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral DMO (g/cm ²) - Trocánter DMO (g/cm ²) - Tri Ward DMO (g/cm ²) - Col. - L2 DMO (g/cm ²) - Col. - L3 DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,278 r=0,082 r=0,265 r=0,066 r=0,035 r=0,018 r=0,011	0,160 0,684 0,182 0,742 0,982 0,930 0,958	Bb (n=41)
	Ingesta Calcio Alta (>1200 mg/día) + Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral DMO (g/cm ²) - Trocánter DMO (g/cm ²) - Tri Ward DMO (g/cm ²) - Col. - L2 DMO (g/cm ²) - Col. - L3 DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,019 r=0,186 r=0,162 r=0,174 r=0,210 r=0,187 r=0,204	0,908 0,258 0,326 0,289 0,199 0,255 0,213	BB (n=10)
	Ingesta Calcio Alta (>1200 mg/día) + Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ²) - Cuello Femoral DMO (g/cm ²) - Trocánter DMO (g/cm ²) - Tri Ward DMO (g/cm ²) - Col. - L2 DMO (g/cm ²) - Col. - L3 DMO (g/cm ²) - Col. - L4	r=0,236 r=0,031 r=0,277 r=0,598 r=0,520 r=0,605 r=0,612	0,573 0,942 0,506 0,117 0,186 0,112 0,107	Calcio diaria (mg)

BB, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; Bb, heterocigóticos; bb, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; Sig., significación estadística; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar; DMO, densidad mineral ósea; IMC, Índice de Masa Corporal.

*No existen datos de la ingesta de Calcio diarias correspondientes a 36 pacientes.

Tabla 63: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por Edad e IMC a partir de la ingesta de Calcio diaria de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos del polimorfismo *Apa1* del VDR y la ingesta diaria de Calcio.

CORRELACIONES PARCIALES DE PEARSON AJUSTADAS POR EDAD E IMC A PARTIR DEL CONSUMO DE CALCIO DIARIO SEGÚN GENOTIPO <i>Apa1</i>											
aa (n=8)				Aa (n=17)				AA (n=12)			
Ajust.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.	Ajust.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.	Ajust.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.	Ajust.	Ing. Calcio diaria (mg)	Sig.
aa	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	r=-0,506	0,306	Aa	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	r=-0,041	0,886	AA	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	r=0,405	0,246
Ing. Calcio Baja (0-800 mg/día) + Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ³) - Trocánter	r=-0,384	0,452	Ing. Calcio Baja (0-800 mg/día) + Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ³) - Trocánter	r=-0,100	0,724	Ing. Calcio Baja (0-800 mg/día) + Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ³) - Trocánter	r=0,139	0,702
	DMO (g/cm ³) - Tri Ward	r=-0,192	0,716		DMO (g/cm ³) - Tri Ward	r=-0,016	0,956		DMO (g/cm ³) - Tri Ward	r=0,400	0,252
	DMO (g/cm ³) - Col. - L2	r=-0,585	0,223		DMO (g/cm ³) - Col. - L2	r=-0,032	0,909		DMO (g/cm ³) - Col. - L2	r=0,595	0,070
	DMO (g/cm ³) - Col. - L3	r=-0,629	0,181		DMO (g/cm ³) - Col. - L3	r=-0,065	0,817		DMO (g/cm ³) - Col. - L3	r=0,507	0,135
	DMO (g/cm ³) - Col. - L4	r=-0,551	0,257		DMO (g/cm ³) - Col. - L4	r=-0,111	0,693		DMO (g/cm ³) - Col. - L4	r=0,502	0,139
	DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	r=-0,592	0,216		DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	r=-0,072	0,798		DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	r=0,540	0,107
aa (n=14)				Aa (n=27)				AA (n=16)			
aa	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	r=-0,087	0,788	Aa	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	r=-0,049	0,815	AA	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	r=0,160	0,584
Ing. Calcio Nor. (800-1200 mg/día) + Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ³) - Trocánter	r=-0,238	0,456	Ing. Calcio Nor. (800-1200 mg/día) + Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ³) - Trocánter	r=-0,051	0,809	Ing. Calcio Nor. (800-1200 mg/día) + Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ³) - Trocánter	r=0,083	0,778
	DMO (g/cm ³) - Tri Ward	r=-0,271	0,394		DMO (g/cm ³) - Tri Ward	r=-0,035	0,869		DMO (g/cm ³) - Tri Ward	r=0,342	0,231
	DMO (g/cm ³) - Col. - L2	r=-0,099	0,759		DMO (g/cm ³) - Col. - L2	r=0,100	0,635		DMO (g/cm ³) - Col. - L2	r=0,227	0,436
	DMO (g/cm ³) - Col. - L3	r=-0,068	0,833		DMO (g/cm ³) - Col. - L3	r=-0,050	0,812		DMO (g/cm ³) - Col. - L3	r=0,165	0,572
	DMO (g/cm ³) - Col. - L4	r=-0,008	0,981		DMO (g/cm ³) - Col. - L4	r=-0,081	0,699		DMO (g/cm ³) - Col. - L4	r=0,151	0,606
	DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	r=-0,165	0,608		DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	r=-0,009	0,965		DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	r=0,185	0,527
aa (n=21)				Aa (n=39)				AA (n=20)			
aa	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	r=-0,390	0,099	Aa	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	r=0,405	0,013	AA	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	r=0,177	0,483
Ing. Calcio Alta (>1200 mg/día) + Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ³) - Trocánter	r=-0,371	0,118	Ing. Calcio Alta (>1200 mg/día) + Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ³) - Trocánter	r=0,197	0,242	Ing. Calcio Alta (>1200 mg/día) + Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ³) - Trocánter	r=0,474	0,047
	DMO (g/cm ³) - Tri Ward	r=-0,436	0,062		DMO (g/cm ³) - Tri Ward	r=0,367	0,026		DMO (g/cm ³) - Tri Ward	r=0,168	0,505
	DMO (g/cm ³) - Col. - L2	r=-0,339	0,156		DMO (g/cm ³) - Col. - L2	r=0,157	0,354		DMO (g/cm ³) - Col. - L2	r=0,123	0,628
	DMO (g/cm ³) - Col. - L3	r=-0,289	0,230		DMO (g/cm ³) - Col. - L3	r=0,166	0,327		DMO (g/cm ³) - Col. - L3	r=0,136	0,589
	DMO (g/cm ³) - Col. - L4	r=-0,231	0,341		DMO (g/cm ³) - Col. - L4	r=0,147	0,386		DMO (g/cm ³) - Col. - L4	r=0,074	0,772
	DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	r=-0,285	0,237		DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	r=0,184	0,277		DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	r=0,111	0,660

AA, ausencia de la enzima de restricción *Apa1* en ambos alelos; Aa, heterocigóticos; aa, presencia de la enzima de restricción *Apa1* en ambos alelos; Sig., significación estadística; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar; DMO, densidad mineral ósea; IMC, Índice de Masa Corporal.

*No existen datos de la ingesta de Calcio diarias correspondientes a 36 pacientes.

Tabla 65: Correlaciones parciales de Pearson ajustadas por Edad e IMC a partir de la ingesta de Calcio diaria de los valores DMO por áreas corporales en función de los genotipos combinados del polimorfismo *BsmI* y *Apal* del VDR y la ingesta diaria de Calcio. (II)

CORRELACIONES PARCIALES DE PEARSON AJUSTADAS POR EDAD E IMC A PARTIR DEL CONSUMO DE CALCIO DIARIO SEGÚN GENOTIPO COMBINADO (II)													
Ajust.		Ing. Calcio diaria (mg)		Ajust.		Ing. Calcio diaria (mg)		Sig.					
Bbaa (n=4)	Ing. Calcio	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	---	BbAa (n=7)	Ing. Calcio	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	0,322	0,597	BbAA (n=6)	Ing. Calcio	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	0,987	0,013
	Baja (0-800 mg/día)	DMO (g/cm ³) - Trocánter	---	Baja (0-800 mg/día)	Calcio	DMO (g/cm ³) - Trocánter	0,380	0,528	Alta (>1200 mg/día)	Calcio	DMO (g/cm ³) - Trocánter	0,828	0,172
	+	DMO (g/cm ³) - Tri Ward	---	+	Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ³) - Tri Ward	0,372	0,538	+	Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ³) - Tri Ward	0,835	0,165
		DMO (g/cm ³) - Col. - L2	---			DMO (g/cm ³) - Col. - L2	0,042	0,946			DMO (g/cm ³) - Col. - L2	0,865	0,135
		DMO (g/cm ³) - Col. - L3	---			DMO (g/cm ³) - Col. - L3	0,083	0,895			DMO (g/cm ³) - Col. - L3	0,790	0,210
		DMO (g/cm ³) - Col. - L4	---			DMO (g/cm ³) - Col. - L4	0,072	0,908			DMO (g/cm ³) - Col. - L4	0,745	0,255
	DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	---			DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	0,074	0,906			DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	0,806	0,194	
Bbaa (n=3)	Ing. Calcio	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	---	BbAa (n=14)	Ing. Calcio	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	-0,539	0,070	BbAA (n=5)	Ing. Calcio	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	0,858	0,343
	Nor. (800-1200 mg/día)	DMO (g/cm ³) - Trocánter	---	Nor. (800-1200 mg/día)	Calcio	DMO (g/cm ³) - Trocánter	-0,395	0,204	Alta (>1200 mg/día)	Calcio	DMO (g/cm ³) - Trocánter	0,653	0,547
	+	DMO (g/cm ³) - Tri Ward	---	+	Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ³) - Tri Ward	-0,477	0,117	+	Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ³) - Tri Ward	0,810	0,399
		DMO (g/cm ³) - Col. - L2	---			DMO (g/cm ³) - Col. - L2	-0,580	0,048			DMO (g/cm ³) - Col. - L2	0,301	0,805
		DMO (g/cm ³) - Col. - L3	---			DMO (g/cm ³) - Col. - L3	-0,639	0,025			DMO (g/cm ³) - Col. - L3	0,209	0,866
		DMO (g/cm ³) - Col. - L4	---			DMO (g/cm ³) - Col. - L4	-0,578	0,049			DMO (g/cm ³) - Col. - L4	0,530	0,645
	DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	---			DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	-0,615	0,033			DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	0,344	0,776	
Bbaa (n=12)	Ing. Calcio	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	-0,572	BbAa (n=18)	Ing. Calcio	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	0,191	0,478	BbAA (n=11)	Ing. Calcio	DMO (g/cm ³) - Cuello Femoral	-0,248	0,520
	Alta (>1200 mg/día)	DMO (g/cm ³) - Trocánter	-0,612	Alta (>1200 mg/día)	Calcio	DMO (g/cm ³) - Trocánter	0,388	0,137	Alta (>1200 mg/día)	Calcio	DMO (g/cm ³) - Trocánter	0,340	0,371
	+	DMO (g/cm ³) - Tri Ward	-0,384	+	Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ³) - Tri Ward	0,361	0,170	+	Edad & IMC (kg/m ²)	DMO (g/cm ³) - Tri Ward	-0,229	0,553
		DMO (g/cm ³) - Col. - L2	0,051			DMO (g/cm ³) - Col. - L2	0,397	0,128			DMO (g/cm ³) - Col. - L2	-0,399	0,288
		DMO (g/cm ³) - Col. - L3	-0,012			DMO (g/cm ³) - Col. - L3	0,460	0,073			DMO (g/cm ³) - Col. - L3	-0,339	0,372
		DMO (g/cm ³) - Col. - L4	0,035			DMO (g/cm ³) - Col. - L4	0,434	0,093			DMO (g/cm ³) - Col. - L4	-0,222	0,565
	DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	0,019			DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	0,492	0,053			DMO (g/cm ³) - Col. - L2-L4	-0,320	0,401	

Bbaa, heterocigótico para la enzima de restricción *BsmI* y presencia de la enzima de restricción *Apal*; *BbAa*, heterocigótico para las enzimas de restricción *BsmI* y *Apal*; *BbAA*, heterocigótico para la enzima de restricción *BsmI* y ausencia de la enzima de restricción *Apal*; Sig., significación estadística; Tri Ward, triángulo de Ward; L2, L3, L4 y L2-L4, diferentes niveles de la Columna Lumbar; DMO, densidad mineral ósea;

*No existen datos de la ingesta de Calcio diarias correspondientes a 36 pacientes.

11.7. Riesgo de osteoporosis y genotipo VDR

El análisis del *odd ratio* para los genotipos *BsmI* no encontró efecto protector del genotipo *bb* frente al *BB* (*odd ratio*=0.7522 I.C. 95%=0.3089-1.8316; P=0.627), ni del genotipo *bb* frente a *Bb/BB* (*odd ratio*=0.8672 I.C. 95%=0.4853-1.5494; P=0.6303) en el riesgo del desarrollo de osteoporosis. Igualmente para los genotipos *Apal* no se observaron ni efectos protectores ni adversos asociados a cualquiera de los genotipos estudiados (*odd ratio* para *AA/aa*=1.6286 I.C. 95%=0.7257-3.6548; P=1.183, *AA* vs *Aa/aa*=1.2857 I.C. 95%=0.6509-2.5398; P=0.4693).

Respecto del riesgo de fractura osteoporóticas, no se observaron efectos protectores del genotipo *bb* vs *BB* (*odd ratio*=0.31154 I.C. 95%=0.3770-25.7444; P=0.2916), ni del *bb* vs *BB/Bb* (*odd ratio*=2.25 I.C. 95% (I.C. 95%=0.7702-6.5728; P=0.1382) ya fuera en cadera, humero, muñeca o vertebra. Similares resultados se obtuvieron para el genotipo *Apal* con un *odd ratio* para *AA* vs *aa* de 0.4407 (I.C. 95%=0.0388-5.00; P=0.5085) y de *AA* frente a *Aa/aa* de 0.1646 (I.C. 95%=0.0212-1.2811; P=0.0848).

11.8. Desarrollo de ecuaciones predictoras de la DMO en columna lumbar y cuello femoral en base al genotipo VDR

El estudio de regresión multivariante permitió establecer ecuaciones predictoras de la DMO en columna lumbar (L2-L4) y cadera (cuello femoral) para mujeres españolas postmenopáusicas en base a los polimorfismos frecuentes del gen del VDR estudiados (*BsmI* y *Apal*). Las variables utilizadas en el modelo fueron: edad, peso, IMC, talla, ingesta diaria de calcio y vitamina D, edad de menarquia y años desde la menopausia.

Los resultados mostrados en la Tabla 67 muestran las ecuaciones predictoras para cada uno de los genotipos *BsmI* o *Apal*, con la indicación del coeficiente r y r^2 para cada uno de los modelos. La mejor adaptación al modelo teórico se obtuvo en el cuello femoral con el genotipo *BB*, donde se obtuvo una $r=0.629$ ($P=0.004$) utilizando como variables predictoras el IMC y la edad de la paciente (Tabla 67). El peor ajuste a un modelo teórico se obtuvo con el genotipo *Bb* y la estimación de la DMO en columna lumbar con una $r=0.265$ ($P=0.016$). No pudo obtenerse una ecuación predictora para el genotipo *AA* (*Apal*) ya que ninguna de las variables utilizadas en el estudio entró en modelo teórico ($P>0.05$).

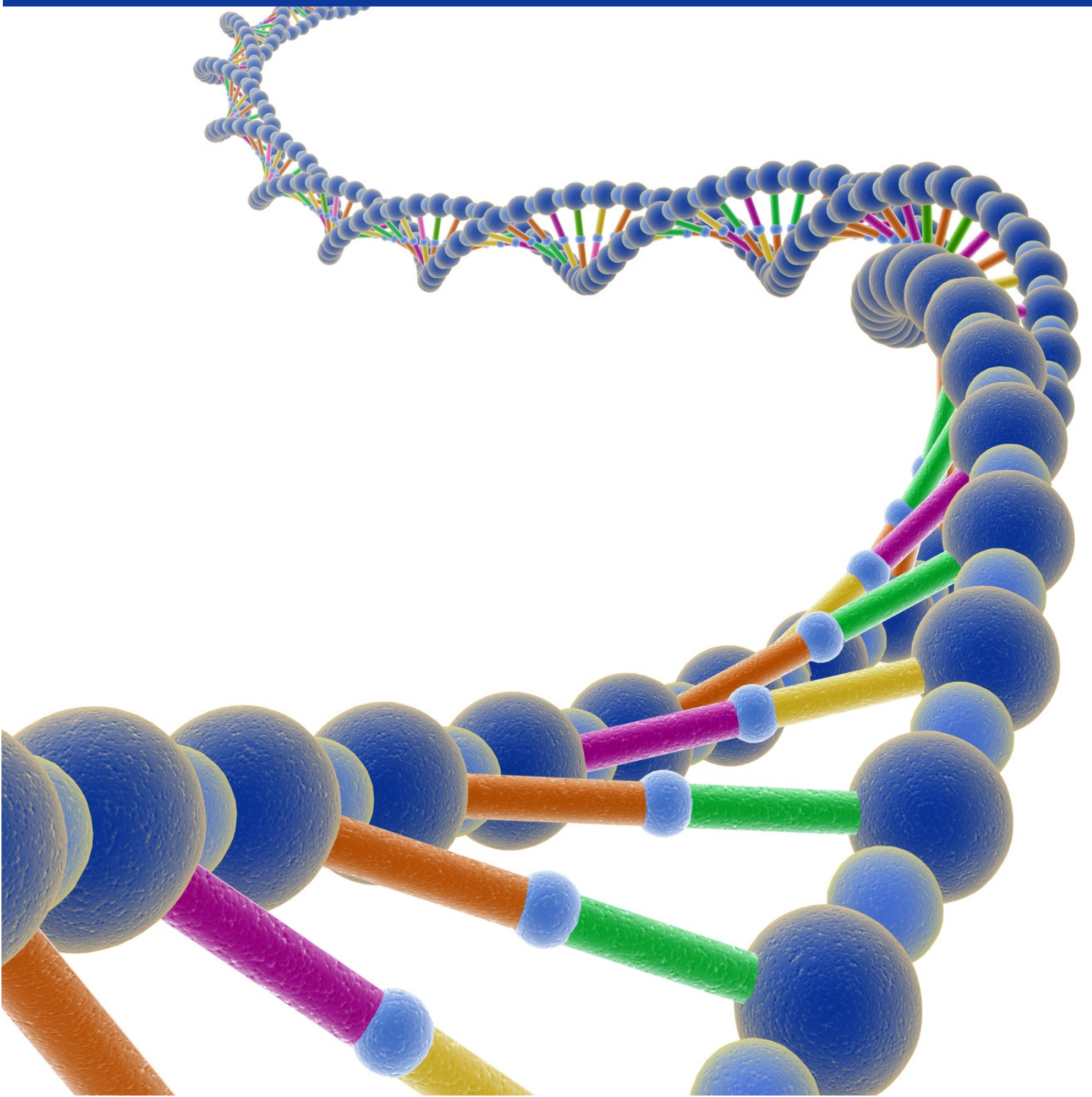
Tabla 67: Desarrollo de ecuaciones predictoras de la DMO en base al genotipo VDR.

			ECUACION PREDICTORA	r	r ²	Sig.
Columna	<i>BsmI</i>	<i>bb</i>	[DMO _{columna} =0,658+0,13*IMC-0,04*EDAD]	0,440	0,194	0,010
		<i>Bb</i>	[DMO _{columna} =0,496+0,05*PESO]	0,265	0,072	0,016
		<i>BB</i>	[DMO _{columna} =1,176-0,06*EDAD]	0,435	0,189	0,030
	<i>Apal</i>	<i>aa</i>	[DMO _{columna} =1,129-0,006*EDAD]	0,342	0,117	0,025
		<i>Aa</i>	[DMO _{columna} =0,465+0,005*PESO]	0,316	0,100	0,004
		<i>AA</i>	---	---	---	---
Cuello Femoral	<i>BsmI</i>	<i>bb</i>	[DMO _{Cuello Femoral} =0,720+0,005*PESO-0,005*EDAD]	0,576	0,331	0,000
		<i>Bb</i>	[DMO _{Cuello Femoral} =0,529+0,003*PESO]	0,268	0,072	0,016
		<i>BB</i>	[DMO _{Cuello Femoral} =0,854+0,010*IMC-0,006*EDAD]	0,629	0,396	0,004
	<i>Apal</i>	<i>aa</i>	[DMO _{Cuello Femoral} =0,902+0,009*IMC-0,007*EDAD]	0,559	0,313	0,001
		<i>Aa</i>	[DMO _{Cuello Femoral} =0,670+0,005*PESO-0,004*EDAD]	0,414	0,171	0,001
		<i>AA</i>	[DMO _{Cuello Femoral} =0,464+0,004*PESO]	0,414	0,172	0,003

AA, ausencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; *Aa*, heterocigóticos; *aa*, presencia de la enzima de restricción *Apal* en ambos alelos; *BB*, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Bb*, heterocigóticos; *bb*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos.; *r*, coeficiente de correlación de Pearson; *r*², coeficiente de determinación; Sig., significación estadística; DMO, Densidad Mineral Ósea; IMC, Índice de Masa Corporal.

*La EDAD deberá determinarse en años y el PESO en kilogramos.

DISCUSIÓN



La osteoporosis es una patología caracterizada por una disminución tanto en la masa ósea como en la DMO. El riesgo de osteoporosis puede ser modulado por diferentes factores, incluyendo los polimorfismos del gen del VDR así como otros (Ralston, 2002). Aunque el impacto clínico real de cada uno de los genes implicados por separado es modesto, el efecto acumulativo de ellos puede llegar a ser considerable. En este sentido se considera que la presencia de estos polimorfismos puede correlacionar con la DMO, una hipótesis que para muchos autores es controvertida.

La osteoporosis es una enfermedad de etiología multifactorial, en la que obviamente los factores genéticos no pueden ser ignorados. En cualquier caso, el rol que estos puedan tener sobre la misma es enormemente complejo. En este trabajo se ha pretendido demostrar la relación entre la presencia de los alelos *a* y *b* de los polimorfismos *BsmI* y *Apal* del gen del VDR como predictores de la DMO en mujeres españolas postmenopáusicas. Entre las fortalezas de este estudio está el uso de una población homogénea de origen español. Esto garantiza la ausencia de falsos-positivos asociados a la muestras con orígenes étnicos diversos. También hemos incluido en el análisis los factores de confusión frecuentes (edad, BMI, edad de menarquia y años desde la menopausia). Se han realizado determinaciones de DMO en diferentes localizaciones anatómicas, siendo este el primer estudio en población española con un análisis densitométrico tan exhaustivo. Todas las determinaciones se realizaron por operadores entrenados y con el mismo equipo. El tamaño de muestra, usualmente la limitación fundamental cuando se realizan estudios de base genética en enfermedades complejas como la osteoporosis, es el segundo mayor utilizado hasta la fecha para el estudio de las asociaciones de los polimorfismos del gen del VDR (*BsmI* y *Apal*) en población española. En cualquier caso, consideramos que el tamaño de muestra pudiera ser limitante, particularmente cuando la población se subdivide en grupos (por ejemplo por ingesta diaria de calcio). Las limitaciones secundarias que observamos en

este trabajo son: (i) análisis de un número limitado de SNPs; (ii) diseño observacional que no permite el establecimiento de los mecanismos fisiopatológicos detrás de los efectos observados. La mayoría de los estudios de asociación realizados hasta la fecha en España adolecen de las mismas debilidades que el nuestro, sin embargo, como pilar básico del método científico, la replicación de los estudios puede hacer que estas debilidades dejen de serlo (Patterson & Cardon, 2005). En este sentido nuestro trabajo es un intento por profundizar en el conocimiento acerca de la relación entre los polimorfismos *BsmI* y *Apal* del gen del VDR y la DMO/osteoporosis en la población femenina postmenopáusica española.

12.1. Asociación de los polimorfismos *BsmI* y *Apal* con la DMO en mujeres postmenopáusicas

Los diferentes estudios de asociación genética y osteoporosis/DMO realizados hasta la fecha han mostrado resultados diversos. En nuestro trabajo no hemos encontrado una asociación directa entre la DMO determinada en diferentes localizaciones corporales y los genotipos frecuentes del gen del VDR (*BsmI* y *Apal*) en mujeres españolas postmenopáusicas. Nuestros resultados son consistentes con el meta-análisis de Uitterlinden et al. (Uitterlinden, et al., 2006) que implicó a más de 25.000 sujetos en un estudio multicéntrico y que no encontró relaciones entre *BsmI*, *Apal* (y otros polimorfismos del gen del VDR como *TaqI* y *FokI*) y la DMO. Otros resultados publicados en grupos de mujeres postmenopáusicas están también en la línea de los nuestros (Aerssens et al., 2000; Deng et al., 1999; Dundar et al., 2009; Garnero & Delmas, 1998; Hansen et al., 1998; Horst-Sikorska, et al., 2007; Horst-Sikorska et al., 2005). Nosotros no hemos encontrado ninguna asociación entre los polimorfismos del

gen del VDR estudiados y la DMO, contrario a Morrison (Morrison, et al., 1994) que inicialmente indicó que las mujeres con genotipo *BB* (*BsmI*) presentaban una menor DMO. También el meta-análisis de Thakkestian et al. (Thakkestian, D'Este, Eisman, et al., 2004), indicó una débil pero estadísticamente significativa relación entre el alelo *B* y una DMO menor en la columna lumbar.

La prevalencia del genotipo *BB* de *BsmI* en la muestra de estudio fue del 13.3%, similar a la observada en otras poblaciones caucásicas (Creatsa, et al., 2011; Garnero, et al., 1996; Hustmyer, et al., 1994; Langdahl, et al., 2000; Macdonald et al., 2006). La presencia del genotipo *BB* en mujeres postmenopáusicas es similar a la observada también hasta la fecha en la población española (Bandres, et al., 2005; Bernard, et al., 1999; Bustamante, et al., 2007; Fontova Garrofe, et al., 2000; Gomez, et al., 1999; Sosa Henriquez, et al., 1998) (Tabla 68), pudiendo explicar las ligeras variaciones entre los diferentes estudios las diferencias en los tamaños de muestra utilizados. En cualquier caso, la muestra estudiada en este trabajo corresponde a mujeres postmenopáusicas osteoporóticas y por tanto la representatividad de dicha muestra puede ser menor que la obtenida de los estudios poblacionales. La ventaja principal de nuestro estudio es el tamaño de muestra utilizado (segundo mayor hasta la fecha) y la homogeneidad étnica/raza de las participantes en el mismo.

Tabla 68: Distribución de muestras y equilibrios Hardy-Weinberg en estudios con población española.

	TAMAÑO DE MUESTRAS Y EQUILIBRIO HARDY-WEINBERG EN POBLACIÓN ESPAÑOLA										
	<i>BsmI</i>				<i>ApaI</i>						
	Frecuencia Alélica		Frecuencia Genotípica		Frecuencia Alélica		Frecuencia Genotípica				
	<i>B</i>	<i>b</i>	<i>BB</i> (%)	<i>Bb</i> (%)	<i>bb</i> (%)	<i>A</i>	<i>a</i>	<i>AA</i> (%)	<i>Aa</i> (%)	<i>aa</i> (%)	HWE
<i>Islas Canarias</i>											
(n=127) (Sosa Henríquez et al)	0.39	0.61	19.68	37.79	42.51						P=0.02
<i>Oviedo (north Spain)</i>											
(n=162) (Gómez et al)	0.4	0.6	16.9	44.6	38.3						P=0.37
<i>Tarragona (northeast Spain)</i>											
(n=105) (Fontova Garrofé et al)	0.57	0.43	14.96	55.9	28.34						P>0.05
<i>Barcelona (northeast Spain)</i>											
(n=719) (Bustamante et al)	0.43	0.57	18.5	49	32.25	0.53	0.47	22.1	49.8	28.1	P=0.54
<i>Navarra (north Spain)</i>											
(n=177) (Bandres et al)	0.45	0.55	19.2	50.3	14.1						P=0.954
<i>Madrid (center Spain)</i>											
(n=204) (Bernard et al)	0.44	0.56	22	44	34						P=0.13
<i>Cáceres (Southwest Spain)</i>											
(n=210) (TESIS Rodríguez Velasco, FJ)	0.36	0.64	13.3	45.2	41.4	0.49	0.51	28.6	45.7	25.7	P=0.21

AA, ausencia de la enzima de restricción *ApaI* en ambos alelos; *Aa*, heterocigóticos; *aa*, presencia de la enzima de restricción *ApaI* en ambos alelos; *BB*, ausencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; *Bb*, heterocigóticos; *bb*, presencia de la enzima de restricción *BsmI* en ambos alelos; HWE, Equilibrio Hardy-Weinberg.

Los resultados discordantes en cuanto a la importancia de los polimorfismos frecuentes del gen del VDR entre diferentes estudios pueden ser debidos a las diferentes muestras utilizadas (y poblaciones), así como a diferencias por etnia/raza asociadas a la DMO. La susceptibilidad a la osteoporosis (y a las fracturas asociadas a ella), ha sido identificada como significativamente menor en sujetos de raza negra cuando son comparados con caucasianos o asiáticos (Bohinc & Snyder, 2008; Ettinger et al., 1997). El estudio original que correlacionaba el riesgo de osteoporosis (baja DMO) con los polimorfismos frecuentes del receptor VDR fue realizado por Morrison en 1994 (Morrison, et al., 1994) sobre población australiana con base en diferentes etnias, expuesta a altas dosis de radiación UV_B y por tanto, con potencialmente elevada presencia de vitamina D activa en las participantes del estudio. En nuestro trabajo, todas las participantes fueron de raza caucasiana y la tasa de exposición solar fue similar (todas desarrollaban una vida activa).

12.2. Factores condicionantes de la asociación entre los polimorfismos *BsmI* y *Apal* del gen del VDR y la DMO

Debemos también tener presente que los polimorfismos estudiados, *BsmI* y *Apal* no tienen un efecto sobre la proteína final, ya que ambos polimorfismos se encuentran en zonas no codificantes del gen del VDR (Fang, et al., 2005). Esto pone de manifiesto la importancia, y dificultad, que tiene entender cuáles son los mecanismos por el cual estos polimorfismos afectan a la acción de la proteína generada por el gen del VDR. Además, existen otros polimorfismos que también pueden tener efectos sobre el gen del VDR. De acuerdo con la base de datos del NCBI, 180 SNPs y hasta 7 haplotipos

diferentes han sido descritos (Fang, et al., 2005). Resulta por tanto importante desde el punto de vista de la investigación clarificar que el estudio de polimorfismos aislados no proporcionará evidencias directas sobre el efecto en la DMO y otros factores como las fracturas, y que por tanto, la investigación derivada del estudio de los diferentes SNPs servirá más bien como una aproximación parcial al problema.

Los diferentes estudios realizados parecen indicar que la expresión del gen del VDR está modulada por factores medioambientales. Diferentes autores sugieren que la homeostasis del calcio juega un rol importante en este proceso. Recientemente, Stathopoulou et al. (Stathopoulou, et al., 2011), ha demostrado que bajo condiciones de ingesta baja de calcio (<680 mg/d), la presencia del alelo *B* del polimorfismo *BsmI*, aumenta el riesgo de osteoporosis aproximadamente un 118%. En el grupo con ingesta superior a 680 mg/d de calcio, la influencia de los alelos VDR sobre la DMO no fue significativa. En este sentido en nuestra población hemos observado que la mayoría de las participantes mantienen una ingesta superior a 800 mg/d (78%) conforme a las recomendaciones para la población española adulta, lo cual podría explicar la falta de efecto de la presencia de los polimorfismos del gen del VDR estudiados sobre la DMO en la muestra global. De hecho, Stathopoulou et al. concluyen que la ingesta adecuada de calcio puede “enmascarar” la influencia genética del gen del VDR sobre el hueso. Adicionalmente, otros estudios han demostrado que el genotipo asociado al gen del VDR también puede condicionar la absorción intestinal de calcio en mujeres postmenopáusicas sanas, siendo ésta menor en mujeres con genotipo *BB* frente a mujeres con genotipo *bb* y en *AABB* frente a *aabb* y *AaBb* (Gennari et al., 1997). En conjunto estos resultados indican que los factores ambientales, y en concreto la ingesta

diaria de calcio, puede modular la interacción genotipo-fenotipo y por tanto modificar los resultados obtenidos en los diferentes estudios.

Diferentes estudios epidemiológicos han demostrado que el consumo de sal, cafeína, alcohol y tabaco aumenta el riesgo de fracturas osteoporóticas (Harrington et al., 2004; Kiel, Felson, Hannan, Anderson, & Wilson, 1990; Oncken et al., 2002). También, los efectos de la ingesta de proteínas sobre el hueso son variables. Algunos estudios han revelado que la ingesta elevada de proteínas aumenta la excreción urinaria de calcio, y que se asocia con una mayor pérdida de DMO, lo cual es específicamente cierto para proteínas de origen animal (Pedrera, et al., 2001). Las participantes en este estudio tenían similares características en cuanto a los hábitos dietéticos y de vida, lo cual nos permite establecer comparaciones entre grupos en base al genotipo. La única diferencia significativa es la talla y la altura y por tanto el IMC. Éste se sabe que es un factor que condiciona la DMO y el riesgo de fractura (De Laet, et al., 2005). En ese sentido podría ser hipotetizado que algunos de los genes que afecten al metabolismo y al IMC podrían también estar relacionados con el riesgo de una menor DMO y por tanto con el desarrollo de osteoporosis. Nuestro estudio en cualquier caso, no ha revelado diferencias significativas en la DMO una vez que hemos controlado por el IMC y en función del genotipo VDR (*BsmI* o *Apal*).

Dado que el mecanismo real por el cual estos polimorfismos puedan ejercer algún efecto sobre la DMO permanece sin clarificar, algunos investigadores han sugerido un efecto directo de la vitamina D sobre la diferenciación adipocitaria y el metabolismo de los adipocitos (Reis, Hauache,

& Velho, 2005). En este sentido también se ha sugerido por tanto, que el efecto real de los polimorfismos del gen del VDR pudiera estar condicionado por el peso corporal. Para comprobar esta hipótesis en los diferentes análisis realizados en este trabajo hemos introducido el IMC como una covariable en los modelos de correlación. Así, los resultados obtenidos en los modelos ajustados (correlaciones bivariadas), describen los efectos directos de los polimorfismos sobre la DMO independientemente del peso corporal. Tras este ajuste, hemos observado que el genotipo *bb* mantiene buenas correlaciones con la DMO en la columna lumbar y en el CF siempre que la ingesta de calcio esté en los valores recomendados para población española. Estos resultados son contrarios a lo descrito recientemente en la literatura ya que no hemos observado diferencias en los grupos con ingesta de calcio baja (<800 mg/d), sin embargo, concuerdan con los observados por Kiel et al. (Kiel et al., 1997) los cuales observaron un efecto favorable del genotipo *bb* solamente cuando (al igual que en nuestro caso) la ingesta de calcio era superior a 800 mg/día. Kiel et al. analizaron la DMO en seis localizaciones anatómicas y comprobaron que en cinco de ellas, la DMO fue entre 7-12% mayor en sujetos con el genotipo *bb* siempre que la ingesta de calcio fuera superior a 800 mg/día. Aun así, otros estudios han mostrado un resultado contrario al observado por Kiel et al. indicando que mujeres con genotipo *bb* tienen incluso una absorción de calcio menor que las mujeres *BB* (Dawson-Hughes, et al., 1995), o bien este efecto ajustado por la ingesta de calcio no existe, resultando esta posible asociación a una consecuencia indirecta de la interacción del genotipo e ingesta de calcio sobre el peso (Macdonald, et al., 2006).

Nuestro resultado respecto del genotipo *bb*, apoyaría la hipótesis del posible efecto desfavorable del genotipo *BB* sobre la masa ósea, pero

consideramos que debe ser analizado con cautela debido al pequeño tamaño de muestra (n=25). Estos resultados, en cualquier caso confirman previos de otros grupos en los que la pérdida ósea era mayor en mujeres con el genotipo *BB* y en los que esta pérdida se reducía en función del aumento en la ingesta de calcio (Salamone, et al., 1996). Resultados también positivos se han observado asociados al genotipo *Aa* en CF y TW pero no en columna, cuando la ingesta de calcio es elevada, en cualquier caso la importancia de estos resultados queda condicionada otra vez, por el relativamente pequeño tamaño de muestra (n=39). Resultados similares fueron observados con algunos de los genotipos combinados. Así, parece que nuestros resultados confirman que la ingesta de calcio pueda ser un factor ambiental que de alguna manera modifique el efecto que los polimorfismos genéticos estudiados ejerzan sobre la DMO en mujeres postmenopáusicas. Sin embargo, es necesario remarcar que el análisis de la interacción directa en el total de la muestra entre la ingesta de calcio y los polimorfismos estudiados no mostró significación estadística ($P > 0.05$); por tanto, de haberlo, el efecto de la ingesta de calcio debería ser en cualquier caso indirecto. Consideramos que la elevada ingesta de calcio detectada en nuestra muestra (con solo 37 mujeres por debajo de los 800 mg/día recomendados) proporcionaría una explicación para la falta de asociación entre los polimorfismos estudiados y la DMO.

En síntesis, nuestros resultados indicarían que bajo condiciones de ingesta adecuada de calcio, los genotipos *bb* y *Aa* presentan ventajas frente a los otros genotipos (ajustado por edad, IMC, edad de menarquia y años desde la menopausia) ya que tienen correlaciones significativas y positivas con la DMO. Similares resultados han sido descritos recientemente en un meta-análisis sobre población asiática por Yufei et al. (Y. Li, et al., 2011). También han

sido confirmados en población finlandesa y libanesa (Arabi, Mahfoud, Zahed, El-Onsi, & El-Hajj Fuleihan, 2010; Laaksonen et al., 2002), sin embargo difieren de meta-análisis previos, la mayoría de los cuales significaron al genotipo *BB* como asociado a una menor DMO frente a *Bb* o *bb* (Cooper & Umbach, 1996; Gong, et al., 1999; Thakkinstian, D'Este, Eisman, et al., 2004). Aun así, también hay estudios que demuestran que el genotipo *BB* tiene asociación con mejores valores de DMO (Houston, et al., 1996). Tras esta pléyade de resultados discrepantes debe subyacer una base étnica o de raza. El análisis de las frecuencias de los genotipos *BB* y *AA* a través del HapMap indica que la frecuencia en población de origen asiático es mucho más baja que en caucasianos con frecuencias para *BB*, *Bb* y *bb* respectivamente de 2.3%, 18.1% y 79.6%; mientras que en población caucasiona las estimaciones para *BB*, *Bb* y *bb* son de 15,4%, 47.4% y 37.2% (Ji, Yao, Sun, Li, & Han, 2010; Zintzaras, Rodopoulou, & Koukoulis, 2006) muy similares a las obtenidas en nuestro estudio de 13.3%, 45.2% y 41.4% respectivamente. En cuanto a la distribución del genotipo *Apal* ésta también varía significativamente entre poblaciones, poniendo de manifiesto la importancia de la influencia de la etnia/raza en este tipo de estudios. La frecuencia del genotipo *AA* en mujeres postmenopáusicas osteoporóticas de origen chino fue del 7.8%, del 15.1% en Japonesas, 25% en Turcas y 50.7% en Hispanas (Dundar, et al., 2009; Iki et al., 2002; Zambrano-Morales, et al., 2008; Zhang et al., 2004). En nuestro estudio hemos observado una frecuencia del genotipo *AA* del 28.6% similar a la observada por Bustamante et al. (Bustamante, et al., 2007) del 22.1% sobre una muestra de 719 mujeres

En cualquier caso, debido a la naturaleza observacional y analítica del presente estudio no podemos especular sobre el posible mecanismo que

regulara el efecto del medio ambiente (particularmente de la ingesta de calcio) sobre la DMO mediada por el genotipo *BsmI* o *Apal*, aunque algunos autores han especulado que pudiera estar relacionado con diferentes niveles hormonales que serían los que regularían el efecto de los polimorfismos (*BsmI* y *Apal*) del gen del VDR sobre la DMO (Y. Li, et al., 2011).

12.3. Polimorfismos *BsmI* y *Apal* del gen del VDR en población española: relación con la DMO

En España el estudio de Bandres et al. sobre una cohorte de 177 mujeres (Bandres, et al., 2005) no encontró asociación entre *BsmI* y la DMO. Fontova-Garrofé et al. (Fontova Garrofe, et al., 2000) observó que el polimorfismo del gen del VDR (*BsmI*) no es un buen predictor de la masa ósea en una población de mujeres postmenopáusicas osteoporóticas de Tarragona tras analizar la DMO en L2-L4, CF, TW, TR, marcadores de formación y marcadores de resorción ósea. Sosa et al. (Sosa Henriquez, et al., 1998) tampoco encontraron asociación entre el genotipo *BsmI* y la DMO, asumiendo, en nuestra línea, como factor ambiental determinante que una mayor ingesta de calcio en la dieta y de exposición solar influye positivamente en la adquisición de masa ósea. Bernard et al. (Bernard, et al., 1999) por el contrario, si encontraron asociación entre el genotipo *BB* y una menor masa ósea en cadera, pero asociada a una menor ingesta de calcio junto con valores séricos bajos de vitamina D.

Gómez et al. (Gomez, et al., 1999), describieron que las mujeres con el genotipo *bb* tenían valores de DMO más favorables en la columna lumbar y en el cuello femoral que aquellas con los otros dos genotipos *Bb* y *BB*. La magnitud de este efecto beneficioso según Gómez et al. se cuantifica en +7% en la columna lumbar y del +5% en el cuello femoral. Estas diferencias, en principio son menores a las observadas en el estudio original de Morrison (Morrison, et al., 1994). En nuestro estudio hemos observado que en mujeres postmenopáusicas con un T-score en columna lumbar o en cadera <-1 y >-2.5 (las cuales mayoritariamente tienen una ingesta de calcio superior a 800 mg/día), el incremento a nivel de L2 en la DMO del genotipo *bb* frente a *Bb* es de aproximadamente el 5.8% ($P>0.05$).

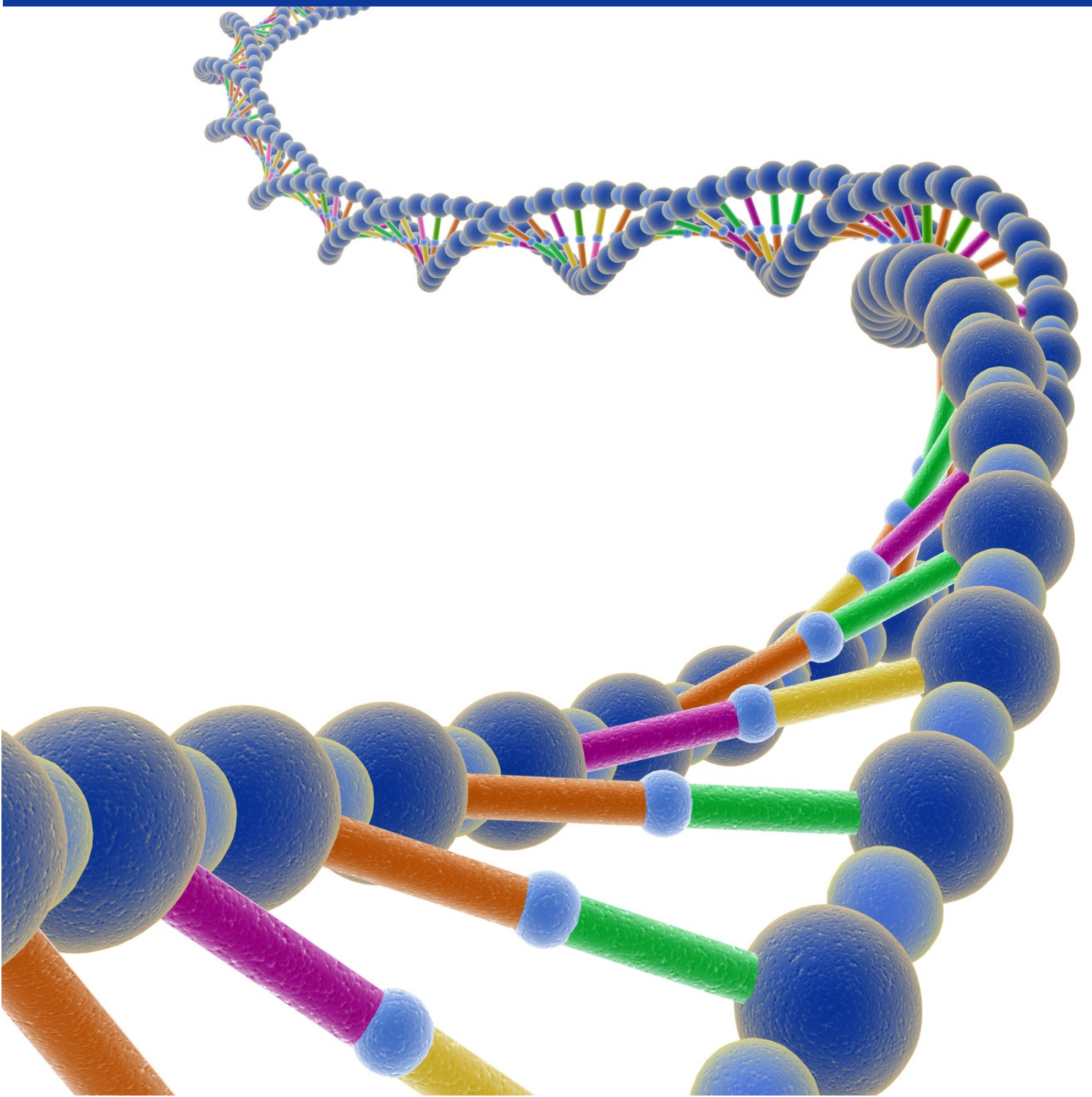
12.4. Riesgo de osteoporosis, fractura y genotipo *BsmI* y *Apal* del gen del VDR en población española

La importancia de los factores genéticos en la regulación de la masa ósea, en conjunto con la información obtenida del análisis de los diferentes polimorfismos, apoyan la hipótesis de que el genotipado puede ser de interés en poblaciones de riesgo desde un punto de vista clínico. Sin embargo, debido a las complejidades que presenta la interacción de los diferentes mecanismos reguladores de la fisiología corporal, sería especulativo pretender encontrar un efecto único y específico asociado a un polimorfismo concreto. Los efectos individuales de los polimorfismos del gen del VDR han demostrado estar sujetos a interacciones gen-gen de enorme complejidad (Mencej-Bedrac et al., 2009). Además, la DMO correlaciona de forma importante con la edad, IMC, estado hormonal (por ejemplo PTH, estrógenos, etc...) así como con otros

factores ambientales ya descritos. Así que de alguna manera, debemos asumir que un gen sencillo, o incluso un genotipo polimórfico concreto no podrá ser responsable de la totalidad de la DMO o el riesgo de fracturas u osteoporosis en una mujer.

El meta-análisis de Zintzaras et al. (Zintzaras, et al., 2006) acerca de los polimorfismos *BsmI* y *Apal* en mujeres caucásicas postmenopáusicas, y aplicando los criterios diagnósticos de la OMS para osteoporosis, el *odd ratio* fue de 0.94 para el alelo *b* frente al *B* (I.C. 95% 0.63-1.38; $P < 0.01$), no protector, efecto contrario al observado en mujeres asiáticas con *odds ratios* de 0.16 (I.C. 95% 0.03-0.84) indicando efecto protector. En mujeres caucásicas Zintzaras et al. no encontraron tampoco efectos protectores de los alelos asociados al polimorfismo *Apal* del VDR. Estos resultados también han sido confirmados en el reciente meta-análisis de Qin et al. (Qin, et al., 2012) en población caucásica y asiática donde no se observa relación entre el genotipo *BsmI* del VDR y la susceptibilidad de osteoporosis, resultados confirmados en nuestro estudio. Por otra parte, el meta-análisis de Uitterlinden et al. (Uitterlinden, et al., 2006) indicó que para todos los alelos estudiados del gen del VDR (*Cdx2*, *FokI*, *BsmI*, *Apal* y *TaqI*) los *odd ratio* para el riesgo de fracturas fue muy próxima a 1.00 (rango 0.98-1.02) sin observar por tanto ningún efecto protector (ni perjudicial) de dichos alelos en cuanto a la consecuencia principal de la osteoporosis, tal y como hemos también observado en nuestro estudio. Sin embargo, el reciente meta-análisis de Jia et al. (Jia, et al., 2012) tras analizar un total de 26 estudios diferentes estima un *odd ratio* del genotipo *bb* frente al *BB* de 0.61 (0.40-0.92) y del *bb* frente al *BB/Bb* del 0.70 (I.C. 95% 0.52-0.95) en la población general, y particularmente estima para mujeres postmenopáusicas un *odd ratio* de *bb* frente a *BB/Bb* del 0.68, I.C. 95%, 0.46-0.98).

CONCLUSIÓN

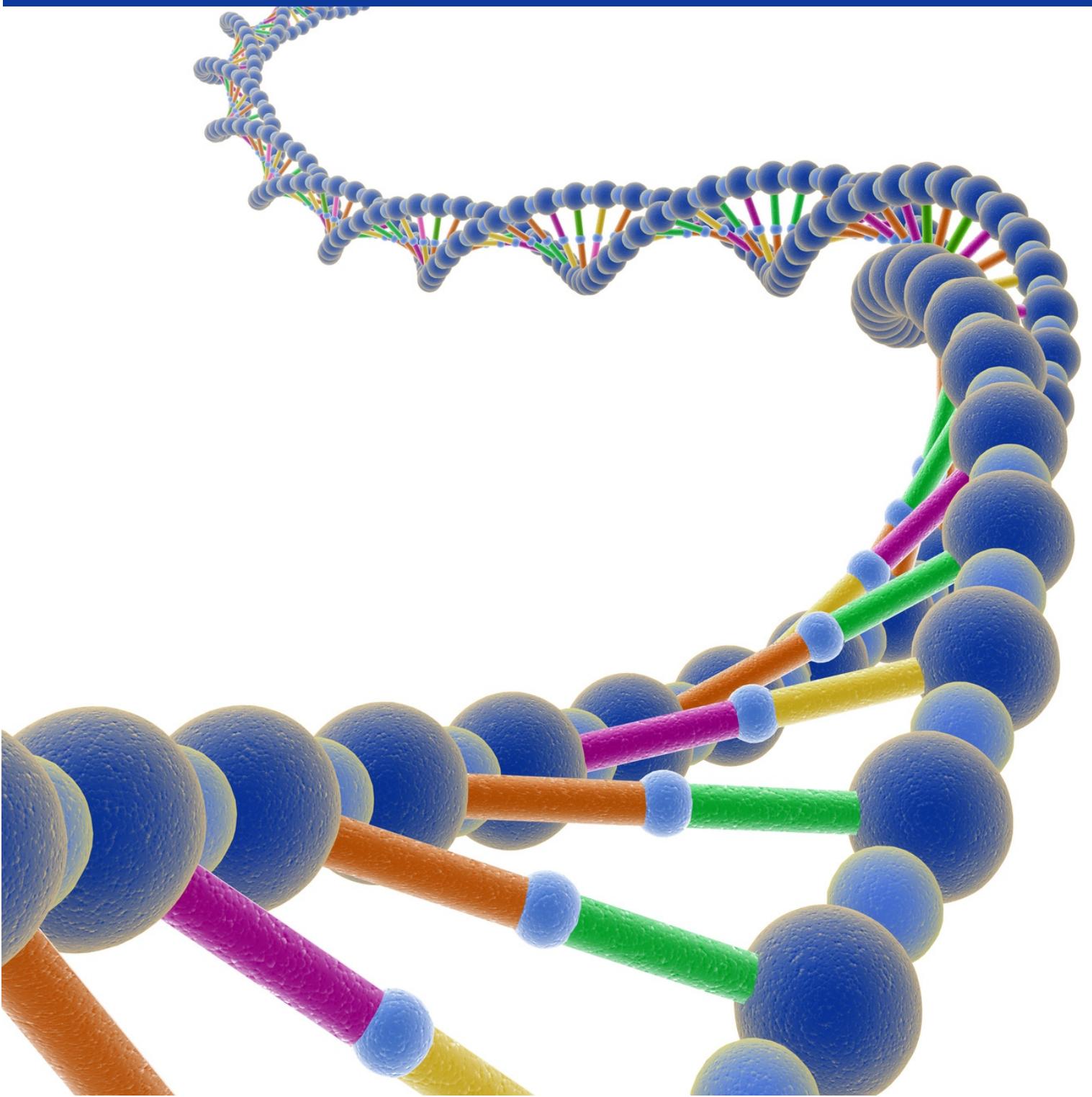


Las conclusiones del presente estudio son las que se detallan a continuación:

1. La prevalencia de los polimorfismos *BsmI* y *Apal* del gen del receptor de la vitamina D, en mujeres postmenopáusicas extremeñas no difiere de la observada en otras poblaciones dentro de España.
2. No se observa una relación significativa entre la DMO en las diferentes localizaciones anatómicas estudiadas y la presencia de los polimorfismos *BsmI* y *Apal* del gen del receptor de la vitamina D en las mujeres postmenopáusicas estudiadas.
3. No se han observado relaciones entre el historial familiar y personal de fracturas y la presencia de los polimorfismos *BsmI* y *Apal* en las mujeres estudiadas.
4. En las mujeres estudiadas, cuando la ingesta de calcio es adecuada, se observa una mayor DMO en el trocánter femoral asociada al genotipo *Aa*. Bajo esas condiciones, o con un consumo superior a las recomendaciones, los genotipos *AA*, *Aa* y *bb* mejoran la DMO en la cadera y el *bb* adicionalmente también en la columna. El consumo de vitamina D no modifica la DMO en las diferentes localizaciones anatómicas estudiadas en base al genotipo estudiado.
5. Los polimorfismos del gen de la vitamina D estudiados no aumentan el riesgo, de osteoporosis u osteopenia, ni el riesgo de fractura en cadera, húmero, muñeca o vertebra en las mujeres estudiadas. La presencia de dichos genotipos tampoco tiene un efecto protector sobre las patologías indicadas.

6. En la mujer postmenopáusica española, el estudio de los polimorfismos *BsmI* o *ApaI* del gen de la vitamina D permite estimar la DMO en columna y cuello femoral a partir de los datos de edad y peso de la paciente. Consideramos que la utilización de estos modelos matemáticos presentan una elevada utilidad desde el punto de vista de la prevención de la osteoporosis y de la consecuencia más grave asociada a ella, las fracturas.

BIBLIOGRAFÍA



- Aarden, E. M., Burger, E. H., & Nijweide, P. J. (1994). Function of osteocytes in bone. [Review]. *Journal of cellular biochemistry*, 55(3), 287-299. doi: 10.1002/jcb.240550304
- Abrahamsen, B., Bonnevie-Nielsen, V., Ebbesen, E. N., Gram, J., & Beck-Nielsen, H. (2000). Cytokines and bone loss in a 5-year longitudinal study--hormone replacement therapy suppresses serum soluble interleukin-6 receptor and increases interleukin-1-receptor antagonist: the Danish Osteoporosis Prevention Study. [Clinical Trial]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 15(8), 1545-1554. doi: 10.1359/jbmr.2000.15.8.1545
- Adams, J. S., & Gacad, M. A. (1985). Characterization of 1 alpha-hydroxylation of vitamin D3 sterols by cultured alveolar macrophages from patients with sarcoidosis. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *The Journal of experimental medicine*, 161(4), 755-765.
- Aeressens, J., Dequeker, J., Peeters, J., Breemans, S., Broos, P., & Boonen, S. (2000). Polymorphisms of the VDR, ER and COLIA1 genes and osteoporotic hip fracture in elderly postmenopausal women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 11(7), 583-591.
- AMM. (1975). Declaración de Helsinki, 2013, from <http://www.wma.net/es/30publications/10policias/b3/>
- Ammann, P., & Rizzoli, R. (2003). Bone strength and its determinants. [Review]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 14 Suppl 3, S13-18. doi: 10.1007/s00198-002-1345-4
- Angel, B., Santos, J. L., Carrasco, E., Albala, C., & Perez-Bravo, F. (2004). Vitamin D receptor polymorphism and susceptibility to type 1 diabetes in Chilean subjects: a case-parent study. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *European journal of epidemiology*, 19(12), 1085-1087.
- Arabi, A., Mahfoud, Z., Zahed, L., El-Onsi, L., & El-Hajj Fuleihan, G. (2010). Effect of age, gender and calciotropic hormones on the relationship between vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *European Journal of Clinical Nutrition*, 64(4), 383-391. doi: 10.1038/ejcn.2010.5
- Arai, H., Miyamoto, K. I., Yoshida, M., Yamamoto, H., Taketani, Y., Morita, K., . . . Takeda, E. (2001). The polymorphism in the caudal-related homeodomain protein Cdx-2 binding element in the human vitamin D receptor gene. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 16(7), 1256-1264. doi: 10.1359/jbmr.2001.16.7.1256

- Ardawi, M. S., Qari, M. H., Rouzi, A. A., Maimani, A. A., & Raddadi, R. M. (2011). Vitamin D status in relation to obesity, bone mineral density, bone turnover markers and vitamin D receptor genotypes in healthy Saudi pre- and postmenopausal women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 22(2), 463-475. doi: 10.1007/s00198-010-1249-7
- Arnson, Y., Amital, H., & Shoenfeld, Y. (2007). Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. [Review]. *Annals of the rheumatic diseases*, 66(9), 1137-1142. doi: 10.1136/ard.2007.069831
- Aubin, J. E., & Bonnylye, E. (2000). Osteoprotegerin and its ligand: a new paradigm for regulation of osteoclastogenesis and bone resorption. [Review]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 11(11), 905-913.
- Aubin, J. E., & Liu, F. (1996). *The osteoblasts lineage. Principles of Bone Biology*. San Diego, California: Academic Press.
- Badia, X., Diez-Perez, A., Alvarez-Sanz, C., Diaz-Lopez, B., Diaz-Curiel, M., Guillen, F., & Gonzalez-Macias, J. (2001). Measuring quality of life in women with vertebral fractures due to osteoporosis: a comparison of the OQLQ and QUALEFFO. [Clinical Trial]. *Quality of life research : an international journal of quality of life aspects of treatment, care and rehabilitation*, 10(4), 307-317.
- Baker, A. R., McDonnell, D. P., Hughes, M., Crisp, T. M., Mangelsdorf, D. J., Haussler, M. R., . . . O'Malley, B. W. (1988). Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(10), 3294-3298.
- Ban, Y., & Taniyama, M. (2000). Vitamin D receptor gene polymorphism is associated with Graves' disease in the Japanese population. [Clinical Trial]. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 85(12), 4639-4643.
- Ban, Y., Taniyama, M., & Katagiri, T. (2000). Vitamin D receptor initiation codon polymorphism in Japanese patients with Graves' disease. [Clinical Trial]. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association*, 10(6), 475-480.
- Bandres, E., Pombo, I., Gonzalez-Huarriz, M., Rebollo, A., Lopez, G., & Garcia-Foncillas, J. (2005). Association between bone mineral density and polymorphisms of the VDR, ERalpha, COL1A1 and CTR genes in Spanish postmenopausal women. *Journal of Endocrinological Investigation*, 28(4), 312-321.
- Barba Evia, J. R. (2011). Marcadores de remodelado óseo y osteoporosis. *Revista Mexicana de Patología Clínica*, 58(3), 113-137.

- Baron, J. A., Farahmand, B. Y., Weiderpass, E., Michaelsson, K., Alberts, A., Persson, I., & Ljunghall, S. (2001). Cigarette smoking, alcohol consumption, and risk of hip fracture in women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Archives of internal medicine*, 161(7), 983-988.
- Baron, R. (2003). General principles of bone biology. In M. J. Favus (Ed.), *Primer on the metabolic bone disease and disorders of mineral metabolism* (pp. 1-8). Washington D.C.: American Society for Bone Mineral Research.
- Barrett-Connor, E., Chang, J. C., & Edelstein, S. L. (1994). Coffee-associated osteoporosis offset by daily milk consumption. The Rancho Bernardo Study. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *JAMA : the journal of the American Medical Association*, 271(4), 280-283.
- Bellamy, R., Ruwende, C., Corrah, T., McAdam, K. P., Thursz, M., Whittle, H. C., & Hill, A. V. (1999). Tuberculosis and chronic hepatitis B virus infection in Africans and variation in the vitamin D receptor gene. [Comparative Study]. *The Journal of infectious diseases*, 179(3), 721-724. doi: 10.1086/314614
- Bernard, M., Jaramillo, G., Aguado, P., del Campo, M. T., Coya, J., Martín Mola, E., . . . Martínez, M. E. (1999). Polimorfismo del gen del receptor de la vitamina D y densidad mineral ósea en mujeres postmenopáusicas. *Medicina Clinica*, 112(17), 651-655.
- Berndt, T., Craig, T. A., Bowe, A. E., Vassiliadis, J., Reczek, D., Finnegan, R., . . . Kumar, R. (2003). Secreted frizzled-related protein 4 is a potent tumor-derived phosphaturic agent. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The Journal of clinical investigation*, 112(5), 785-794. doi: 10.1172/JCI18563
- Bignon, A., Chouteau, J., Chevalier, J., Fantozzi, G., Carret, J. P., Chavassieux, P., . . . Hartmann, D. (2003). Effect of micro- and macroporosity of bone substitutes on their mechanical properties and cellular response. *Journal of materials science. Materials in medicine*, 14(12), 1089-1097.
- Binkley, N., Bilezikian, J. P., Kendler, D. L., Leib, E. S., Lewiecki, E. M., & Petak, S. M. (2006). Official positions of the International Society for Clinical Densitometry and Executive Summary of the 2005 Position Development Conference. [Practice Guideline]. *Journal of clinical densitometry : the official journal of the International Society for Clinical Densitometry*, 9(1), 4-14. doi: 10.1016/j.jocd.2006.05.002
- Bischoff-Ferrari, H. A., Shao, A., Dawson-Hughes, B., Hathcock, J., Giovannucci, E., & Willett, W. C. (2010). Benefit-risk assessment of vitamin D supplementation. [Review]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 21(7), 1121-1132. doi: 10.1007/s00198-009-1119-3
- Bischoff, H. A., Borchers, M., Gudat, F., Duermueller, U., Theiler, R., Stahelin, H. B., & Dick, W. (2001). In situ detection of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor in human skeletal muscle tissue. *The Histochemical journal*, 33(1), 19-24.

- Black, D. M., Steinbuch, M., Palermo, L., Dargent-Molina, P., Lindsay, R., Hoseyni, M. S., & Johnell, O. (2001). An assessment tool for predicting fracture risk in postmenopausal women. [Validation Studies]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 12(7), 519-528.
- Bohinc, B., & Snyder, J. E. (2008). The effects of race, ethnicity, and underlying medical diseases on osteoporosis are still unguided territory for internists. [Comment]. *Annals of internal medicine*, 149(7), 514-515; author reply 515-516.
- Bonaiuti, D., Shea, B., Iovine, R., Negrini, S., Robinson, V., Kemper, H. C., . . . Cranney, A. (2002). Exercise for preventing and treating osteoporosis in postmenopausal women. [Meta-Analysis]. *Cochrane database of systematic reviews*(3), CD000333. doi: 10.1002/14651858.CD000333
- Bonnick, S. L., & Shulman, L. (2006). Monitoring osteoporosis therapy: bone mineral density, bone turnover markers, or both? [Review]. *The American journal of medicine*, 119(4 Suppl 1), S25-31. doi: 10.1016/j.amjmed.2005.12.020
- Boonstra, A., Barrat, F. J., Crain, C., Heath, V. L., Savelkoul, H. F., & O'Garra, A. (2001). 1alpha,25-Dihydroxyvitamin d3 has a direct effect on naive CD4(+) T cells to enhance the development of Th2 cells. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of immunology*, 167(9), 4974-4980.
- Borer, K. T. (2005). Physical activity in the prevention and amelioration of osteoporosis in women : interaction of mechanical, hormonal and dietary factors. [Review]. *Sports medicine*, 35(9), 779-830.
- Borjas-Fajardo, L., Zambrano, M., Fernandez, E., Pineda, L., Machin, A., de Romero, P., . . . Delgado, W. (2003). [Analysis of Bsm I polymorphism of the vitamin D receptor (VDR) gene in Venezuelan female patients living in the state of Zulia with osteoporosis]. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Investigacion clinica*, 44(4), 275-282.
- Borras, M., Torregrossa, V., Oliveras, A., Almirall, J., Ma Paz, M., Betriu, A., . . . Fernandez, E. (2003). BB genotype of the vitamin D receptor gene polymorphism postpones parathyroidectomy in hemodialysis patients. [Comparative Study]. *Journal of nephrology*, 16(1), 116-120.
- Bouillon, R., Okamura, W. H., & Norman, A. W. (1995). Structure-function relationships in the vitamin D endocrine system. [Review]. *Endocrine reviews*, 16(2), 200-257.
- Bourdeau, A., Atmani, F., Grosse, B., & Lieberherr, M. (1990). Rapid effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and extracellular Ca2+ on phospholipid metabolism in dispersed porcine parathyroid cells. [In Vitro]. *Endocrinology*, 127(6), 2738-2743.

- Boyle, W. J., Simonet, W. S., & Lacey, D. L. (2003). Osteoclast differentiation and activation. [Review]. *Nature*, 423(6937), 337-342. doi: 10.1038/nature01658
- Bretherton-Watt, D., Given-Wilson, R., Mansi, J. L., Thomas, V., Carter, N., & Colston, K. W. (2001). Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with breast cancer risk in a UK Caucasian population. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *British journal of cancer*, 85(2), 171-175. doi: 10.1054/bjoc.2001.1864
- Brown, A. J. (1999). Regulation of vitamin D action. [Editorial]. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 14(1), 11-16.
- Brown, A. J., Dusso, A., Lopez-Hilker, S., Lewis-Finch, J., Grooms, P., & Slatopolsky, E. (1989). 1,25-(OH)₂D receptors are decreased in parathyroid glands from chronically uremic dogs. *Kidney international*, 35(1), 19-23.
- Brown, A. J., Dusso, A., & Slatopolsky, E. (1999). Vitamin D. [Review]. *The American journal of physiology*, 277(2 Pt 2), F157-175.
- Brown, A. J., Krits, I., & Armbrecht, H. J. (2005). Effect of age, vitamin D, and calcium on the regulation of rat intestinal epithelial calcium channels. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Archives of biochemistry and biophysics*, 437(1), 51-58. doi: 10.1016/j.abb.2005.02.007
- Brown, A. J., Ritter, C., Slatopolsky, E., Muralidharan, K. R., Okamura, W. H., & Reddy, G. S. (1999). 1 α ,25-dihydroxy-3-epi-vitamin D₃, a natural metabolite of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃, is a potent suppressor of parathyroid hormone secretion. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Journal of cellular biochemistry*, 73(1), 106-113.
- Brown, A. J., & Slatopolsky, E. (1999). Vitamin D analogs: perspectives for treatment. [Review]. *Mineral and electrolyte metabolism*, 25(4-6), 337-341. doi: 57470
- Brown, M. (1999). Do vitamin E and fish oil protect against ischaemic heart disease? [Clinical Trial]. *Lancet*, 354(9177), 441-442. doi: 10.1016/S0140-6736(99)00253-6
- Brumbaugh, P. F., & Haussler, M. R. (1975). Specific binding of 1 α ,25-dihydroxycholecalciferol to nuclear components of chick intestine. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *The Journal of biological chemistry*, 250(4), 1588-1594.
- Bushinsky, D. A. (1995). The contribution of acidosis to renal osteodystrophy. [Case Reports]. *Kidney international*, 47(6), 1816-1832.
- Bustamante, M., Nogues, X., Enjuanes, A., Elosua, R., Garcia-Giralt, N., Perez-Edo, L., . . . Grinberg, D. (2007). COL1A1, ESR1, VDR and TGFB1 polymorphisms and haplotypes in relation to BMD in Spanish postmenopausal women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for*

- Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 18(2), 235-243. doi: 10.1007/s00198-006-0225-8
- Campusano, C. (1999). Enfrentamiento clínico del paciente con osteoporosis. *Bol Esc Med*, 28(1-2), 20-27.
- Canalis, E., McCarthy, T. L., & Centrella, M. (1989). The role of growth factors in skeletal remodeling. [Review]. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 18(4), 903-918.
- Cantorna, M. T. (2000). Vitamin D and autoimmunity: is vitamin D status an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence? [Review]. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine*, 223(3), 230-233.
- Carani, C., Qin, K., Simoni, M., Faustini-Fustini, M., Serpente, S., Boyd, J., . . . Simpson, E. R. (1997). Effect of testosterone and estradiol in a man with aromatase deficiency. [Case Reports]. *The New England journal of medicine*, 337(2), 91-95. doi: 10.1056/NEJM199707103370204
- Carter, D. R., & Orr, T. E. (1992). Skeletal development and bone functional adaptation. [Review]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 7 Suppl 2, S389-395. doi: 10.1002/jbmr.5650071405
- Civitelli, R., Beyer, E. C., Warlow, P. M., Robertson, A. J., Geist, S. T., & Steinberg, T. H. (1993). Connexin43 mediates direct intercellular communication in human osteoblastic cell networks. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The Journal of clinical investigation*, 91(5), 1888-1896. doi: 10.1172/JCI116406
- Colston, K. W., & Feldman, D. (1979). Demonstration of a 1,25-dihydroxycholecalciferol cytoplasmic receptor-like binder in mouse kidney. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 49(5), 798-800.
- Comín, M., Peris, J. L., Prat, J., Dejoz, J. R., Vera, P. M., & Hoyos, J. V. (1999). *Biomecánica de la fractura ósea y técnicas de reparación*. Valencia: Instituto de Biomecánica de Valencia.
- Compston, J. E. (2001). Sex steroids and bone. [Review]. *Physiological reviews*, 81(1), 419-447.
- Cons, M. F. (2003). Marcadores bioquímicos de remodelado óseo. *Rev Metabol Os Min*, 1(3), 91-98.
- Consensus Development Conference on Osteoporosis. Hong Kong, April 1-2, 1993. (1993). [Consensus Development Conference]. *The American journal of medicine*, 95(5A), 1S-78S.
- Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. (1993). [Consensus Development Conference Review]. *The American journal of medicine*, 94(6), 646-650.
- Cooper, G. S., & Umbach, D. M. (1996). Are vitamin D receptor polymorphisms associated with bone mineral density? A meta-analysis. [Meta-Analysis]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American*

- Society for Bone and Mineral Research*, 11(12), 1841-1849. doi: 10.1002/jbmr.5650111203
- Correa-Cerro, L., Berthon, P., Haussler, J., Bochum, S., Drelon, E., Mangin, P., . . . Vogel, W. (1999). Vitamin D receptor polymorphisms as markers in prostate cancer. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Human genetics*, 105(3), 281-287.
- Creatsa, M., Pliatsika, P., Kaparos, G., Antoniou, A., Armeni, E., Tsakonas, E., . . . Lambrinouadaki, I. (2011). The effect of vitamin D receptor Bsm1 genotype on the response to osteoporosis treatment in postmenopausal women: A pilot study. *The journal of obstetrics and gynaecology research*. doi: 10.1111/j.1447-0756.2011.01557.x
- Culliton, B. J. (1987). Osteoporosis reexamined: complexity of bone biology is a challenge. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Science*, 235(4791), 833-834.
- Cummings, S. R., Bates, D., & Black, D. M. (2002). Clinical use of bone densitometry: scientific review. [Review]. *JAMA : the journal of the American Medical Association*, 288(15), 1889-1897.
- Cummings, S. R., Black, D. M., Nevitt, M. C., Browner, W. S., Cauley, J. A., Genant, H. K., . . . et al. (1990). Appendicular bone density and age predict hip fracture in women. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. [Clinical Trial]. *JAMA : the journal of the American Medical Association*, 263(5), 665-668.
- Cummings, S. R., & Melton, L. J. (2002). Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S., Review]. *Lancet*, 359(9319), 1761-1767. doi: 10.1016/S0140-6736(02)08657-9
- Cundy, T., & Reid, I. (1995). Metabolic bone disease. In W. Marshall & S. Bangert (Eds.), *Clinical Biochemistry Metabolic and Clinical Aspects* (pp. 507-532). Livingstone: NY Churchill.
- Curran, J. E., Vaughan, T., Lea, R. A., Weinstein, S. R., Morrison, N. A., & Griffiths, L. R. (1999). Association of A vitamin D receptor polymorphism with sporadic breast cancer development. *International journal of cancer. Journal international du cancer*, 83(6), 723-726.
- Chan, G. M., Hoffman, K., & McMurry, M. (1995). Effects of dairy products on bone and body composition in pubertal girls. [Clinical Trial]. *The Journal of pediatrics*, 126(4), 551-556.
- Chang, T. J., Lei, H. H., Yeh, J. I., Chiu, K. C., Lee, K. C., Chen, M. C., . . . Chuang, L. M. (2000). Vitamin D receptor gene polymorphisms influence susceptibility to type 1 diabetes mellitus in the Taiwanese population. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Clinical endocrinology*, 52(5), 575-580.
- Chatterjee, M. (2001). Vitamin D and genomic stability. [Review]. *Mutation research*, 475(1-2), 69-87.
- Chee, W. S., Suriah, A. R., Chan, S. P., Zaitun, Y., & Chan, Y. M. (2003). The effect of milk supplementation on bone mineral density in postmenopausal Chinese

- women in Malaysia. [Clinical Trial]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 14(10), 828-834. doi: 10.1007/s00198-003-1448-6
- Chen, H.-Y., Chen, W.-C., Hsu, C.-D., Tsai, F.-J., & Tsai, C.-H. (2002). Relation of vitamin D receptor FokI start codon polymorphism to bone mineral density and occurrence of osteoporosis in postmenopausal women in Taiwan. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*, 81(2), 93-98. doi: 10.1034/j.1600-0412.2002.810201.x
- Chen, H. Y., Chen, W. C., Hsu, C. D., Tsai, F. J., Tsai, C. H., & Li, C. W. (2001). Relation of BsmI vitamin D receptor gene polymorphism to bone mineral density and occurrence of osteoporosis in postmenopausal Chinese women in Taiwan. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 12(12), 1036-1041.
- Cheteri, M. B., Stanford, J. L., Friedrichsen, D. M., Peters, M. A., Iwasaki, L., Langlois, M. C., . . . Ostrander, E. A. (2004). Vitamin D receptor gene polymorphisms and prostate cancer risk. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *The Prostate*, 59(4), 409-418. doi: 10.1002/pros.20001
- Chouteau, J., Bignon, A., Chavassieux, P., Chevalier, J., Melin, M., Fantozzi, G., . . . Carret, J. P. (2003). [Cellular culture of osteoblasts and fibroblasts on porous calcium-phosphate bone substitutes]. *Revue de chirurgie orthopedique et reparatrice de l'appareil moteur*, 89(1), 44-52.
- Christenson, R. H. (1997). Biochemical markers of bone metabolism: an overview. [Review]. *Clinical Biochemistry*, 30(8), 573-593.
- Christian, J. C., Yu, P. L., Slemenda, C. W., & Johnston, C. C., Jr. (1989). Heritability of bone mass: a longitudinal study in aging male twins. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *American Journal of Human Genetics*, 44(3), 429-433.
- Christiansen, C., Riis, B. J., & Rodbro, P. (1987). Prediction of rapid bone loss in postmenopausal women. *Lancet*, 1(8542), 1105-1108.
- Dalen, N., & Olsson, K. E. (1974). Bone mineral content and physical activity. *Acta orthopaedica Scandinavica*, 45(2), 170-174.
- Dallas, S. L., Rosser, J. L., Mundy, G. R., & Bonewald, L. F. (2002). Proteolysis of latent transforming growth factor-beta (TGF-beta)-binding protein-1 by osteoclasts. A cellular mechanism for release of TGF-beta from bone matrix. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The Journal of biological chemistry*, 277(24), 21352-21360. doi: 10.1074/jbc.M111663200
- Davies, J. E., & Hosseini, M. (2000). *Histodynamics of endosseous wound healing*. Toronto: Bone Engineering.
- Dawson-Hughes, B., Harris, S. S., & Finneran, S. (1995). Calcium absorption on high and low calcium intakes in relation to vitamin D receptor genotype.

- [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 80(12), 3657-3661.
- Dawson-Hughes, B., Heaney, R. P., Holick, M. F., Lips, P., Meunier, P. J., & Vieth, R. (2005). Estimates of optimal vitamin D status. [Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S.]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 16(7), 713-716. doi: 10.1007/s00198-005-1867-7
- De Laet, C., Kanis, J. A., Oden, A., Johanson, H., Johnell, O., Delmas, P., . . . Tenenhouse, A. (2005). Body mass index as a predictor of fracture risk: a meta-analysis. [Meta-Analysis]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 16(11), 1330-1338. doi: 10.1007/s00198-005-1863-y
- Delissalde, F., Hernandez, M. A., Barron, A., Bermejo, L., Arias, J., Halhali, A., & Castro, I. (1998). [Vitamin D induces proliferation in rat endometrium cultured cells]. *Revista de investigacion clinica; organo del Hospital de Enfermedades de la Nutricion*, 50(2), 113-118.
- Deluca, H. F., & Cantorna, M. T. (2001). Vitamin D: its role and uses in immunology. [Review]. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 15(14), 2579-2585. doi: 10.1096/fj.01-0433rev
- Deng, H. W., Li, J., Li, J. L., Johnson, M., Gong, G., & Recker, R. R. (1999). Association of VDR and estrogen receptor genotypes with bone mass in postmenopausal Caucasian women: different conclusions with different analyses and the implications. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 9(6), 499-507.
- Dohi, Y., Iki, M., Ohgushi, H., Gojo, S., Tabata, S., Kajita, E., . . . Yonemasu, K. (1998). A novel polymorphism in the promoter region for the human osteocalcin gene: the possibility of a correlation with bone mineral density in postmenopausal Japanese women. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 13(10), 1633-1639. doi: 10.1359/jbmr.1998.13.10.1633
- Douroudis, K., Tarassi, K., Ioannidis, G., Giannakopoulos, F., Moutsatsou, P., Thalassinou, N., & Papasteriades, C. (2003). Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women of Hellenic origin. *Maturitas*, 45(3), 191-197.
- Ducy, P., Zhang, R., Geoffroy, V., Ridall, A. L., & Karsenty, G. (1997). Osf2/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Cell*, 89(5), 747-754.

- Duman, B. S., Tanakol, R., Erensoy, N., Ozturk, M., & Yilmazer, S. (2004). Vitamin D receptor alleles, bone mineral density and turnover in postmenopausal osteoporotic and healthy women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Medical principles and practice : international journal of the Kuwait University, Health Science Centre*, 13(5), 260-266. doi: 10.1159/000079524
- Dundar, U., Solak, M., Kavuncu, V., Ozdemir, M., Cakir, T., Yildiz, H., & Evcik, D. (2009). Evidence of association of vitamin D receptor Apa I gene polymorphism with bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *Clinical rheumatology*, 28(10), 1187-1191. doi: 10.1007/s10067-009-1220-1
- Dunning, A. M., McBride, S., Gregory, J., Durocher, F., Foster, N. A., Healey, C. S., . . . Ponder, B. A. (1999). No association between androgen or vitamin D receptor gene polymorphisms and risk of breast cancer. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Carcinogenesis*, 20(11), 2131-2135.
- Durrin, L. K., Haile, R. W., Ingles, S. A., & Coetzee, G. A. (1999). Vitamin D receptor 3'-untranslated region polymorphisms: lack of effect on mRNA stability. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Biochimica et biophysica acta*, 1453(3), 311-320.
- Durusu Tanriover, M., Bora Tatar, G., Uluturk, T. D., Dayangac Erden, D., Tanriover, A., Kilicarslan, A., . . . Sain Guven, G. (2010). Evaluation of the effects of vitamin D receptor and estrogen receptor 1 gene polymorphisms on bone mineral density in postmenopausal women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Clinical rheumatology*, 29(11), 1285-1293. doi: 10.1007/s10067-010-1548-6
- Dusso, A. S., & Brown, A. J. (1998). Mechanism of vitamin D action and its regulation. [Review]. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, 32(2 Suppl 2), S13-24.
- Dusso, A. S., Brown, A. J., & Slatopolsky, E. (2005). Vitamin D. [Research Support, N.I.H., Extramural]. *American journal of physiology. Renal physiology*, 289(1), F8-28. doi: 10.1152/ajprenal.00336.2004
- Dynan, W. S., & Tjian, R. (1983). The promoter-specific transcription factor Sp1 binds to upstream sequences in the SV40 early promoter. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Cell*, 35(1), 79-87.
- Eisman, J. A. (1995). Vitamin D receptor gene alleles and osteoporosis: an affirmative view. [Editorial Review]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 10(9), 1289-1293. doi: 10.1002/jbmr.5650100903
- Eisman, J. A., Morrison, N. A., Kelly, P. J., Sambrook, P. N., Howard, G., Qi, J., . . . Birmingham, J. (1995). Genetics of osteoporosis and vitamin D receptor alleles. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Calcified tissue international*, 56 Suppl 1, S48-49.
- Elffors, I., Allander, E., Kanis, J. A., Gullberg, B., Johnell, O., Dequeker, J., . . . et al. (1994). The variable incidence of hip fracture in southern Europe: the

- MEDOS Study. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 4(5), 253-263.
- Elias, J. A., Tang, W., & Horowitz, M. C. (1995). Cytokine and hormonal stimulation of human osteosarcoma interleukin-11 production. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Endocrinology*, 136(2), 489-498.
- Eriksen, E. F. (1986). Normal and pathological remodeling of human trabecular bone: three dimensional reconstruction of the remodeling sequence in normals and in metabolic bone disease. [Review]. *Endocrine reviews*, 7(4), 379-408.
- Estrada, K., Styrkarsdottir, U., Evangelou, E., Hsu, Y. H., Duncan, E. L., Ntzani, E. E., . . . Rivadeneira, F. (2012). Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture. *Nature Genetics*. doi: 10.1038/ng.2249
- Ettinger, B., Sidney, S., Cummings, S. R., Libanati, C., Bikle, D. D., Tekawa, I. S., . . . Steiger, P. (1997). Racial differences in bone density between young adult black and white subjects persist after adjustment for anthropometric, lifestyle, and biochemical differences. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 82(2), 429-434.
- Evans, R. A., Marel, G. M., Lancaster, E. K., Kos, S., Evans, M., & Wong, S. Y. (1988). Bone mass is low in relatives of osteoporotic patients. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Annals of internal medicine*, 109(11), 870-873.
- Evans, R. M. (1988). The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. [Comparative Study]. *Science*, 240(4854), 889-895.
- Falchetti, A., Sferrazza, C., Cepollaro, C., Gozzini, A., Del Monte, F., Masi, L., . . . Brandi, M. L. (2007). FokI polymorphism of the vitamin D receptor gene correlates with parameters of bone mass and turnover in a female population of the Italian island of Lampedusa. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Calcified tissue international*, 80(1), 15-20. doi: 10.1007/s00223-005-0295-1
- Falkiewicz, K., Bidzinska, B., Demissie, M., Boratynska, M., Zmonarski, S. C., Tworowska, K., . . . Patrzalek, D. (2005). Influence of vitamin D receptor gene polymorphisms on secondary hyperparathyroidism and bone density after kidney transplantation. [Clinical Trial]. *Transplantation proceedings*, 37(2), 1023-1025. doi: 10.1016/j.transproceed.2005.01.048
- Fang, Y., van Meurs, J. B., d'Alesio, A., Jhamai, M., Zhao, H., Rivadeneira, F., . . . Uitterlinden, A. G. (2005). Promoter and 3'-untranslated-region haplotypes in the vitamin d receptor gene predispose to osteoporotic fracture: the rotterdam study. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *American Journal of Human Genetics*, 77(5), 807-823. doi: 10.1086/497438
- Faraco, J. H., Morrison, N. A., Baker, A., Shine, J., & Frossard, P. M. (1989). Apal dimorphism at the human vitamin D receptor gene locus. *Nucleic acids research*, 17(5), 2150.

- Felsenberg, D., Silman, A. J., Lunt, M., Armbrecht, G., Ismail, A. A., Finn, J. D., . . . O'Neill, T. W. (2002). Incidence of vertebral fracture in europe: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 17(4), 716-724. doi: 10.1359/jbmr.2002.17.4.716
- Fernandez-Tresguerres-Hernandez-Gil, I., Alobera-Gracia, M. A., del-Canto-Pingarron, M., & Blanco-Jerez, L. (2006a). Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*, 11(1), E47-51.
- Fernandez-Tresguerres-Hernandez-Gil, I., Alobera-Gracia, M. A., del-Canto-Pingarron, M., & Blanco-Jerez, L. (2006b). Physiological bases of bone regeneration II. The remodeling process. [Review]. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*, 11(2), E151-157.
- Fernandez-Tresguerres Hernandez, J. A. (2006). [Molecular mechanisms of aging and its prevention by hormonal treatment in rats]. [Comparative Study]. *Anales de la Real Academia Nacional de Medicina*, 123(3), 575-589; discussion 589-596.
- Fernández Martín, J., González Suárez, I., & Cannata Andía, J. (2003). Regulación del receptor sensor de calcio. Influencia del hiperparatioidismo secundario. *Nefrología*(23), 7-11.
- Ferrari, S., Rizzoli, R., Chevalley, T., Slosman, D., Eisman, J. A., & Bonjour, J. P. (1995). Vitamin-D-receptor-gene polymorphisms and change in lumbar-spine bone mineral density. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Lancet*, 345(8947), 423-424.
- Finch, J. L., Brown, A. J., & Slatopolsky, E. (1999). Differential effects of 1,25-dihydroxy-vitamin D3 and 19-nor-1,25-dihydroxy-vitamin D2 on calcium and phosphorus resorption in bone. [Comparative Study]. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 10(5), 980-985.
- Fleet, J. C., Harris, S. S., Wood, R. J., & Dawson-Hughes, B. (1995). The Bsm1 vitamin D receptor restriction fragment length polymorphism (BB) predicts low bone density in premenopausal black and white women. [Comparative Study]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 10(6), 985-990. doi: 10.1002/jbmr.5650100621
- Flicker, L., Hopper, J. L., Rodgers, L., Kaymakci, B., Green, R. M., & Wark, J. D. (1995). Bone density determinants in elderly women: a twin study. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 10(11), 1607-1613. doi: 10.1002/jbmr.5650101102
- Fogelman, I., & Ryan, P. (1991). Osteoporosis: a growing epidemic. [Review]. *The British journal of clinical practice*, 45(3), 189-186.

- Fontova Garrofe, R., Gutierrez Fornes, C., Broch Montane, M., Aguilar Crespillo, C., Pujol del Pozo, A., Vendrell Ortega, J., & Richart Jurado, C. (2000). [Polymorphism of the gene for vitamin D receptor, bone mass, and bone turnover in women with postmenopausal osteoporosis]. *Revista clinica espanola*, 200(4), 198-202.
- Francis, R. M., Anderson, F. H., Patel, S., Sahota, O., & van Staa, T. P. (2006). Calcium and vitamin D in the prevention of osteoporotic fractures. [Review]. *QJM : monthly journal of the Association of Physicians*, 99(6), 355-363. doi: 10.1093/qjmed/hcl031
- Freund, J. N., Domon-Dell, C., Kedingler, M., & Duluc, I. (1998). The Cdx-1 and Cdx-2 homeobox genes in the intestine. [Review]. *Biochemistry and cell biology = Biochimie et biologie cellulaire*, 76(6), 957-969.
- Friedenstein, A. J. (1976). Precursor cells of mechanocytes. [Review]. *International review of cytology*, 47, 327-359.
- Frost, H. M. (1997). On our age-related bone loss: insights from a new paradigm. [Review]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 12(10), 1539-1546. doi: 10.1359/jbmr.1997.12.10.1539
- Fukazawa, T., Yabe, I., Kikuchi, S., Sasaki, H., Hamada, T., Miyasaka, K., & Tashiro, K. (1999). Association of vitamin D receptor gene polymorphism with multiple sclerosis in Japanese. *Journal of the neurological sciences*, 166(1), 47-52.
- Furuya, Y., Akakura, K., Masai, M., & Ito, H. (1999). Vitamin D receptor gene polymorphism in Japanese patients with prostate cancer. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Endocrine journal*, 46(3), 467-470.
- Gallagher, J. C., Goldgar, D., & Moy, A. (1987). Total bone calcium in normal women: effect of age and menopause status. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 2(6), 491-496. doi: 10.1002/jbmr.5650020605
- Gallieni, M., Kamimura, S., Ahmed, A., Bravo, E., Delmez, J., Slatopolsky, E., & Dusso, A. (1995). Kinetics of monocyte 1 alpha-hydroxylase in renal failure. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The American journal of physiology*, 268(4 Pt 2), F746-753.
- Gambrell, R. D., Jr. (1989). Use of progestogens in postmenopausal women. [Review]. *International journal of fertility*, 34(5), 315-321.
- Gardsell, P., Johnell, O., & Nilsson, B. E. (1991). The predictive value of bone loss for fragility fractures in women: a longitudinal study over 15 years. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Calcified tissue international*, 49(2), 90-94.
- Garland, C. F., Garland, F. C., & Gorham, E. D. (1999). Calcium and vitamin D. Their potential roles in colon and breast cancer prevention. [Review]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 889, 107-119.

- Garnero, P., Borel, O., Sornay-Rendu, E., Arlot, M. E., & Delmas, P. D. (1996). Vitamin D receptor gene polymorphisms are not related to bone turnover, rate of bone loss, and bone mass in postmenopausal women: the OFELY Study. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 11(6), 827-834. doi: 10.1002/jbmr.5650110614
- Garnero, P., Borel, O., Sornay-Rendu, E., & Delmas, P. D. (1995). Vitamin D receptor gene polymorphisms do not predict bone turnover and bone mass in healthy premenopausal women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 10(9), 1283-1288. doi: 10.1002/jbmr.5650100902
- Garnero, P., & Delmas, P. D. (1998). Biochemical markers of bone turnover. Applications for osteoporosis. [Review]. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 27(2), 303-323.
- Garnero, P., Munoz, F., Borel, O., Sornay-Rendu, E., & Delmas, P. D. (2005). Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with the risk of fractures in postmenopausal women, independently of bone mineral density. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(8), 4829-4835.
- Genant, H. K., Baylink, D. J., & Gallagher, J. C. (1989). Estrogens in the prevention of osteoporosis in postmenopausal women. [Review]. *American journal of obstetrics and gynecology*, 161(6 Pt 2), 1842-1846.
- Genant, H. K., Engelke, K., & Prevrhal, S. (2008). Advanced CT bone imaging in osteoporosis. [Review]. *Rheumatology*, 47 Suppl 4, iv9-16. doi: 10.1093/rheumatology/ken180
- Gennari, L., Becherini, L., Masi, L., Gonnelli, S., Cepollaro, C., Martini, S., . . . Brandi, M. L. (1997). Vitamin D receptor genotypes and intestinal calcium absorption in postmenopausal women. *Calcified tissue international*, 61(6), 460-463.
- Gennari, L., Merlotti, D., De Paola, V., Calabro, A., Becherini, L., Martini, G., & Nuti, R. (2005). Estrogen receptor gene polymorphisms and the genetics of osteoporosis: a HuGE review. [Review]. *American Journal of Epidemiology*, 161(4), 307-320. doi: 10.1093/aje/kwi055
- Giannini, S., D'Angelo, A., Nobile, M., Carraro, G., Rigotti, P., Silva-Netto, F., . . . Crepaldi, G. (2002). The effects of vitamin D receptor polymorphism on secondary hyperparathyroidism and bone density after renal transplantation. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 17(10), 1768-1773. doi: 10.1359/jbmr.2002.17.10.1768
- Gilbert, S. G., Johns, P. C., Chow, D. C., & Black, R. C. (1993). Relation of vertebral bone screw axial pullout strength to quantitative computed tomographic trabecular bone mineral content. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of spinal disorders*, 6(6), 513-521.

- Gilsanz, V., Gibbens, D. T., Roe, T. F., Carlson, M., Senac, M. O., Boechat, M. I., . . . Cann, C. C. (1988). Vertebral bone density in children: effect of puberty. *Radiology*, 166(3), 847-850.
- Gilsanz, V., Skaggs, D. L., Kovanlikaya, A., Sayre, J., Loro, M. L., Kaufman, F., & Korenman, S. G. (1998). Differential effect of race on the axial and appendicular skeletons of children. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 83(5), 1420-1427.
- Giovannucci, E. (2005). The epidemiology of vitamin D and cancer incidence and mortality: a review (United States). [Review]. *Cancer causes & control : CCC*, 16(2), 83-95. doi: 10.1007/s10552-004-1661-4
- Goff, J. P., Reinhardt, T. A., Beckman, M. J., & Horst, R. L. (1990). Contrasting effects of exogenous 1,25-dihydroxyvitamin D [1,25-(OH)2D] versus endogenous 1,25-(OH)2D, induced by dietary calcium restriction, on vitamin D receptors. [Comparative Study]. *Endocrinology*, 126(2), 1031-1035.
- Gómez Alonso, C., & Díaz López, J. B. (2009). Métodos de determinación de la densidad mineral ósea. *Revista clinica española*, 209(1), 15-22.
- Gómez Alonso, C., Díaz López, J. B., & Cannata Andía, J. B. (1996). Metodología de evaluación de la masa ósea. In M. Díaz Curiel, A. Díez Pérez & C. Gómez Alonso (Eds.), *Nuevas Fronteras en el Estudio de la Densidad Mineral ósea en la Población Española* (pp. 11-55). Madrid: Edimsa.
- Gomez Alonso, C., Naves Diaz, M. L., Diaz-Corte, C., Fernandez Martin, J. L., & Cannata Andia, J. B. (1998). Vitamin D receptor gene (VDR) polymorphisms: effect on bone mass, bone loss and parathyroid hormone regulation. [Review]. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 13 Suppl 3, 73-77.
- Gómez Alonso, C., Naves, M., Díaz-Corte, C., Fernández Martín, J., & Cannata Andía, J. (1998). Vitamin D receptor gene (VDR) polymorphism: effect on bone mass, bone loss and parathyroid hormone regulation. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 13(3), 73-77.
- Gomez, C., Naves, M. L., Barrios, Y., Diaz, J. B., Fernandez, J. L., Salido, E., . . . Cannata, J. B. (1999). Vitamin D receptor gene polymorphisms, bone mass, bone loss and prevalence of vertebral fracture: differences in postmenopausal women and men. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 10(3), 175-182.
- Gong, G., Stern, H. S., Cheng, S. C., Fong, N., Mordeson, J., Deng, H. W., & Recker, R. R. (1999). The association of bone mineral density with vitamin D receptor gene polymorphisms. [Meta-Analysis Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation*

- between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA, 9(1), 55-64.
- Gotfredsen, A., Hadberg, A., Nilas, L., & Christiansen, C. (1987). Total body bone mineral in healthy adults. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 110(3), 362-368.
- Goto, T., Yamaza, T., & Tanaka, T. (2003). Cathepsins in the osteoclast. [Review]. *Journal of electron microscopy*, 52(6), 551-558.
- Grant, S. F., & Ralston, S. H. (1997). Genes and osteoporosis. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 8(6), 232-236.
- Grant, S. F., Reid, D. M., Blake, G., Herd, R., Fogelman, I., & Ralston, S. H. (1996). Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I alpha 1 gene. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Nature Genetics*, 14(2), 203-205. doi: 10.1038/ng1096-203
- Grodin, J. M., Siiteri, P. K., & MacDonald, P. C. (1973). Source of estrogen production in postmenopausal women. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 36(2), 207-214.
- Groff, J., & Grooper, S. (1999). The fat soluble Vitamins. In S. Grooper (Ed.), *Advanced Nutrition and Human metabolism* (Vol. 10, pp. 333-341). USA: Wadsworth.
- Gross, C., Eccleshall, T. R., Malloy, P. J., Villa, M. L., Marcus, R., & Feldman, D. (1996). The presence of a polymorphism at the translation initiation site of the vitamin D receptor gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal Mexican-American women. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 11(12), 1850-1855. doi: 10.1002/jbmr.5650111204
- Group, T. W. S. (1994). Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. *Genève: World Health Organization*.
- Grupo de Trabajo de la Sociedad Española de Investigaciones Óseas y Metabolismo Mineral: Osteoporosis postmenopáusica. Guía de práctica clínica. (2003). *Revista clinica espanola*(203), 496-509.
- Gsur, A., Feik, E., & Madersbacher, S. (2004). Genetic polymorphisms and prostate cancer risk. [Review]. *World journal of urology*, 21(6), 414-423. doi: 10.1007/s00345-003-0378-4
- Gueguen, L. (2001). Calcium, Phosphore. In A. Matin (Ed.), *Recommended nutritional intakes for the french population francaise* (pp. 131-146). Paris: Tech and Doc.
- Guglielmi, G., Scalzo, G., de Terlizzi, F., & Peh, W. C. (2010). Quantitative ultrasound in osteoporosis and bone metabolism pathologies. [Review]. *Radiologic clinics of North America*, 48(3), 577-588. doi: 10.1016/j.rcl.2010.02.013
- Guy, M., Lowe, L. C., Bretherton-Watt, D., Mansi, J. L., Peckitt, C., Bliss, J., . . . Colston, K. W. (2004). Vitamin D receptor gene polymorphisms and breast cancer risk. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Clinical cancer research : an official*

- journal of the American Association for Cancer Research*, 10(16), 5472-5481.
doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0206
- Habuchi, T., Suzuki, T., Sasaki, R., Wang, L., Sato, K., Satoh, S., . . . Kato, T. (2000). Association of vitamin D receptor gene polymorphism with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia in a Japanese population. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Cancer research*, 60(2), 305-308.
- Halsall, J. A., Osborne, J. E., Pringle, J. H., & Hutchinson, P. E. (2005). Vitamin D receptor gene polymorphisms, particularly the novel A-1012G promoter polymorphism, are associated with vitamin D3 responsiveness and non-familial susceptibility in psoriasis. [Clinical Trial]. *Pharmacogenetics and genomics*, 15(5), 349-355.
- Ham, A. W. (1952). Some histophysiological problems peculiar to calcified tissues. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*, 24-A-3, 701-728.
- Hangartner, T. N., & Gilsanz, V. (1996). Evaluation of cortical bone by computed tomography. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 11(10), 1518-1525. doi: 10.1002/jbmr.5650111019
- Hankes, L. V., Schmaeler, M., Jansen, C. R., & Brown, R. R. (1999). Vitamin effects on tryptophan-niacin metabolism in primary hepatoma patients. *Advances in experimental medicine and biology*, 467, 283-287.
- Hansen, T. S., Abrahamsen, B., Henriksen, F. L., Hermann, A. P., Jensen, L. B., Horder, M., & Gram, J. (1998). Vitamin D receptor alleles do not predict bone mineral density or bone loss in Danish perimenopausal women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Bone*, 22(5), 571-575.
- Harada, S., & Rodan, G. A. (2003). Control of osteoblast function and regulation of bone mass. [Review]. *Nature*, 423(6937), 349-355. doi: 10.1038/nature01660
- Harrington, M., Bennett, T., Jakobsen, J., Ovesen, L., Brot, C., Flynn, A., & Cashman, K. D. (2004). Effect of a high-protein, high-salt diet on calcium and bone metabolism in postmenopausal women stratified by hormone replacement therapy use. [Clinical Trial]. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58(10), 1436-1439. doi: 10.1038/sj.ejcn.1601983
- Haskell, M. J., & Brown, K. H. (1999). Maternal vitamin A nutriture and the vitamin A content of human milk. [Review]. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 4(3), 243-257.
- Haussler, M. R., Mangelsdorf, D. J., Komm, B. S., Terpening, C. M., Yamaoka, K., Allegretto, E. A., . . . et al. (1988). Molecular biology of the vitamin D hormone. [Review]. *Recent progress in hormone research*, 44, 263-305.
- Heaney, R. P. (2000). Calcium, dairy products and osteoporosis. [Review]. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(2 Suppl), 83S-99S.
- Hedlund, L. R., & Gallagher, J. C. (1989). The effect of age and menopause on bone mineral density of the proximal femur. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American*

- Society for Bone and Mineral Research*, 4(4), 639-642. doi: 10.1002/jbmr.5650040423
- Henderson, N. K., White, C. P., & Eisman, J. A. (1998). The roles of exercise and fall risk reduction in the prevention of osteoporosis. [Review]. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 27(2), 369-387.
- Hitman, G. A., Mannan, N., McDermott, M. F., Aganna, E., Ogunkolade, B. W., Hales, C. N., & Boucher, B. J. (1998). Vitamin D receptor gene polymorphisms influence insulin secretion in Bangladeshi Asians. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Diabetes*, 47(4), 688-690.
- Holick, M. F. (1995). Noncalcemic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and clinical applications. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Bone*, 17(2 Suppl), 107S-111S.
- Holick, M. F. (2003). Vitamin D: A millenium perspective. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Journal of cellular biochemistry*, 88(2), 296-307. doi: 10.1002/jcb.10338
- Holick, M. F. (2006a). High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. [Review]. *Mayo Clinic proceedings. Mayo Clinic*, 81(3), 353-373. doi: 10.4065/81.3.353
- Holick, M. F. (2006b). The role of vitamin D for bone health and fracture prevention. [Review]. *Current osteoporosis reports*, 4(3), 96-102.
- Holick, M. F. (2007a). Optimal vitamin D status for the prevention and treatment of osteoporosis. [Review]. *Drugs & aging*, 24(12), 1017-1029.
- Holick, M. F. (2007b). Vitamin D deficiency. [Review]. *The New England journal of medicine*, 357(3), 266-281. doi: 10.1056/NEJMra070553
- Holick, M. F., Frommer, J. E., McNeill, S. C., Richtand, N. M., Henley, J. W., & Potts, J. T., Jr. (1977). Photometabolism of 7-dehydrocholesterol to previtamin D3 in skin. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Biochemical and biophysical research communications*, 76(1), 107-114.
- Hopper, J. L., & Seeman, E. (1994). The bone density of female twins discordant for tobacco use. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The New England journal of medicine*, 330(6), 387-392. doi: 10.1056/NEJM199402103300603
- Horst-Sikorska, W., Dytfeld, J., Wawrzyniak, A., Marcinkowska, M., Michalak, M., Franek, E., . . . Slomski, R. (2012). Vitamin D receptor gene polymorphisms, bone mineral density and fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *Molecular biology reports*. doi: 10.1007/s11033-012-2072-3
- Horst-Sikorska, W., Kalak, R., Wawrzyniak, A., Marcinkowska, M., Celczynska-Bajew, L., & Slomski, R. (2007). Association analysis of the polymorphisms of the VDR gene with bone mineral density and the occurrence of fractures. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of Bone & Mineral Metabolism*, 25(5), 310-319.
- Horst-Sikorska, W., Wawrzyniak, A., Celczynska-Bajew, L., Marcinkowska, M., Dabrowski, S., Kalak, R., & Slomski, R. (2005). Polymorphism of VDR gene-- the most effective molecular marker of osteoporotic bone fractures risk

- within postmenopausal women from Wielkopolska region of Poland. [Controlled Clinical Trial]. *Endokrynologia Polska*, 56(3), 233-239.
- Hoshi, K., Komori, T., & Ozawa, H. (1999). Morphological characterization of skeletal cells in Cbfa1-deficient mice. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Bone*, 25(6), 639-651.
- Hosoi, T., Miyao, M., Inoue, S., Hoshino, S., Shiraki, M., Orimo, H., & Ouchi, Y. (1999). Association study of parathyroid hormone gene polymorphism and bone mineral density in Japanese postmenopausal women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Calcified tissue international*, 64(3), 205-208.
- Houston, L. A., Grant, S. F., Reid, D. M., & Ralston, S. H. (1996). Vitamin D receptor polymorphism, bone mineral density, and osteoporotic vertebral fracture: studies in a UK population. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Bone*, 18(3), 249-252.
- Hruska, K. A., Bar-Shavit, Z., Malone, J. D., & Teitelbaum, S. (1988). Ca²⁺ priming during vitamin D-induced monocytic differentiation of a human leukemia cell line. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The Journal of biological chemistry*, 263(31), 16039-16044.
- Huang, C. M., Wu, M. C., Wu, J. Y., & Tsai, F. J. (2002). Association of vitamin D receptor gene BsmI polymorphisms in Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 11(1), 31-34.
- Huang, D. C., Papavasiliou, V., Rhim, J. S., Horst, R. L., & Kremer, R. (2002). Targeted disruption of the 25-hydroxyvitamin D3 1alpha-hydroxylase gene in ras-transformed keratinocytes demonstrates that locally produced 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 suppresses growth and induces differentiation in an autocrine fashion. [Comparative Study]. *Molecular cancer research : MCR*, 1(1), 56-67.
- Hubacek, J. A., Weichetova, M., Bohuslavova, R., Skodova, Z., Adamkova, V., & Stepan, J. J. (2006). Genetic polymorphisms of TGF-beta, PAI-1, and COL1A-1, and determination of bone mineral density in Caucasian females. [Comparative Study]. *Endocrine Regulations*, 40(3), 77-81.
- Hubacek, J. A., Weichetova, M., Bohuslavova, R., Skodova, Z., Stepan, J. J., & Adamkova, V. (2006). No associations between genetic polymorphisms of TGF-beta, PAI-1, and COL1A1, and bone mineral density in Caucasian females. [Comparative Study]. *Endocrine Regulations*, 40(4), 107-112.
- Hughes, M. R., & Haussler, M. R. (1978). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 receptors in parathyroid glands. Preliminary characterization of cytoplasmic and nuclear binding components. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *The Journal of biological chemistry*, 253(4), 1065-1073.
- Hughes, M. R., Malloy, P. J., Kieback, D. G., Kesterson, R. A., Pike, J. W., Feldman, D., & O'Malley, B. W. (1988). Point mutations in the human vitamin D receptor gene associated with hypocalcemic rickets. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Science*, 242(4886), 1702-1705.

- Hui, S. L., Slemenda, C. W., & Johnston, C. C., Jr. (1989). Baseline measurement of bone mass predicts fracture in white women. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Annals of internal medicine*, 111(5), 355-361.
- Hussien, Y. M., Shehata, A., Karam, R. A., Alzahrani, S. S., Magdy, H., & El-Shafey, A. M. (2013). Polymorphism in vitamin D receptor and osteoprotegerin genes in Egyptian rheumatoid arthritis patients with and without osteoporosis. *Molecular biology reports*, 40(5), 3675-3680. doi: 10.1007/s11033-012-2443-9
- Hustmyer, F. G., Peacock, M., Hui, S., Johnston, C. C., & Christian, J. (1994). Bone mineral density in relation to polymorphism at the vitamin D receptor gene locus. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *The Journal of Clinical Investigation*, 94(5), 2130-2134. doi: 10.1172/JCI117568
- Hutchinson, P. E., Osborne, J. E., Lear, J. T., Smith, A. G., Bowers, P. W., Morris, P. N., . . . Fryer, A. A. (2000). Vitamin D receptor polymorphisms are associated with altered prognosis in patients with malignant melanoma. [Multicenter Study]. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 6(2), 498-504.
- Iki, M., Saito, Y., Dohi, Y., Kajita, E., Nishino, H., Yonemasu, K., & Kusaka, Y. (2002). Greater trunk muscle torque reduces postmenopausal bone loss at the spine independently of age, body size, and vitamin D receptor genotype in Japanese women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Calcified tissue international*, 71(4), 300-307. doi: 10.1007/s00223-001-2109-4
- Ikuyama, T., Hamasaki, T., Inatomi, H., Katoh, T., Muratani, T., & Matsumoto, T. (2002). Association of vitamin D receptor gene polymorphism with renal cell carcinoma in Japanese. *Endocrine journal*, 49(4), 433-438.
- Ingles, S. A., Ross, R. K., Yu, M. C., Irvine, R. A., La Pera, G., Haile, R. W., & Coetzee, G. A. (1997). Association of prostate cancer risk with genetic polymorphisms in vitamin D receptor and androgen receptor. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of the National Cancer Institute*, 89(2), 166-170.
- Ingles, S. A., Wang, J., Coetzee, G. A., Lee, E. R., Frankl, H. D., & Haile, R. W. (2001). Vitamin D receptor polymorphisms and risk of colorectal adenomas (United States). [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Cancer causes & control : CCC*, 12(7), 607-614.
- Ioannidis, J. P., Ralston, S. H., Bennett, S. T., Brandi, M. L., Grinberg, D., Karassa, F. B., . . . Uitterlinden, A. G. (2004). Differential genetic effects of ESR1 gene polymorphisms on osteoporosis outcomes. [Multicenter Study]. *JAMA : the journal of the American Medical Association*, 292(17), 2105-2114. doi: 10.1001/jama.292.17.2105
- Ioannidis, J. P., Stavrou, I., Trikalinos, T. A., Zois, C., Brandi, M. L., Gennari, L., . . . Tsatsoulis, A. (2002). Association of polymorphisms of the estrogen receptor alpha gene with bone mineral density and fracture risk in women: a meta-analysis. [Meta-Analysis]. *Journal of bone and mineral research : the*

- official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 17(11), 2048-2060. doi: 10.1359/jbmr.2002.17.11.2048
- James, P. T., Leach, R., Kalamara, E., & Shayeghi, M. (2001). The worldwide obesity epidemic. [Review]. *Obesity research*, 9 Suppl 4, 228S-233S. doi: 10.1038/oby.2001.123
- Jergas, M., Breitenseher, M., Gluer, C. C., Yu, W., & Genant, H. K. (1995). Estimates of volumetric bone density from projectional measurements improve the discriminatory capability of dual X-ray absorptiometry. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 10(7), 1101-1110. doi: 10.1002/jbmr.5650100715
- Ji, G. R., Yao, M., Sun, C. Y., Li, Z. H., & Han, Z. (2010). BsmI, TaqI, ApaI and FokI polymorphisms in the vitamin D receptor (VDR) gene and risk of fracture in Caucasians: a meta-analysis. [Meta-Analysis]. *Bone*, 47(3), 681-686.
- Jia, F., Sun, R. F., Li, Q. H., Wang, D. X., Zhao, F., Li, J. M., . . . Xiong, Y. (2012). Vitamin D Receptor BsmI Polymorphism and Osteoporosis Risk: A Meta-Analysis from 26 Studies. *Genetic testing and molecular biomarkers*. doi: 10.1089/gtmb.2012.0267
- Jilka, R. L. (2003). Biology of the basic multicellular unit and the pathophysiology of osteoporosis. [Review]. *Medical and pediatric oncology*, 41(3), 182-185. doi: 10.1002/mpo.10334
- Johnell, O., & Kanis, J. (2005). Epidemiology of osteoporotic fractures. [Review]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 16 Suppl 2, S3-7. doi: 10.1007/s00198-004-1702-6
- Johnell, O., & Kanis, J. A. (2006). An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 17(12), 1726-1733. doi: 10.1007/s00198-006-0172-4
- Jorde, L. B., Bamshad, J., & Carey, J. C. (2011). Variación Genética: Su origen y Detección *Genética médica* (pp. 26-55). Washington: Elsevier Health Sciences Spain.
- Kammerer, C. M., Dualan, A. A., Samollow, P. B., Perisse, A. R., Bauer, R. L., MacCluer, J. W., . . . Mitchell, B. D. (2004). Bone mineral density, carotid artery intimal medial thickness, and the vitamin D receptor BsmI polymorphism in Mexican American women. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Calcified tissue international*, 75(4), 292-298. doi: 10.1007/s00223-004-0215-9
- Kanis, J. A. (2002). Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. [Review]. *Lancet*, 359(9321), 1929-1936. doi: 10.1016/S0140-6736(02)08761-5

- Kanis, J. A., & Gluer, C. C. (2000). An update on the diagnosis and assessment of osteoporosis with densitometry. Committee of Scientific Advisors, International Osteoporosis Foundation. [Comment]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 11(3), 192-202.
- Kanis, J. A., & Johnell, O. (2005). Requirements for DXA for the management of osteoporosis in Europe. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 16(3), 229-238. doi: 10.1007/s00198-004-1811-2
- Kanis, J. A., Johnell, O., Oden, A., Dawson, A., De Laet, C., & Jonsson, B. (2001). Ten year probabilities of osteoporotic fractures according to BMD and diagnostic thresholds. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 12(12), 989-995.
- Kawaguchi, J., Mee, P. J., & Smith, A. G. (2005). Osteogenic and chondrogenic differentiation of embryonic stem cells in response to specific growth factors. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Bone*, 36(5), 758-769. doi: 10.1016/j.bone.2004.07.019
- Keen, R. W., Major, P. J., Lanchbury, J. S., & Spector, T. D. (1995). Vitamin-D-receptor-gene polymorphism and bone loss. [Comment]. *Lancet*, 345(8955), 990.
- Keen, R. W., Woodford-Richens, K. L., Lanchbury, J. S., & Spector, T. D. (1998). Allelic variation at the interleukin-1 receptor antagonist gene is associated with early postmenopausal bone loss at the spine. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Bone*, 23(4), 367-371.
- Kelly, P. J., Hopper, J. L., Macaskill, G. T., Pocock, N. A., Sambrook, P. N., & Eisman, J. A. (1991). Genetic factors in bone turnover. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 72(4), 808-813.
- Key, L. L., Jr., Weichselbaum, R. R., & Carnes, D. L., Jr. (1988). A link between calcitriol and bone resorption. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Bone and mineral*, 3(3), 201-209.
- Khosla, S., Riggs, B. L., Atkinson, E. J., Oberg, A. L., Mavilia, C., Del Monte, F., . . . Brandi, M. L. (2004). Relationship of estrogen receptor genotypes to bone mineral density and to rates of bone loss in men. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 89(4), 1808-1816.
- Kibel, A. S., Isaacs, S. D., Isaacs, W. B., & Bova, G. S. (1998). Vitamin D receptor polymorphisms and lethal prostate cancer. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The Journal of urology*, 160(4), 1405-1409.

- Kiel, D. P., Felson, D. T., Hannan, M. T., Anderson, J. J., & Wilson, P. W. (1990). Caffeine and the risk of hip fracture: the Framingham Study. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *American Journal of Epidemiology*, 132(4), 675-684.
- Kiel, D. P., Myers, R. H., Cupples, L. A., Kong, X. F., Zhu, X. H., Ordovas, J., . . . Holick, M. F. (1997). The Bsm1 vitamin D receptor restriction fragment length polymorphism (bb) influences the effect of calcium intake on bone mineral density. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 12(7), 1049-1057. doi: 10.1359/jbmr.1997.12.7.1049
- Kim, H. S., Newcomb, P. A., Ulrich, C. M., Keener, C. L., Bigler, J., Farin, F. M., . . . Potter, J. D. (2001). Vitamin D receptor polymorphism and the risk of colorectal adenomas: evidence of interaction with dietary vitamin D and calcium. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 10(8), 869-874.
- Kim, J. G., Kwon, J. H., Kim, S. H., Choi, Y. M., Moon, S. Y., & Lee, J. Y. (2003). Association between vitamin D receptor gene haplotypes and bone mass in postmenopausal Korean women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *American journal of obstetrics and gynecology*, 189(5), 1234-1240.
- Kizaki, M., Norman, A. W., Bishop, J. E., Lin, C. W., Karmakar, A., & Koeffler, H. P. (1991). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 receptor RNA: expression in hematopoietic cells. [Comparative Study]. *Blood*, 77(6), 1238-1247.
- Klein-Nulend, J., Roelofsen, J., Sterck, J. G., Semeins, C. M., & Burger, E. H. (1995). Mechanical loading stimulates the release of transforming growth factor-beta activity by cultured mouse calvariae and periosteal cells. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of cellular physiology*, 163(1), 115-119. doi: 10.1002/jcp.1041630113
- Klein-Nulend, J., van der Plas, A., Semeins, C. M., Ajubi, N. E., Frangos, J. A., Nijweide, P. J., & Burger, E. H. (1995). Sensitivity of osteocytes to biomechanical stress in vitro. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 9(5), 441-445.
- Kobayashi, S., Inoue, S., Hosoi, T., Ouchi, Y., Shiraki, M., & Orimo, H. (1996). Association of bone mineral density with polymorphism of the estrogen receptor gene. [Clinical Trial]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 11(3), 306-311. doi: 10.1002/jbmr.5650110304
- Komori, T., Yagi, H., Nomura, S., Yamaguchi, A., Sasaki, K., Deguchi, K., . . . Kishimoto, T. (1997). Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Cell*, 89(5), 755-764.

- Kondo, T., Kitazawa, R., Maeda, S., & Kitazawa, S. (2004). 1 alpha,25 dihydroxyvitamin D3 rapidly regulates the mouse osteoprotegerin gene through dual pathways. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 19(9), 1411-1419. doi: 10.1359/JBMR.040604
- Krabbe, S., Christiansen, C., Rodbro, P., & Transbol, I. (1979). Effect of puberty on rates of bone growth and mineralisation: with observations in male delayed puberty. *Archives of disease in childhood*, 54(12), 950-953.
- Krall, E. A., Parry, P., Lichter, J. B., & Dawson-Hughes, B. (1995). Vitamin D receptor alleles and rates of bone loss: influences of years since menopause and calcium intake. [Clinical Trial]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 10(6), 978-984. doi: 10.1002/jbmr.5650100620
- Kream, B. E., Jose, M., Yamada, S., & DeLuca, H. F. (1977). A specific high-affinity binding macromolecule for 1,25-dihydroxyvitamin D3 in fetal bone. [In Vitro]. *Science*, 197(4308), 1086-1088.
- Kroger, H., Mahonen, A., Ryhanen, S., Turunen, A. M., Alhava, E., & Maenpaa, P. (1995). Vitamin D receptor genotypes and bone mineral density. [Comment]. *Lancet*, 345(8959), 1238; author reply 1239.
- Krohn, K., Haffner, D., Hugel, U., Himmele, R., Klaus, G., Mehls, O., & Schaefer, F. (2003). 1,25(OH)2D3 and dihydrotestosterone interact to regulate proliferation and differentiation of epiphyseal chondrocytes. *Calcified tissue international*, 73(4), 400-410. doi: 10.1007/s00223-002-2160-9
- Kurabayashi, T., Matsushita, H., Tomita, M., Kato, N., Kikuchi, M., Nagata, H., . . . Tanaka, K. (2004). Association of vitamin D and estrogen receptor gene polymorphism with the effects of longterm hormone replacement therapy on bone mineral density. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of bone and mineral metabolism*, 22(3), 241-247. doi: 10.1007/s00774-003-0474-y
- Kurt, O., Yilmaz-Aydogan, H., Uyar, M., Isbir, T., Seyhan, M. F., & Can, A. (2012a). Evaluation of ERalpha and VDR gene polymorphisms in relation to bone mineral density in Turkish postmenopausal women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Molecular biology reports*, 39(6), 6723-6730. doi: 10.1007/s11033-012-1496-0
- Kurt, O., Yilmaz-Aydogan, H., Uyar, M., Isbir, T., Seyhan, M. F., & Can, A. (2012b). Evaluation of ERalpha and VDR gene polymorphisms in relation to bone mineral density in Turkish postmenopausal women. *Molecular biology reports*. doi: 10.1007/s11033-012-1496-0
- Laaksonen, M., Karkkainen, M., Outila, T., Vanninen, T., Ray, C., & Lamberg-Allardt, C. (2002). Vitamin D receptor gene BsmI-polymorphism in Finnish premenopausal and postmenopausal women: its association with bone mineral density, markers of bone turnover, and intestinal calcium

- absorption, with adjustment for lifestyle factors. *Journal of bone and mineral metabolism*, 20(6), 383-390. doi: 10.1007/s007740200055
- Ladinsky, G. A., & Wehrli, F. W. (2006). Noninvasive assessment of bone microarchitecture by MRI. [Review]. *Current osteoporosis reports*, 4(4), 140-147.
- Lakatos, P. L., Bajnok, E., Tornai, I., Folhoffer, A., Horvath, A., Lakatos, P., . . . Szalay, F. (2004). Insulin-like growth factor I gene microsatellite repeat, collagen type Ialpha1 gene Sp1 polymorphism, and bone disease in primary biliary cirrhosis. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 16(8), 753-759.
- Lander, E. S., Linton, L. M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, M. C., Baldwin, J., . . . Chen, Y. J. (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Nature*, 409(6822), 860-921. doi: 10.1038/35057062
- Langdahl, B. L., Carstens, M., Stenkjaer, L., & Eriksen, E. F. (2002). Polymorphisms in the osteoprotegerin gene are associated with osteoporotic fractures. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 17(7), 1245-1255. doi: 10.1359/jbmr.2002.17.7.1245
- Langdahl, B. L., Gravholt, C. H., Brixen, K., & Eriksen, E. F. (2000). Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and bone mass, bone turnover and osteoporotic fractures. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *European Journal of Clinical Investigation*, 30(7), 608-617.
- Langdahl, B. L., Knudsen, J. Y., Jensen, H. K., Gregersen, N., & Eriksen, E. F. (1997). A sequence variation: 713-8delC in the transforming growth factor-beta 1 gene has higher prevalence in osteoporotic women than in normal women and is associated with very low bone mass in osteoporotic women and increased bone turnover in both osteoporotic and normal women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Bone*, 20(3), 289-294.
- Lanyon, L. E. (1993). Osteocytes, strain detection, bone modeling and remodeling. [Review]. *Calcified tissue international*, 53 Suppl 1, S102-106; discussion S106-107.
- Lau, E. M., Lynn, H., Chan, Y. H., Lau, W., & Woo, J. (2004). Benefits of milk powder supplementation on bone accretion in Chinese children. [Clinical Trial]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 15(8), 654-658. doi: 10.1007/s00198-004-1593-6
- Lau, E. M., Lynn, H., Chan, Y. H., & Woo, J. (2002). Milk supplementation prevents bone loss in postmenopausal Chinese women over 3 years. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Bone*, 31(4), 536-540.

- Law, M. R., Cheng, R., Hackshaw, A. K., Allaway, S., & Hale, A. K. (1997). Cigarette smoking, sex hormones and bone density in women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *European journal of epidemiology*, 13(5), 553-558.
- Levy, S., Sutton, G., Ng, P. C., Feuk, L., Halpern, A. L., Walenz, B. P., . . . Venter, J. C. (2007). The diploid genome sequence of an individual human. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *PLoS biology*, 5(10), e254. doi: 10.1371/journal.pbio.0050254
- Lewiecki, E. M., Kendler, D. L., Kiebzak, G. M., Schmeer, P., Prince, R. L., El-Hajj Fuleihan, G., & Hans, D. (2004). Special report on the official positions of the International Society for Clinical Densitometry. [Consensus Development Conference]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 15(10), 779-784. doi: 10.1007/s00198-004-1677-3
- Li, W. F., Hou, S. X., Yu, B., Li, M. M., Ferec, C., & Chen, J. M. (2010). Genetics of osteoporosis: accelerating pace in gene identification and validation. [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. *Human genetics*, 127(3), 249-285. doi: 10.1007/s00439-009-0773-z
- Li, Y., Xi, B., Li, K., & Wang, C. (2011). Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density in Chinese women. *Molecular Biology Reports*. doi: 10.1007/s11033-011-1380-3
- Li, Y. C., Kong, J., Wei, M., Chen, Z. F., Liu, S. Q., & Cao, L. P. (2002). 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *The Journal of clinical investigation*, 110(2), 229-238. doi: 10.1172/JCI15219
- Lieberherr, M., Grosse, B., Duchambon, P., & Drueke, T. (1989). A functional cell surface type receptor is required for the early action of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on the phosphoinositide metabolism in rat enterocytes. *The Journal of biological chemistry*, 264(34), 20403-20406.
- Lind, M., Deleuran, B., Thestrup-Pedersen, K., Soballe, K., Eriksen, E. F., & Bunger, C. (1995). Chemotaxis of human osteoblasts. Effects of osteotropic growth factors. [Comparative Study]. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*, 103(2), 140-146.
- Lisker, R., Lopez, M. A., Jasqui, S., Ponce De Leon Rosales, S., Correa-Rotter, R., Sanchez, S., & Mutchinick, O. M. (2003). Association of vitamin D receptor polymorphisms with osteoporosis in mexican postmenopausal women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Human Biology*, 75(3), 399-403.
- Liu, P. Y., Lu, Y., Long, J. R., Xu, F. H., Shen, H., Recker, R. R., & Deng, H. W. (2004). Common variants at the PCOL2 and Sp1 binding sites of the COL1A1 gene and their interactive effect influence bone mineral density in Caucasians. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of medical genetics*, 41(10), 752-757. doi: 10.1136/jmg.2004.019851

- Looker, A. C., Orwoll, E. S., Johnston, C. C., Jr., Lindsay, R. L., Wahner, H. W., Dunn, W. L., . . . Heyse, S. P. (1997). Prevalence of low femoral bone density in older U.S. adults from NHANES III. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 12(11), 1761-1768. doi: 10.1359/jbmr.1997.12.11.1761
- Looney, J. E., Yoon, H. K., Fischer, M., Farley, S. M., Farley, J. R., Wergedal, J. E., & Baylink, D. J. (1995). Lack of a high prevalence of the BB vitamin D receptor genotype in severely osteoporotic women. [Comparative Study]. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 80(7), 2158-2162.
- Lopez-Caudana, A. E., Tellez-Rojo Solis, M. M., Hernandez-Avila, M., Clark, P., Juarez-Marquez, S. A., Lazcano-Ponce, E. C., & Salmeron-Castro, J. (2004). Predictors of bone mineral density in female workers in Morelos State, Mexico. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Archives of medical research*, 35(2), 172-180. doi: 10.1016/j.arcmed.2003.12.001
- Lucas, P. A., Roulet, C., Duchambon, P., Lacour, B., & Drueke, T. (1989). Rapid stimulation of calcium uptake by isolated rat enterocytes by 1,25(OH)2D3. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Pflugers Archiv : European journal of physiology*, 413(4), 407-413.
- Lundin, A. C., Soderkvist, P., Eriksson, B., Bergman-Jungstrom, M., & Wingren, S. (1999). Association of breast cancer progression with a vitamin D receptor gene polymorphism. South-East Sweden Breast Cancer Group. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Cancer research*, 59(10), 2332-2334.
- Ma, J., Stampfer, M. J., Gann, P. H., Hough, H. L., Giovannucci, E., Kelsey, K. T., . . . Hunter, D. J. (1998). Vitamin D receptor polymorphisms, circulating vitamin D metabolites, and risk of prostate cancer in United States physicians. [Clinical Trial]. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 7(5), 385-390.
- Macdonald, H. M., McGuigan, F. E., Stewart, A., Black, A. J., Fraser, W. D., Ralston, S., & Reid, D. M. (2006). Large-scale population-based study shows no evidence of association between common polymorphism of the VDR gene and BMD in British women. [Comparative Study]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 21(1), 151-162. doi: 10.1359/JBMR.050906
- MacKelvie, K. J., Khan, K. M., Petit, M. A., Janssen, P. A., & McKay, H. A. (2003). A school-based exercise intervention elicits substantial bone health benefits: a 2-year randomized controlled trial in girls. [Clinical Trial]. *Pediatrics*, 112(6 Pt 1), e447.
- Mackie, E. J. (2003). Osteoblasts: novel roles in orchestration of skeletal architecture. [Review]. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 35(9), 1301-1305.
- Malecki, M. T., Frey, J., Moczulski, D., Klupa, T., Kozek, E., & Sieradzki, J. (2003). Vitamin D receptor gene polymorphisms and association with type 2

- diabetes mellitus in a Polish population. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*, 111(8), 505-509. doi: 10.1055/s-2003-44711
- Mandalunis, P. (2006). Remodelación ósea. *Actualiz Osteol*, 2(1), 16-18.
- Mangus, D. A., Evans, M. C., & Jacobson, A. (2003). Poly(A)-binding proteins: multifunctional scaffolds for the post-transcriptional control of gene expression. [Review]. *Genome biology*, 4(7), 223. doi: 10.1186/gb-2003-4-7-223
- Manolagas, S. C., & Jilka, R. L. (1995). Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. [Review]. *The New England journal of medicine*, 332(5), 305-311. doi: 10.1056/NEJM199502023320506
- Manolagas, S. C., Kousteni, S., & Jilka, R. L. (2002). Sex steroids and bone. [Review]. *Recent progress in hormone research*, 57, 385-409.
- Marc, J., Prezelj, J., Komel, R., & Kocijancic, A. (2000). Association of vitamin D receptor gene polymorphism with bone mineral density in Slovenian postmenopausal women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 14(1), 60-64.
- Marie, P. J. (2002). Role of N-cadherin in bone formation. [Review]. *Journal of cellular physiology*, 190(3), 297-305. doi: 10.1002/jcp.10073
- Marín, F., González-Macías, J., Moya, R., Onrubia, C., Cancelo, C., & Álvarez, S. (2006). Incidencia de fractura no vertebral por fragilidad en una cohorte de 5.201 mujeres de 65 años o más durante 3 años de seguimiento. *Medicina Clinica*(127), 401-404.
- Marshall, D., Johnell, O., & Wedel, H. (1996). Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. [Meta-Analysis]. *BMJ*, 312(7041), 1254-1259.
- Martinez, M. E., & Willett, W. C. (1998). Calcium, vitamin D, and colorectal cancer: a review of the epidemiologic evidence. [Review]. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 7(2), 163-168.
- Masi, L., & Brandi, M. L. (2001). Physiopathological basis of bone turnover. [Review]. *The quarterly journal of nuclear medicine : official publication of the Italian Association of Nuclear Medicine*, 45(1), 2-6.
- Mathieu, C., & Badenhoop, K. (2005). Vitamin D and type 1 diabetes mellitus: state of the art. [Review]. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 16(6), 261-266. doi: 10.1016/j.tem.2005.06.004
- Mathieu, C., Gysemans, C., Giulietti, A., & Bouillon, R. (2005). Vitamin D and diabetes. [Review]. *Diabetologia*, 48(7), 1247-1257. doi: 10.1007/s00125-005-1802-7

- Mathieu, C., van Etten, E., Decallonne, B., Guilietti, A., Gysemans, C., Bouillon, R., & Overbergh, L. (2004). Vitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ as modulators in the immune system. [Review]. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 89-90(1-5), 449-452. doi: 10.1016/j.jsbmb.2004.03.014
- Matkovic, V. (1991). Calcium metabolism and calcium requirements during skeletal modeling and consolidation of bone mass. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *The American journal of clinical nutrition*, 54(1 Suppl), 245S-260S.
- Matkovic, V., Fontana, D., Tominac, C., Goel, P., & Chesnut, C. H., 3rd. (1990). Factors that influence peak bone mass formation: a study of calcium balance and the inheritance of bone mass in adolescent females. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The American journal of clinical nutrition*, 52(5), 878-888.
- McDermott, M. F., Ramachandran, A., Ogunkolade, B. W., Aganna, E., Curtis, D., Boucher, B. J., . . . Hitman, G. A. (1997). Allelic variation in the vitamin D receptor influences susceptibility to IDDM in Indian Asians. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Diabetologia*, 40(8), 971-975. doi: 10.1007/s001250050776
- Melhus, H., Kindmark, A., Amer, S., Wilen, B., Lindh, E., & Ljunghall, S. (1994). Vitamin D receptor genotypes in osteoporosis. [Letter]. *Lancet*, 344(8927), 949-950.
- Melnyk, B. M., & Fineout-Overholt, E. (2005). *Evidence-based practice in nursing and healthcare a guide to best practice*. Philadelphia, [etc.]: Lippincott Williams & Wilkins.
- Melton, L. J., 3rd. (1995). How many women have osteoporosis now? [Review]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 10(2), 175-177. doi: 10.1002/jbmr.5650100202
- Melton, L. J., 3rd. (1997). Epidemiology of spinal osteoporosis. [Review]. *Spine*, 22(24 Suppl), 2S-11S.
- Melton, L. J., 3rd. (2000). Who has osteoporosis? A conflict between clinical and public health perspectives. [Review]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 15(12), 2309-2314. doi: 10.1359/jbmr.2000.15.12.2309
- Mencej-Bedrac, S., Prezelj, J., Kocjan, T., Teskac, K., Ostanek, B., Smelcer, M., & Marc, J. (2009). The combinations of polymorphisms in vitamin D receptor, osteoprotegerin and tumour necrosis factor superfamily member 11 genes are associated with bone mineral density. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of molecular endocrinology*, 42(3), 239-247. doi: 10.1677/JME-08-0108
- Messa, P., Sindici, C., Cannella, G., Miotti, V., Risaliti, A., Gropuzzo, M., . . . Mioni, G. (1998). Persistent secondary hyperparathyroidism after renal transplantation. *Kidney international*, 54(5), 1704-1713. doi: 10.1046/j.1523-1755.1998.00142.x

- Miller, P. D., & McClung, M. (1996). Prediction of fracture risk. I: Bone density. [Review]. *The American journal of the medical sciences*, 312(6), 257-259.
- Miller, P. D., Siris, E. S., Barrett-Connor, E., Faulkner, K. G., Wehren, L. E., Abbott, T. A., . . . Sherwood, L. M. (2002). Prediction of fracture risk in postmenopausal white women with peripheral bone densitometry: evidence from the National Osteoporosis Risk Assessment. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 17(12), 2222-2230. doi: 10.1359/jbmr.2002.17.12.2222
- Mitra, S., Desai, M., & Ikram Khatkhatay, M. (2006). Vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density in postmenopausal Indian women. *Maturitas*, 55(1), 27-35. doi: 10.1016/j.maturitas.2006.01.003
- Miyamoto, K., Kesterson, R. A., Yamamoto, H., Taketani, Y., Nishiwaki, E., Tatsumi, S., . . . Pike, J. W. (1997). Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Molecular endocrinology*, 11(8), 1165-1179.
- Miyao, M., Hosoi, T., Inoue, S., Hoshino, S., Shiraki, M., Orimo, H., & Ouchi, Y. (1998). Polymorphism of insulin-like growth factor I gene and bone mineral density. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Calcified tissue international*, 63(4), 306-311.
- Mocellin, S., & Nitti, D. (2008). Vitamin D receptor polymorphisms and the risk of cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis. [Meta-Analysis]. *Cancer*, 113(9), 2398-2407. doi: 10.1002/cncr.23867
- Monkawa, T., Yoshida, T., Hayashi, M., & Saruta, T. (2000). Identification of 25-hydroxyvitamin D3 1alpha-hydroxylase gene expression in macrophages. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Kidney international*, 58(2), 559-568. doi: 10.1046/j.1523-1755.2000.00202.x
- Montalbán, J., Rico, H., Cortés, J., & Pedrera, J. D. (2001). Masa ósea cortical y factores de riesgo para osteoporosis en mujeres postmenopáusicas en nuestro medio. *Revista clinica espanola*(201), 16-20.
- Mora, S., & Gilsanz, V. (2003). Establishment of peak bone mass. [Review]. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 32(1), 39-63.
- Moreiras, O. (2009). *Tablas de composición de alimentos*: Editorial Pirámide.
- Morey, E. R., & Baylink, D. J. (1978). Inhibition of bone formation during space flight. [Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S.]. *Science*, 201(4361), 1138-1141.
- Morgan, J. W., Morgan, D. M., Lasky, S. R., Ford, D., Kouttab, N., & Maizel, A. L. (1996). Requirements for induction of vitamin D-mediated gene regulation in normal human B lymphocytes. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Journal of immunology*, 157(7), 2900-2908.
- Morrison, N. A., Qi, J. C., Tokita, A., Kelly, P. J., Crofts, L., Nguyen, T. V., . . . Eisman, J. A. (1994). Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles.

- [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Nature*, 367(6460), 284-287. doi: 10.1038/367284a0
- Morrison, N. A., Yeoman, R., Kelly, P. J., & Eisman, J. A. (1992). Contribution of trans-acting factor alleles to normal physiological variability: vitamin D receptor gene polymorphism and circulating osteocalcin. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(15), 6665-6669.
- Mosekilde, L., Eriksen, E. F., & Charles, P. (1990). Effects of thyroid hormones on bone and mineral metabolism. [Review]. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 19(1), 35-63.
- Mossetti, G., Vuotto, P., Rendina, D., Numis, F. G., Viceconti, R., Giordano, F., . . . Nunziata, V. (2003). Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and tubular citrate handling in calcium nephrolithiasis. *Journal of internal medicine*, 253(2), 194-200.
- Motohashi, Y., Yamada, S., Yanagawa, T., Maruyama, T., Suzuki, R., Niino, M., . . . Saruta, T. (2003). Vitamin D receptor gene polymorphism affects onset pattern of type 1 diabetes. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 88(7), 3137-3140.
- Mundy, G. R. (1993). Cytokines and growth factors in the regulation of bone remodeling. [Review]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 8 Suppl 2, S505-510. doi: 10.1002/jbmr.5650081315
- Mundy, G. R., Chen, D., & Oyajobi, O. (2003). Bone remodeling. In M. J. Favus (Ed.), *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism* (pp. 46-58). Washington D.C.: American Society for Bone and Mineral Research.
- Munoz-Torres, M., de la Higuera Lopez-Frias, M., & Fernandez Garcia, D. (2004). [Advances in osteoclast biology: the osteoprotegerin-RANK ligand system]. [Review]. *Medicina Clinica*, 122(2), 75-77.
- Naves, M., Díaz-López, J. B., Gómez Alonso, C., Altadill Arregui, A., Rodríguez Rebollar, A., & Cannata Andía, J. (2000). Estudio de incidencia de fracturas osteoporóticas en una cohorte mayor de 50 durante un periodo de 6 años de seguimiento. *Medicina Clinica*, 650-653.
- Nejentsev, S., Godfrey, L., Snook, H., Rance, H., Nutland, S., Walker, N. M., . . . Todd, J. A. (2004). Comparative high-resolution analysis of linkage disequilibrium and tag single nucleotide polymorphisms between populations in the vitamin D receptor gene. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Human Molecular Genetics*, 13(15), 1633-1639. doi: 10.1093/hmg/ddh169
- Nemere, I., Yoshimoto, Y., & Norman, A. W. (1984). Calcium transport in perfused duodena from normal chicks: enhancement within fourteen minutes of exposure to 1,25-dihydroxyvitamin D3. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Endocrinology*, 115(4), 1476-1483.

- Newcomb, P. A., Kim, H., Trentham-Dietz, A., Farin, F., Hunter, D., & Egan, K. M. (2002). Vitamin D receptor polymorphism and breast cancer risk. [Comparative Study]. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 11(11), 1503-1504.
- Nguyen, T. V., Kelly, P. J., Sambrook, P. N., Gilbert, C., Pocock, N. A., & Eisman, J. A. (1994). Lifestyle factors and bone density in the elderly: implications for osteoporosis prevention. [Clinical Trial]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 9(9), 1339-1346. doi: 10.1002/jbmr.5650090904
- NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy, March 7-29, 2000: highlights of the conference. (2001). [Review]. *Southern medical journal*, 94(6), 569-573.
- Niino, M., Fukazawa, T., Yabe, I., Kikuchi, S., Sasaki, H., & Tashiro, K. (2000). Vitamin D receptor gene polymorphism in multiple sclerosis and the association with HLA class II alleles. *Journal of the neurological sciences*, 177(1), 65-71.
- Nishijima, S., Sugaya, K., Naito, A., Morozumi, M., Hatano, T., & Ogawa, Y. (2002). Association of vitamin D receptor gene polymorphism with urolithiasis. *The Journal of urology*, 167(5), 2188-2191.
- Ntais, C., Polycarpou, A., & Ioannidis, J. P. (2003). Vitamin D receptor gene polymorphisms and risk of prostate cancer: a meta-analysis. [Meta-Analysis]. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 12(12), 1395-1402.
- Nykjaer, A., Dragun, D., Walther, D., Vorum, H., Jacobsen, C., Herz, J., . . . Willnow, T. E. (1999). An endocytic pathway essential for renal uptake and activation of the steroid 25-(OH) vitamin D3. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Cell*, 96(4), 507-515.
- Okano, T. (2005). [Vitamin D, K and bone mineral density]. [Review]. *Clinical calcium*, 15(9), 1489-1494. doi: CliCa14891500
- Oncken, C., Prestwood, K., Cooney, J. L., Unson, C., Fall, P., Kulldorff, M., & Raisz, L. G. (2002). Effects of smoking cessation or reduction on hormone profiles and bone turnover in postmenopausal women. [Clinical Trial]. *Nicotine & tobacco research : official journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco*, 4(4), 451-458. doi: 10.1080/1462220021000018399
- Ortlepp, J. R., Hoffmann, R., Ohme, F., Lauscher, J., Bleckmann, F., & Hanrath, P. (2001). The vitamin D receptor genotype predisposes to the development of calcific aortic valve stenosis. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Heart*, 85(6), 635-638.
- Ortlepp, J. R., Krantz, C., Kimmel, M., von Korff, A., Vesper, K., Schmitz, F., . . . Hoffmann, R. (2005). Additive effects of the chemokine receptor 2, vitamin D receptor, interleukin-6 polymorphisms and cardiovascular risk factors on the prevalence of myocardial infarction in patients below 65 years.

- [Comparative Study]. *International journal of cardiology*, 105(1), 90-95. doi: 10.1016/j.ijcard.2005.03.004
- Ortlepp, J. R., Lauscher, J., Hoffmann, R., Hanrath, P., & Joost, H. G. (2001). The vitamin D receptor gene variant is associated with the prevalence of type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*, 18(10), 842-845.
- Ortlepp, J. R., von Korff, A., Hanrath, P., Zerres, K., & Hoffmann, R. (2003). Vitamin D receptor gene polymorphism BsmI is not associated with the prevalence and severity of CAD in a large-scale angiographic cohort of 3441 patients. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *European Journal of Clinical Investigation*, 33(2), 106-109.
- Ozaki, Y., Nomura, S., Nagahama, M., Yoshimura, C., Kagawa, H., & Fukuhara, S. (2000). Vitamin-D receptor genotype and renal disorder in Japanese patients with systemic lupus erythematosus. *Nephron*, 85(1), 86-91. doi: 45635
- Ozkaya, O., Soylemezoglu, O., Misirlioglu, M., Gonen, S., Buyan, N., & Hasanoglu, E. (2003). Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and the risk of calcium nephrolithiasis in children. [Comparative Study]. *European urology*, 44(1), 150-154.
- Pacifici, R. (1998). Cytokines, estrogen, and postmenopausal osteoporosis--the second decade. [Editorial]. *Endocrinology*, 139(6), 2659-2661.
- Palacios, C. (2006). The role of nutrients in bone health, from A to Z. [Review]. *Critical reviews in food science and nutrition*, 46(8), 621-628. doi: 10.1080/10408390500466174
- Palomba, S., Orio, F., Jr., Russo, T., Falbo, A., Tolino, A., Manguso, F., . . . Zullo, F. (2005). BsmI vitamin D receptor genotypes influence the efficacy of antiresorptive treatments in postmenopausal osteoporotic women. A 1-year multicenter, randomized and controlled trial. [Multicenter Study, Randomized Controlled Trial, Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 16(8), 943-952. doi: 10.1007/s00198-004-1800-5
- Parfitt, A. M. (2000). The mechanism of coupling: a role for the vasculature. [Review]. *Bone*, 26(4), 319-323. doi: 10.1016/S8756-3282(00)80937-0
- Parfitt, A. M., Mundy, G. R., Roodman, G. D., Hughes, D. E., & Boyce, B. F. (1996). A new model for the regulation of bone resorption, with particular reference to the effects of bisphosphonates. [Review]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 11(2), 150-159. doi: 10.1002/jbmr.5650110203
- Partridge, J. M., Weatherby, S. J., Woolmore, J. A., Highland, D. J., Fryer, A. A., Mann, C. L., . . . Hawkins, C. P. (2004). Susceptibility and outcome in MS:

- associations with polymorphisms in pigmentation-related genes. *Neurology*, 62(12), 2323-2325.
- Patel, S. R., Ke, H. Q., & Hsu, C. H. (1994). Regulation of calcitriol receptor and its mRNA in normal and renal failure rats. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Kidney international*, 45(4), 1020-1027.
- Patterson, M., & Cardon, L. (2005). Replication Publication. *PLoS biology*, 3(9), e327. doi: 10.1371/journal.pbio.0030327
- Peacock, M., Turner, C. H., Econs, M. J., & Foroud, T. (2002). Genetics of osteoporosis. [Review]. *Endocrine reviews*, 23(3), 303-326.
- Pedrera-Zamorano, J. D., Lavado-Garcia, J. M., Roncero-Martin, R., Calderon-Garcia, J. F., Rodriguez-Dominguez, T., & Canal-Macias, M. L. (2009). Effect of beer drinking on ultrasound bone mass in women. *Nutrition*, 25(10), 1057-1063. doi: 10.1016/j.nut.2009.02.007
- Pedrera, J. D., Canal, M. L., Postigo, S., Lavado, J., Hernandez, E. R., & Rico, H. (2001). Phalangeal bone ultrasound and its possible correlation with nutrient in an area of high protein intake. *Annals of nutrition & metabolism*, 45(2), 86-90. doi: 46712
- Peters, U., McGlynn, K. A., Chatterjee, N., Gunter, E., Garcia-Closas, M., Rothman, N., & Sinha, R. (2001). Vitamin D, calcium, and vitamin D receptor polymorphism in colorectal adenomas. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 10(12), 1267-1274.
- Pierce, A. M., Lindskog, S., & Hammarstrom, L. (1991). Osteoclasts: structure and function. [Review]. *Electron microscopy reviews*, 4(1), 1-45.
- Pike, J. W. (1982). Receptors for 1,25-dihydroxyvitamin D3 in chick pancreas: a partial physical and functional characterization. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Journal of steroid biochemistry*, 16(3), 385-395.
- Plotkin, L. I., Manolagas, S. C., & Bellido, T. (2002). Transduction of cell survival signals by connexin-43 hemichannels. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *The Journal of biological chemistry*, 277(10), 8648-8657. doi: 10.1074/jbc.M108625200
- Pocock, N. A., Eisman, J. A., Hopper, J. L., Yeates, M. G., Sambrook, P. N., & Eberl, S. (1987). Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The Journal of clinical investigation*, 80(3), 706-710. doi: 10.1172/JCI113125
- Prieto, S. (1999). Control de metabolismo del calcio, fósforo y magnesio. In I. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil (Ed.), *Fisiología Humana* (pp. 979-993). Madrid: McGraw-Hill-Interamericana.
- Prince, R. L. (1994). Counterpoint: estrogen effects on calcitropic hormones and calcium homeostasis. [Review]. *Endocrine reviews*, 15(3), 301-309.
- Qin, G., Dong, Z., Zeng, P., Liu, M., & Liao, X. (2012). Association of vitamin D receptor BsmI gene polymorphism with risk of osteoporosis: a meta-

- analysis of 41 studies. *Molecular biology reports*. doi: 10.1007/s11033-012-2086-x
- Radak, T. L. (2004). Caloric restriction and calcium's effect on bone metabolism and body composition in overweight and obese premenopausal women. [Review]. *Nutrition reviews*, 62(12), 468-481.
- Raisz, L. G. (1993). Bone cell biology: new approaches and unanswered questions. [Review]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 8 Suppl 2, S457-465. doi: 10.1002/jbmr.5650081306
- Raisz, L. G. (2005). Clinical practice. Screening for osteoporosis. [Review]. *The New England journal of medicine*, 353(2), 164-171. doi: 10.1056/NEJMcp042092
- Raisz, L. G., & Rodan, G. A. (2003). Pathogenesis of osteoporosis. [Review]. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 32(1), 15-24.
- Ralston, S. H. (2002). Genetic control of susceptibility to osteoporosis. [Review]. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 87(6), 2460-2466.
- Ralston, S. H. (2003). Genetic determinants of susceptibility to osteoporosis. [Review]. *Current opinion in pharmacology*, 3(3), 286-290.
- Ralston, S. H., & de Crombrughe, B. (2006). Genetic regulation of bone mass and susceptibility to osteoporosis. [Review]. *Genes & development*, 20(18), 2492-2506. doi: 10.1101/gad.1449506
- Ralston, S. H., Uitterlinden, A. G., Brandi, M. L., Balcells, S., Langdahl, B. L., Lips, P., . . . Ioannidis, J. P. (2006). Large-scale evidence for the effect of the COL1A1 Sp1 polymorphism on osteoporosis outcomes: the GENOMOS study. [Multicenter Study]. *PLoS medicine*, 3(4), e90. doi: 10.1371/journal.pmed.0030090
- Rapado, A. (2001). Epidemiology of osteoporosis in Spain. *Bone*, 29(3), 299.
- Recker, R. R. (2002). Osteoporosis in women. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions*, 2(3), 194.
- Recker, R. R., Davies, K. M., Hinders, S. M., Heaney, R. P., Stegman, M. R., & Kimmel, D. B. (1992). Bone gain in young adult women. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *JAMA : the journal of the American Medical Association*, 268(17), 2403-2408.
- Reich, D. E., Cargill, M., Bolk, S., Ireland, J., Sabeti, P. C., Richter, D. J., . . . Lander, E. S. (2001). Linkage disequilibrium in the human genome. [Comparative Study]. *Nature*, 411(6834), 199-204. doi: 10.1038/35075590
- Reichel, H., Koeffler, H. P., & Norman, A. W. (1989). The role of the vitamin D endocrine system in health and disease. [Review]. *The New England journal of medicine*, 320(15), 980-991. doi: 10.1056/NEJM198904133201506
- Reis, A. F., Hauache, O. M., & Velho, G. (2005). Vitamin D endocrine system and the genetic susceptibility to diabetes, obesity and vascular disease. A review of evidence. [Review]. *Diabetes & metabolism*, 31(4 Pt 1), 318-325.
- Rengarajan, J., Szabo, S. J., & Glimcher, L. H. (2000). Transcriptional regulation of Th1/Th2 polarization. [Review]. *Immunology today*, 21(10), 479-483.

- Riancho, J. A., Zarrabeitia, M. T., Amado, J. A., Olmos, J. M., & Gonzalez-Macias, J. (1994). Age-related differences in cytokine secretion. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Gerontology*, *40*(1), 8-12.
- Rico, H., Canal, M. L., Manas, P., Lavado, J. M., Costa, C., & Pedrera, J. D. (2002). Effects of caffeine, vitamin D, and other nutrients on quantitative phalangeal bone ultrasound in postmenopausal women. *Nutrition*, *18*(2), 189-193.
- Rico, H., Revilla, M., Hernandez, E. R., Villa, L. F., & Alvarez del Buergo, M. (1992). Sex differences in the acquisition of total bone mineral mass peak assessed through dual-energy X-ray absorptiometry. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Calcified tissue international*, *51*(4), 251-254.
- Riggs, B. L., Khosla, S., & Melton, L. J., 3rd. (1998). A unitary model for involutional osteoporosis: estrogen deficiency causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men. [Review]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, *13*(5), 763-773. doi: 10.1359/jbmr.1998.13.5.763
- Riggs, B. L., Khosla, S., & Melton, L. J., 3rd. (2002). Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. [Review]. *Endocrine reviews*, *23*(3), 279-302.
- Riggs, B. L., Nguyen, T. V., Melton, L. J., 3rd, Morrison, N. A., O'Fallon, W. M., Kelly, P. J., . . . Eisman, J. A. (1995). The contribution of vitamin D receptor gene alleles to the determination of bone mineral density in normal and osteoporotic women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, *10*(6), 991-996. doi: 10.1002/jbmr.5650100622
- Riggs, B. L., Wahner, H. W., Dunn, W. L., Mazess, R. B., Offord, K. P., & Melton, L. J., 3rd. (1981). Differential changes in bone mineral density of the appendicular and axial skeleton with aging: relationship to spinal osteoporosis. [Comparative Study]. *The Journal of clinical investigation*, *67*(2), 328-335. doi: 10.1172/JCI110039
- Rivadeneira, F., Houwing-Duistermaat, J. J., Vaessen, N., Vergeer-Drop, J. M., Hofman, A., Pols, H. A., . . . Uitterlinden, A. G. (2003). Association between an insulin-like growth factor I gene promoter polymorphism and bone mineral density in the elderly: the Rotterdam Study. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, *88*(8), 3878-3884.
- Rochel, N., Wurtz, J. M., Mitschler, A., Klaholz, B., & Moras, D. (2000). The crystal structure of the nuclear receptor for vitamin D bound to its natural ligand. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Molecular cell*, *5*(1), 173-179.
- Rodriguez-Rodriguez, E., Navia Lomban, B., Lopez-Sobaler, A. M., & Ortega Anta, R. M. (2010). Review and future perspectives on recommended calcium

- intake. [Review]. *Nutricion hospitalaria : organo oficial de la Sociedad Espanola de Nutricion Parenteral y Enteral*, 25(3), 366-374.
- Rodriguez, S., Gaunt, T. R., & Day, I. N. (2009). Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *American Journal of Epidemiology*, 169(4), 505-514. doi: 10.1093/aje/kwn359
- Rosen, C. J., Hochberg, M. C., Bonnicksen, S. L., McClung, M., Miller, P., Broy, S., . . . de Papp, A. E. (2005). Treatment with once-weekly alendronate 70 mg compared with once-weekly risedronate 35 mg in women with postmenopausal osteoporosis: a randomized double-blind study. [Clinical Trial]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 20(1), 141-151. doi: 10.1359/JBMR.040920
- Rosen, C. J., Kurland, E. S., Vereault, D., Adler, R. A., Rackoff, P. J., Craig, W. Y., . . . Bilezikian, J. P. (1998). Association between serum insulin growth factor-I (IGF-I) and a simple sequence repeat in IGF-I gene: implications for genetic studies of bone mineral density. [Clinical Trial]. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 83(7), 2286-2290.
- Rotstein, A., Harush, M., & Vaisman, N. (2008). The effect of a water exercise program on bone density of postmenopausal women. *The Journal of sports medicine and physical fitness*, 48(3), 352-359.
- Ruggiero, M., Pacini, S., Amato, M., Aterini, S., & Chiarugi, V. (1999). Association between vitamin D receptor gene polymorphism and nephrolithiasis. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Mineral and electrolyte metabolism*, 25(3), 185-190. doi: 57443
- Ruggiero, M., Pacini, S., Aterini, S., Fallai, C., Ruggiero, C., & Pacini, P. (1998). Vitamin D receptor gene polymorphism is associated with metastatic breast cancer. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Oncology research*, 10(1), 43-46.
- Russell, J., Bar, A., Sherwood, L. M., & Hurwitz, S. (1993). Interaction between calcium and 1,25-dihydroxyvitamin D3 in the regulation of preproparathyroid hormone and vitamin D receptor messenger ribonucleic acid in avian parathyroids. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Endocrinology*, 132(6), 2639-2644.
- Sachidanandam, R., Weissman, D., Schmidt, S. C., Kakol, J. M., Stein, L. D., Marth, G., . . . Altshuler, D. (2001). A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Nature*, 409(6822), 928-933. doi: 10.1038/35057149
- Saijo, T., Ito, M., Takeda, E., Huq, A. H., Naito, E., Yokota, I., . . . Kuroda, Y. (1991). A unique mutation in the vitamin D receptor gene in three Japanese patients with vitamin D-dependent rickets type II: utility of single-strand conformation polymorphism analysis for heterozygous carrier detection.

- [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *American Journal of Human Genetics*, 49(3), 668-673.
- Salamone, L. M., Ferrell, R., Black, D. M., Palermo, L., Epstein, R. S., Petro, N., . . . Cauley, J. A. (1996). The association between vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density at the spine, hip and whole-body in premenopausal women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 6(1), 63-68.
- Sambrook, P., & Cooper, C. (2006). Osteoporosis. [Review]. *Lancet*, 367(9527), 2010-2018. doi: 10.1016/S0140-6736(06)68891-0
- Sanders, K. M., Stuart, A. L., Williamson, E. J., Simpson, J. A., Kotowicz, M. A., Young, D., & Nicholson, G. C. (2010). Annual high-dose oral vitamin D and falls and fractures in older women: a randomized controlled trial. [Randomized Controlled Trial]. *JAMA : the journal of the American Medical Association*, 303(18), 1815-1822. doi: 10.1001/jama.2010.594
- Sandgren, M. E., Bronnegard, M., & DeLuca, H. F. (1991). Tissue distribution of the 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor in the male rat. [Comparative Study]. *Biochemical and biophysical research communications*, 181(2), 611-616.
- Scheidt-Nave, C., Bismar, H., Leidig-Bruckner, G., Woitge, H., Seibel, M. J., Ziegler, R., & Pfeilschifter, J. (2001). Serum interleukin 6 is a major predictor of bone loss in women specific to the first decade past menopause. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 86(5), 2032-2042.
- Schiller, C., Gruber, R., Ho, G. M., Redlich, K., Gober, H. J., Katzgraber, F., . . . Peterlik, M. (1998). Interaction of triiodothyronine with 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 on interleukin-6-dependent osteoclast-like cell formation in mouse bone marrow cell cultures. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Bone*, 22(4), 341-346.
- Schondorf, T., Eisberg, C., Wassmer, G., Warm, M., Becker, M., Rein, D. T., & Gohring, U. J. (2003). Association of the vitamin D receptor genotype with bone metastases in breast cancer patients. [Comparative Study]. *Oncology*, 64(2), 154-159. doi: 67767
- Seeman, E. (2003). Periosteal bone formation--a neglected determinant of bone strength. [Comment]. *The New England journal of medicine*, 349(4), 320-323. doi: 10.1056/NEJMp038101
- Seeman, E., Hopper, J. L., Bach, L. A., Cooper, M. E., Parkinson, E., McKay, J., & Jerums, G. (1989). Reduced bone mass in daughters of women with osteoporosis. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The New England journal of medicine*, 320(9), 554-558. doi: 10.1056/NEJM198903023200903
- Selvaraj, P., Narayanan, P. R., & Reetha, A. M. (2000). Association of vitamin D receptor genotypes with the susceptibility to pulmonary tuberculosis in

- female patients & resistance in female contacts. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The Indian journal of medical research*, 111, 172-179.
- Seremak-Mrozikiewicz, A., Drews, K., Mrozikiewicz, P. M., Bartkowiak-Wieczorek, J., Marcinkowska, M., Wawrzyniak, A., . . . Horst-Sikorska, W. (2009). Correlation of vitamin D receptor gene (VDR) polymorphism with osteoporotic changes in Polish postmenopausal women. *Neuro endocrinology letters*, 30(4), 540-546.
- Serrano, S., & Mariñoso, M. L. (1990). Bases histológicas de la histomorfometría ósea. In S. Serrano, J. Aubia & M. L. Mariñoso (Eds.), *Patología ósea metabólica* (pp. 55-70). Barcelona: Doyma.
- Shevde, N., Anklesaria, P., Greenberger, J. S., Bleiberg, I., & Glowacki, J. (1994). Stromal cell-mediated stimulation of osteoclastogenesis. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine*, 205(4), 306-315.
- Shiraki, M., Shiraki, Y., Aoki, C., Hosoi, T., Inoue, S., Kaneki, M., & Ouchi, Y. (1997). Association of bone mineral density with apolipoprotein E phenotype. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 12(9), 1438-1445. doi: 10.1359/jbmr.1997.12.9.1438
- Silvestri, S., Thomsen, A. B., Gozzini, A., Bagger, Y., Christiansen, C., & Brandi, M. L. (2006). Estrogen receptor alpha and beta polymorphisms: is there an association with bone mineral density, plasma lipids, and response to postmenopausal hormone therapy? [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Menopause*, 13(3), 451-461. doi: 10.1097/01.gme.0000182804.14385.a2
- Simmons, J. D., Mullighan, C., Welsh, K. I., & Jewell, D. P. (2000). Vitamin D receptor gene polymorphism: association with Crohn's disease susceptibility. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Gut*, 47(2), 211-214.
- Simpson, R. U., & DeLuca, H. F. (1980). Characterization of a receptor-like protein for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in rat skin. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 77(10), 5822-5826.
- Skrabic, V., Zemunik, T., Situm, M., & Terzic, J. (2003). Vitamin D receptor polymorphism and susceptibility to type 1 diabetes in the Dalmatian population. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Diabetes research and clinical practice*, 59(1), 31-35.
- Smith, D. M., Nance, W. E., Kang, K. W., Christian, J. C., & Johnston, C. C., Jr. (1973). Genetic factors in determining bone mass. *The Journal of clinical investigation*, 52(11), 2800-2808. doi: 10.1172/JCI107476
- Somjen, D., Weisman, Y., Berger, E., Earon, Y., Kaye, A. M., & Binderman, I. (1986). Developmental changes in the responsiveness of rat kidney to vitamin D metabolites. [Comparative Study]. *Endocrinology*, 118(1), 354-359.

- Soroko, S. B., Barrett-Connor, E., Edelstein, S. L., & Kritz-Silverstein, D. (1994). Family history of osteoporosis and bone mineral density at the axial skeleton: the Rancho Bernardo Study. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 9(6), 761-769. doi: 10.1002/jbmr.5650090602
- Sosa Henriquez, M., Torres Ramirez, A., Dominguez Cabrera, C., Salido, E., Saavedra Santana, P., Barrios, Y., . . . Betancor Leon, P. (1998). Polimorfismo genético del receptor de la vitamina D y osteoporosis. [Comparative Study]. [Genetic polymorphism of vitamin D receptor and osteoporosis .]. *Medicina Clinica*, 110(17), 646-650.
- Speer, G., Cseh, K., Winkler, G., Vargha, P., Braun, E., Takacs, I., & Lakatos, P. (2001). Vitamin D and estrogen receptor gene polymorphisms in type 2 diabetes mellitus and in android type obesity. [Clinical Trial]. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*, 144(4), 385-389.
- Speer, G., Dworak, O., Cseh, K., Bori, Z., Salamon, D., Torok, I., . . . Lakatos, P. (2000). Vitamin D receptor gene BsmI polymorphism correlates with erbB-2/HER-2 expression in human rectal cancer. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Oncology*, 58(3), 242-247. doi: 12107
- Srivastava, A. K., Vliet, E. L., Lewiecki, E. M., Maricic, M., Abdelmalek, A., Gluck, O., & Baylink, D. J. (2005). Clinical use of serum and urine bone markers in the management of osteoporosis. [Review]. *Current medical research and opinion*, 21(7), 1015-1026. doi: 10.1185/030079905X49635
- Stathopoulou, M. G., Dedoussis, G. V., Trovas, G., Theodoraki, E. V., Katsalira, A., Dontas, I. A., . . . Lyritis, G. P. (2011). The role of vitamin D receptor gene polymorphisms in the bone mineral density of Greek postmenopausal women with low calcium intake. *The Journal of nutritional biochemistry*, 22(8), 752-757. doi: 10.1016/j.jnutbio.2010.06.007
- Stefanic, M., Karner, I., Glavas-Obrovac, L., Papic, S., Vrdoljak, D., Levak, G., & Krstonosic, B. (2005). Association of vitamin D receptor gene polymorphism with susceptibility to Graves' disease in Eastern Croatian population: case-control study. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Croatian medical journal*, 46(4), 639-646.
- Stepan, J. J. (2003). Clinical utility of bone markers in the evaluation and follow-up of osteoporotic patients: why are the markers poorly accepted by clinicians? [Review]. *Journal of Endocrinological Investigation*, 26(5), 458-463.
- Stepan, J. J., Pospichal, J., Presl, J., & Pacovsky, V. (1987). Bone loss and biochemical indices of bone remodeling in surgically induced postmenopausal women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Bone*, 8(5), 279-284.
- Stumpf, W. E., & Denny, M. E. (1989). Vitamin D (solatriol), light, and reproduction. [Review]. *American journal of obstetrics and gynecology*, 161(5), 1375-1384.

- Stumpf, W. E., Sar, M., Clark, S. A., & DeLuca, H. F. (1982). Brain target sites for 1,25-dihydroxyvitamin D₃. [Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S.]. *Science*, 215(4538), 1403-1405.
- Suda, T., Takahashi, N., Udagawa, N., Jimi, E., Gillespie, M. T., & Martin, T. J. (1999). Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. [Review]. *Endocrine reviews*, 20(3), 345-357.
- Sylvia, V. L., Schwartz, Z., Ellis, E. B., Helm, S. H., Gomez, R., Dean, D. D., & Boyan, B. D. (1996). Nongenomic regulation of protein kinase C isoforms by the vitamin D metabolites 1 alpha,25-(OH)₂D₃ and 24R,25-(OH)₂D₃. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of cellular physiology*, 167(3), 380-393. doi: 10.1002/(SICI)1097-4652(199606)167:3<380::AID-JCP2>3.0.CO;2-L
- Szabo, A., Merke, J., Beier, E., Mall, G., & Ritz, E. (1989). 1,25(OH)₂ vitamin D₃ inhibits parathyroid cell proliferation in experimental uremia. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Kidney international*, 35(4), 1049-1056.
- Taboulet, J., Frenkian, M., Frenzo, J. L., Feingold, N., Jullienne, A., & de Vernejoul, M. C. (1998). Calcitonin receptor polymorphism is associated with a decreased fracture risk in post-menopausal women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Human Molecular Genetics*, 7(13), 2129-2133.
- Tajouri, L., Ovcarić, M., Curtain, R., Johnson, M. P., Griffiths, L. R., Csurhes, P., . . . Lea, R. A. (2005). Variation in the vitamin D receptor gene is associated with multiple sclerosis in an Australian population. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of neurogenetics*, 19(1), 25-38. doi: 10.1080/01677060590949692
- Takacs, I., Koller, D. L., Peacock, M., Christian, J. C., Hui, S. L., Conneally, P. M., . . . Econs, M. J. (1999). Sibling pair linkage and association studies between bone mineral density and the insulin-like growth factor I gene locus. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 84(12), 4467-4471.
- Tannirandorn, P., & Epstein, S. (2000). Drug-induced bone loss. [Review]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 11(8), 637-659.
- Taylor, J. A., Hirvonen, A., Watson, M., Pittman, G., Mohler, J. L., & Bell, D. A. (1996). Association of prostate cancer with vitamin D receptor gene polymorphism. *Cancer research*, 56(18), 4108-4110.
- Taymans, S. E., Pack, S., Pak, E., Orban, Z., Barsony, J., Zhuang, Z., & Stratakis, C. A. (1999). The human vitamin D receptor gene (VDR) is localized to region 12cen-q12 by fluorescent in situ hybridization and radiation hybrid mapping: genetic and physical VDR map. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 14(7), 1163-1166. doi: 10.1359/jbmr.1999.14.7.1163

- Thakkestian, A., D'Este, C., & Attia, J. (2004). Haplotype analysis of VDR gene polymorphisms: a meta-analysis. [Meta-Analysis]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 15(9), 729-734. doi: 10.1007/s00198-004-1601-x
- Thakkestian, A., D'Este, C., Eisman, J., Nguyen, T., & Attia, J. (2004). Meta-analysis of molecular association studies: vitamin D receptor gene polymorphisms and BMD as a case study. [Meta-Analysis]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 19(3), 419-428. doi: 10.1359/JBMR.0301265
- Theintz, G., Buchs, B., Rizzoli, R., Slosman, D., Clavien, H., Sizonenko, P. C., & Bonjour, J. P. (1992). Longitudinal monitoring of bone mass accumulation in healthy adolescents: evidence for a marked reduction after 16 years of age at the levels of lumbar spine and femoral neck in female subjects. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 75(4), 1060-1065.
- Tobin, W. J. (1968). An atlas of the comparative anatomy of the upper end of the femur. I. Further evidence and confirmation of Wolff's Law of the femur. I. Further evidence and confirmation of Wolff's Law of Bone Transformation. *Clinical orthopaedics and related research*, 56, 83-103.
- Tokita, A., Kelly, P. J., Nguyen, T. V., Qi, J. C., Morrison, N. A., Risteli, L., . . . Eisman, J. A. (1994). Genetic influences on type I collagen synthesis and degradation: further evidence for genetic regulation of bone turnover. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 78(6), 1461-1466.
- Torres, A., Machado, M., Concepcion, M. T., Martin, N., Lorenzo, V., Hernandez, D., . . . Salido, E. (1996). Influence of vitamin D receptor genotype on bone mass changes after renal transplantation. [Clinical Trial]. *Kidney international*, 50(5), 1726-1733.
- Tremollieres, F. A., Pouilles, J. M., & Ribot, C. (1993). Vertebral postmenopausal bone loss is reduced in overweight women: a longitudinal study in 155 early postmenopausal women. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 77(3), 683-686.
- Tsukamoto, Y., Heishi, M., Nagaba, Y., Kobayashi, N., Nomura, Y., Takahashi, K., & Tazawa, H. (1996). More on hyperparathyroidism and the vitamin D receptor. [Comment]. *Nature medicine*, 2(11), 1162.
- Turner, R. T., Riggs, B. L., & Spelsberg, T. C. (1994). Skeletal effects of estrogen. [Review]. *Endocrine reviews*, 15(3), 275-300.
- Turpeinen, H., Hermann, R., Vaara, S., Laine, A. P., Simell, O., Knip, M., . . . Ilonen, J. (2003). Vitamin D receptor polymorphisms: no association with type 1 diabetes in the Finnish population. [Comparative Study]. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*, 149(6), 591-596.

- Tylavsky, F. A., Bortz, A. D., Hancock, R. L., & Anderson, J. J. (1989). Familial resemblance of radial bone mass between premenopausal mothers and their college-age daughters. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Calcified tissue international*, 45(5), 265-272.
- Uitterlinden, A. G., Burger, H., Huang, Q., Yue, F., McGuigan, F. E., Grant, S. F., . . . Ralston, S. H. (1998). Relation of alleles of the collagen type Ialpha1 gene to bone density and the risk of osteoporotic fractures in postmenopausal women. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The New England journal of medicine*, 338(15), 1016-1021. doi: 10.1056/NEJM199804093381502
- Uitterlinden, A. G., Fang, Y., Van Meurs, J. B., Pols, H. A., & Van Leeuwen, J. P. (2004). Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. [Review]. *Gene*, 338(2), 143-156. doi: 10.1016/j.gene.2004.05.014
- Uitterlinden, A. G., Pols, H. A., Burger, H., Huang, Q., Van Daele, P. L., Van Duijn, C. M., . . . Van Leeuwen, J. P. (1996). A large-scale population-based study of the association of vitamin D receptor gene polymorphisms with bone mineral density. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 11(9), 1241-1248. doi: 10.1002/jbmr.5650110908
- Uitterlinden, A. G., Ralston, S. H., Brandi, M. L., Carey, A. H., Grinberg, D., Langdahl, B. L., . . . Ioannidis, J. P. (2006). The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis. [Meta-Analysis]. *Annals of internal medicine*, 145(4), 255-264.
- Vaisanen, S., Perakyla, M., Karkkainen, J. I., Steinmeyer, A., & Carlberg, C. (2002). Critical role of helix 12 of the vitamin D(3) receptor for the partial agonism of carboxylic ester antagonists. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of molecular biology*, 315(2), 229-238. doi: 10.1006/jmbi.2001.5225
- Valimaki, S., Tahtela, R., Kainulainen, K., Laitinen, K., Loyttyniemi, E., Sulkava, R., . . . Kontula, K. (2001). Relation of collagen type I alpha 1 (COLIA 1) and vitamin D receptor genotypes to bone mass, turnover, and fractures in early postmenopausal women and to hip fractures in elderly people. *European journal of internal medicine*, 12(1), 48-56.
- van Staa, T. P., Leufkens, H. G., & Cooper, C. (2002). Does a fracture at one site predict later fractures at other sites? A British cohort study. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 13(8), 624-629. doi: 10.1007/s001980200084
- Varo, J. J., Martinez-Gonzalez, M. A., De Irala-Estevez, J., Kearney, J., Gibney, M., & Martinez, J. A. (2003). Distribution and determinants of sedentary lifestyles in the European Union. [Multicenter Study]. *International journal of epidemiology*, 32(1), 138-146.
- Venter, J. C. (2003). A part of the human genome sequence. [Letter]. *Science*, 299(5610), 1183-1184. doi: 10.1126/science.299.5610.1183

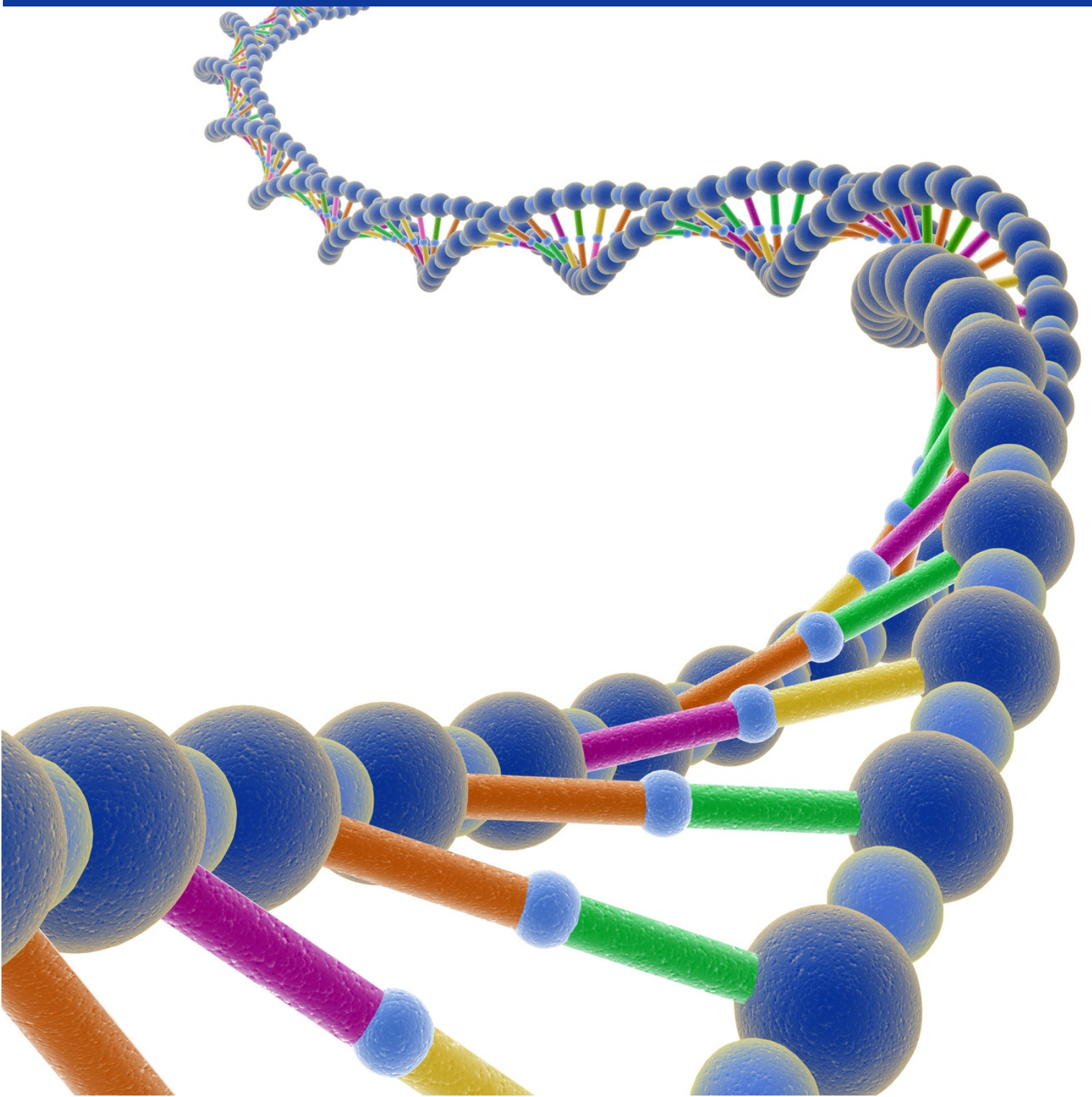
- Venter, J. C., Adams, M. D., Myers, E. W., Li, P. W., Mural, R. J., Sutton, G. G., . . . Zhu, X. (2001). The sequence of the human genome. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Science*, 291(5507), 1304-1351. doi: 10.1126/science.1058040
- Vesely, D. L., & Juan, D. (1984). Cation-dependent vitamin D activation of human renal cortical guanylate cyclase. [Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S.]. *The American journal of physiology*, 246(1 Pt 1), E115-120.
- Vestergaard, P., Rejnmark, L., & Mosekilde, L. (2006). Anxiolytics, sedatives, antidepressants, neuroleptics and the risk of fracture. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 17(6), 807-816. doi: 10.1007/s00198-005-0065-y
- Vigo Gago, E., Cadarso-Suarez, C., Perez-Fernandez, R., Romero Burgos, R., Devesa Mugica, J., & Segura Iglesias, C. (2005). Association between vitamin D receptor FokI. Polymorphism and serum parathyroid hormone level in patients with chronic renal failure. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of Endocrinological Investigation*, 28(2), 117-121.
- Walsh, L. J., Wong, C. A., Pringle, M., & Tattersfield, A. E. (1996). Use of oral corticosteroids in the community and the prevention of secondary osteoporosis: a cross sectional study. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *BMJ*, 313(7053), 344-346.
- Wang, C. L., Tang, X. Y., 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. [Meta-Analysis]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 18(3), 295-305. doi: 10.1007/s00198-006-0239-2
- Wang, Z. Q., Ovitt, C., Grigoriadis, A. E., Mohle-Steinlein, U., Ruther, U., & Wagner, E. F. (1992). Bone and haematopoietic defects in mice lacking c-fos. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Nature*, 360(6406), 741-745. doi: 10.1038/360741a0
- Ward, K. D., & Klesges, R. C. (2001). A meta-analysis of the effects of cigarette smoking on bone mineral density. [Meta-Analysis]. *Calcified tissue international*, 68(5), 259-270.
- Wasnich, R. (1993). Bone mass measurement: prediction of risk. [Consensus Development Conference]. *The American journal of medicine*, 95(5A), 6S-10S.
- Watts, N. B. (2004). Fundamentals and pitfalls of bone densitometry using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA). [Review]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 15(11), 847-854. doi: 10.1007/s00198-004-1681-7

- Waugh, E. J., Lam, M. A., Hawker, G. A., McGowan, J., Papaioannou, A., Cheung, A. M., . . . Jamal, S. A. (2009). Risk factors for low bone mass in healthy 40-60 year old women: a systematic review of the literature. [Review]. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 20(1), 1-21. doi: 10.1007/s00198-008-0643-x
- Whittemore, R., & Knafl, K. (2005). The integrative review: updated methodology. *Journal of Advanced Nursing*, 52(5), 546-553. doi: 10.1111/j.1365-2648.2005.03621.x
- Wilkinson, R. J., Llewelyn, M., Toossi, Z., Patel, P., Pasvol, G., Lalvani, A., . . . Davidson, R. N. (2000). Influence of vitamin D deficiency and vitamin D receptor polymorphisms on tuberculosis among Gujarati Asians in west London: a case-control study. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Lancet*, 355(9204), 618-621. doi: 10.1016/S0140-6736(99)02301-6
- Xing, L., & Boyce, B. F. (2005). Regulation of apoptosis in osteoclasts and osteoblastic cells. [Review]. *Biochemical and biophysical research communications*, 328(3), 709-720. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.11.072
- Yamagata, Z., Miyamura, T., Iijima, S., Asaka, A., Sasaki, M., Kato, J., & Koizumi, K. (1994). Vitamin D receptor gene polymorphism and bone mineral density in healthy Japanese women. [Letter]. *Lancet*, 344(8928), 1027.
- Yamaguchi, A., Komori, T., & Suda, T. (2000). Regulation of osteoblast differentiation mediated by bone morphogenetic proteins, hedgehogs, and Cbfa1. [Review]. *Endocrine reviews*, 21(4), 393-411.
- Yamaguchi, M., & Uchiyama, M. (1987). Preventive effect of zinc for toxic actions of germanium and selenium on bone metabolism in weanling rats. *Research in experimental medicine. Zeitschrift fur die gesamte experimentelle Medizin einschliesslich experimenteller Chirurgie*, 187(5), 395-400.
- Yamamoto, H., Miyamoto, K., Li, B., Taketani, Y., Kitano, M., Inoue, Y., . . . Takeda, E. (1999). The caudal-related homeodomain protein Cdx-2 regulates vitamin D receptor gene expression in the small intestine. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 14(2), 240-247. doi: 10.1359/jbmr.1999.14.2.240
- Yasovanthi, J., Venkata Karunakar, K., Sri Manjari, K., Pulla Reddy, B., Ajeya Kumar, P., Sessa Charyulu, M., . . . Jyothy, A. (2011). Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with BMD and their effect on 1, 25-dihydroxy vitamin D3 levels in pre- and postmenopausal South Indian women from Andhra Pradesh. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 412(7-8), 541-544. doi: 10.1016/j.cca.2010.11.035
- Ye, W. Z., Reis, A. F., Dubois-Laforgue, D., Bellanne-Chantelot, C., Timsit, J., & Velho, G. (2001). Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with obesity in type 2 diabetic subjects with early age of onset. [Research

- Support, Non-U.S. Gov't]. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*, 145(2), 181-186.
- Ye, W. Z., Reis, A. F., & Velho, G. (2000). Identification of a novel Tru9 I polymorphism in the human vitamin D receptor gene. *Journal of Human Genetics*, 45(1), 56-57. doi: 10.1007/s100380050011
- Yokoyama, K., Shigematsu, T., Kagami, S., Tsukada, T., Arai, T., Hara, S., . . . Hosoya, T. (2001). Vitamin D receptor gene polymorphism detected by digestion with Apa I influences the parathyroid response to extracellular calcium in Japanese chronic dialysis patients. *Nephron*, 89(3), 315-320. doi: 46092
- Yoldemir, T., Yavuz, D. G., Anik, G., Verimli, N., & Erenus, M. (2011a). Vitamin D receptor gene polymorphisms in a group of postmenopausal Turkish women: association with bone mineral density. [Article]. *Climacteric : the journal of the International Menopause Society*, 14(3), 384-391. doi: 10.3109/13697137.2010.550973
- Yoldemir, T., Yavuz, D. G., Anik, G., Verimli, N., & Erenus, M. (2011b). Vitamin D receptor gene polymorphisms in a group of postmenopausal Turkish women: association with bone mineral density. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Climacteric : the journal of the International Menopause Society*, 14(3), 384-391. doi: 10.3109/13697137.2010.550973
- Young, M. F. (2003). Bone matrix proteins: more than markers. [Review]. *Calcified tissue international*, 72(1), 2-4.
- Zajickova, K., Zofkova, I., Bahbouh, R., & Krepelova, A. (2002). Vitamin D receptor gene polymorphisms, bone mineral density and bone turnover: FokI genotype is related to postmenopausal bone mass. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, 51(5), 501-509.
- Zambrano-Morales, M., Borjas, L., Fernandez, E., Zabala, W., de Romero, P., Pineda, L., & Morales-Machin, A. (2008). [Association of the vitamin D receptor gene BBAAtt haplotype with osteoporosis in post-menopausal women]. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Investigacion clinica*, 49(1), 29-38.
- Zanello, L. P., & Norman, A. W. (1996). 1 alpha,25(OH)₂ vitamin D₃-mediated stimulation of outward anionic currents in osteoblast-like ROS 17/2.8 cells. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Biochemical and biophysical research communications*, 225(2), 551-556. doi: 10.1006/bbrc.1996.1210
- Zanker, C. L., Gannon, L., Cooke, C. B., Gee, K. L., Oldroyd, B., & Truscott, J. G. (2003). Differences in bone density, body composition, physical activity, and diet between child gymnasts and untrained children 7-8 years of age. [Comparative Study]. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 18(6), 1043-1050. doi: 10.1359/jbmr.2003.18.6.1043
- Zanker, C. L., Osborne, C., Cooke, C. B., Oldroyd, B., & Truscott, J. G. (2004). Bone density, body composition and menstrual history of sedentary female former gymnasts, aged 20-32 years. *Osteoporosis international : a journal*

- established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA, 15(2), 145-154. doi: 10.1007/s00198-003-1524-y
- Zarrabeitia, M. T., Riancho, J. A., Amado, J. A., Napal, J., & Gonzalez-Macias, J. (1991). Cytokine production by peripheral blood cells in postmenopausal osteoporosis. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Bone and mineral*, 14(2), 161-167.
- Zehnder, D., Bland, R., Chana, R. S., Wheeler, D. C., Howie, A. J., Williams, M. C., . . . Hewison, M. (2002). Synthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) by human endothelial cells is regulated by inflammatory cytokines: a novel autocrine determinant of vascular cell adhesion. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 13(3), 621-629.
- Zhang, Z. L., Qin, Y. J., Huang, Q. R., He, J. W., Li, M., Zhou, Q., . . . Li, Y. J. (2004). Association of estrogen receptor-alpha and vitamin D receptor genotypes with therapeutic response to calcium in postmenopausal Chinese women. *Acta pharmacologica Sinica*, 25(12), 1690-1697.
- Zhao, L. J., Liu, Y. J., Liu, P. Y., Hamilton, J., Recker, R. R., & Deng, H. W. (2007). Relationship of obesity with osteoporosis. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 92(5), 1640-1646. doi: 10.1210/jc.2006-0572
- Zhuang, H., Wang, W., Seldes, R. M., Tahernia, A. D., Fan, H., & Brighton, C. T. (1997). Electrical stimulation induces the level of TGF-beta1 mRNA in osteoblastic cells by a mechanism involving calcium/calmodulin pathway. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. *Biochemical and biophysical research communications*, 237(2), 225-229. doi: 10.1006/bbrc.1997.7118
- Zintzaras, E., Rodopoulou, P., & Koukoulis, G. N. (2006). BsmI, TaqI, ApaI and FokI polymorphisms in the vitamin D receptor (VDR) gene and the risk of osteoporosis: a meta-analysis. [Meta-Analysis]. *Disease markers*, 22(5-6), 317-326.

ANEXOS



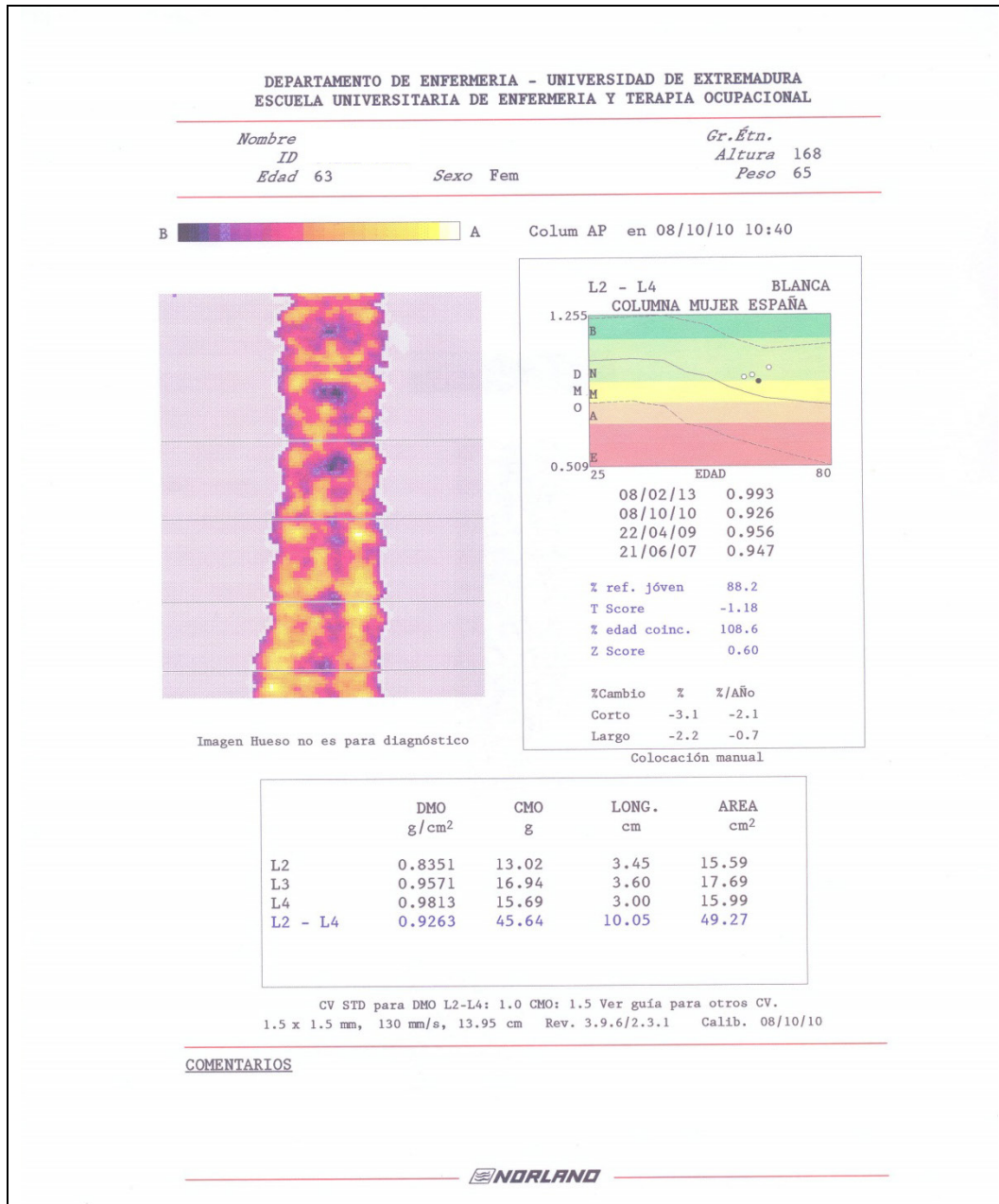
ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN

INSTRUCCIONES

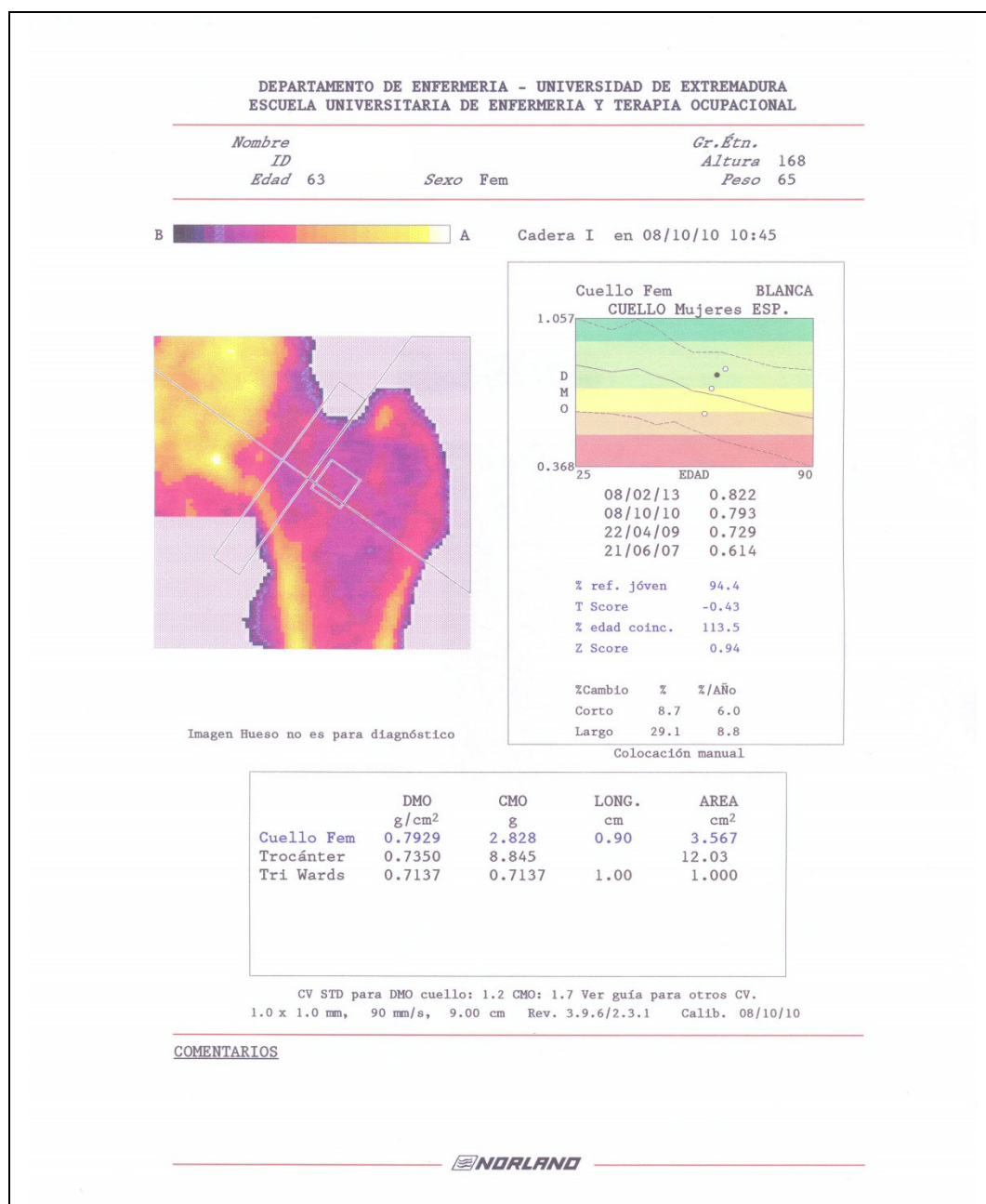
- 1.- No escribir en la columna con el símbolo Σ .
 - 2.- Dejar en blanco las casillas no utilizadas
 - 3.- Escribir con bolígrafo, preferentemente de color rojo o azul.
 - 4.- Señalar con números las raciones o cantidades de alimento comida, **no utilizar otros signos, por ejemplo X.**
- MUCHAS GRACIAS

	Producto	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado	Domingo	Σ
01	Aceite - Cucharada								
BEBIDAS									
02	Café - taza								
03	Cerveza - vaso/botella								
04	Cola - vaso/botella								
05	Te - taza								
06	Zumo frutas - vaso								
07	Zumo naranjas - vaso								
08	Zumo tomate - vaso								
CARNES									
09	Carne vacuno mayor - ración								
10	Cerdo chuleta - ración								
11	Cerdo lomo - ración								
12	Conejo/liebre - ración								
13	Cordero chuleta - ración								
14	Cordero pierna - ración								
15	Embutido - ración								
16	Foiegras/Paté - ración								
17	Hígado - ración								
18	Jamón curado - tapa								
19	Jamón York - Loncha								
20	Mortadela - Loncha								
21	Pollo alas (completa) - unidad								
22	Pollo filetes - ración								
23	Pollo muslo - ración								
24	Pollo pechuga - ración								
25	Pollo - ración de 1/4								
26	Salchicha Frankfurt - unidad								
27	Salchichas - unidad								
28	Salchichón - loncha								
29	Tenera Chuleta - ración								

ANEXO 1: Cuestionario Dietético empleado en el estudio
Tomado de Pedrera (Pedrera-Zamorano, et al., 2009)



ANEXO 2: Ejemplo de datos de salida del densitómetro Norland Excell del Laboratorio GIEMO.



ANEXO 3: Ejemplo de datos de salida del densitómetro *Norland Excell* del Laboratorio GIEMO.



PROF. DR. JUAN DIEGO PEDRERA ZAMORANO
ESCUELA UNIVERSITARIA DE ENFERMERÍA Y TERAPIA OCUPACIONAL
DEPARTAMENTO DE ENFERMERÍA
Campus Universitario
Apdo. de Correos 969
10071. - Cáceres (España)
Tlf. - 927-25-74-50
Fax. - 927-25-74-51
E-mail: jpedrera@unex.es

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, D./D^a. _____, mayor de edad, con documento nacional de identidad número _____, hago constar que he recibido suficiente información sobre las técnicas de valoración ósea (mediante ultrasonidos, tomografía cuantitativa computerizada periférica y/o absorciometría radiológica de doble energía) y sobre las técnicas de valoración de la composición corporal mediante bioimpedancia a las que me voy a someter; habiendo podido realizar preguntas sobre el estudio para su mejor entendimiento. Comprendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme de dicho estudio cuando estime oportuno sin tener que dar explicaciones. He sido informado/a de que los tejidos/muestras que cedo serán utilizados exclusivamente con finalidad de investigación sin ánimo de lucro.

Manifestando que: a) no tengo marcapasos, b) ni prótesis metálica, c) no estoy, ni sospecho estar, embarazada y c) no me he realizado ninguna densitometría DEXA en el último año.

Así mismo, cedo* al Departamento de Enfermería de la Universidad de Extremadura (exclusivamente para fines de investigación) el uso de los datos obtenidos, prestando libremente mi conformidad para participar.

En Cáceres a _____ de _____ de _____.

Fdo. _____

*En cumplimiento de lo dispuesto en la LO 15/99 de Protección de Datos de Carácter Personal, le informamos que los datos personales facilitados por Vd. Serán tratados de forma totalmente confidencial e incorporados a un fichero responsabilidad de la Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas Óseas del Departamento de Enfermería de la Universidad de Extremadura, para finalidades de investigación. La cumplimentación del presente documento implica la autorización para usar los datos personales facilitados con la finalidad citada. No obstante, podrá ejercitar sus derechos de acceso, rectificación y cancelación, en su caso, dirigiéndose a nuestra unidad a través de cualquiera de los medios indicados.

ANEXO 4: Modelo de consentimiento informado administrado en el estudio.

