



**Facultad de Medicina**  
**Departamento de Salud Pública, Historia de la Ciencia y**  
**Ginecología**

**Tesis doctoral**

**Correlación de patrones genéticos con el**  
**riesgo de fractura osteoporótica estimado**  
**mediante el índice FRAX®**

Presentada por:

**Eva Ruiz Maciá**

**Director Dr. Francisco José Querada Seguí**  
**Codirector Dr. Nicolás Mendoza Ladrón de Guevara**

San Juan (Alicante), Septiembre de 2015





ILDEFONSO HERNÁNDEZ AGUADO, DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE SALUD PÚBLICA, HISTORIA DE LA CIENCIA Y GINECOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

**INFORMA:**

Que **D<sup>a</sup> EVA RUIZ MACIÁ**, ha realizado bajo la coordinación de este Departamento su memoria de Tesis Doctoral titulada “**Correlación de patrones genéticos con el riesgo de fractura osteoporótica estimado mediante el índice FRAX®**”, cumpliendo todos los objetivos previstos, finalizando su trabajo de forma satisfactoria para su defensa pública y capacitándole para optar al Grado de Doctora.

Lo que certifico en Sant Joan d’Alacant, a 28 de septiembre de 2015.

Fdo: Ildfonso Hernández Aguado  
DIRECTOR

DEPARTAMENTO DE SALUD PÚBLICA, HISTORIA DE LA CIENCIA Y GINECOLOGIA  
Campus de San Juan. Avda. Ramón y Cajal, s/n – 03550 Sant Joan d’Alacant  
Telf.: 96 591 95 06 – Fax: 96 591 95 51  
c.electrónico: [salud.pub1@umh.es](mailto:salud.pub1@umh.es) Web: <http://www.dsp.umh.es>





**A mi familia**



## Agradecimientos

En primer lugar quisiera agradecer al Dr. D. Francisco J. Quereda su infatigable ayuda para la elaboración de esta tesis. Gracias por haberme impulsado desde el inicio, desde los años del doctorado, para la consecución de esta obra. Gracias por confiar en mí.

Al Dr. Mendoza y su equipo de investigadores, a todos los participantes de este proyecto, gracias. Sin vuestra colaboración y trabajo no habría sido posible la realización de esta tesis.

Al Profesor D. Pedro Ación por haber sido un gran maestro en mi vida laboral. Gracias por la paciencia, por la docencia, por transmitir los conocimientos y la pasión hacia nuestra profesión.

A mis compañeras y amigas, en especial a Nerea, Lourdes y Teresa por haber compartido el desafío de una tesis doctoral.

A todo el Servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario de San Juan de Alicante por haberme acompañado durante estos años.





## **ÍNDICE**

---



1. Introducción .....	15
1.1. Breve repaso de la fisiología ósea .....	17
1.1.1. Estructura y características del hueso .....	17
1.1.1.1. Tipos de hueso.....	17
1.1.1.2. Elementos celulares.....	19
1.1.1.3. Matriz extracelular.....	21
1.1.2. Remodelado y resistencia ósea .....	23
1.1.2.1. Funciones del remodelado.....	23
1.1.2.2. Regulación de la resorción ósea .....	23
1.1.2.3. Regulación de la formación ósea .....	24
1.1.2.4. Regulación del remodelado óseo .....	25
1.1.2.5. Marcadores bioquímicos del remodelado óseo .....	26
1.2. Cantidad y calidad ósea como base de la resistencia ósea.....	29
1.2.1. Masa ósea y resistencia a la fractura.....	29
1.2.1.1. Factores que influyen en el pico de masa ósea.....	29
1.2.1.2. Medición de la DMO.....	30
1.2.2. Calidad ósea y resistencia a la fractura.....	35
1.2.2.1. Nivel macroestructural .....	35
1.2.2.2. Nivel microestructural.....	36
1.2.2.3. Nivel ultraestructural .....	36
1.2.2.4. Nivel nanoestructural .....	36
1.3. Osteoporosis.....	37
1.3.1. Definición de la osteoporosis .....	37
1.3.2. Clasificación de la osteoporosis.....	38
1.3.2.1. Osteoporosis involutiva o primaria .....	38
1.3.2.2. Osteoporosis secundarias.....	38
1.3.3. Epidemiología de la osteoporosis.....	39
1.3.4. Factores de riesgo de la osteoporosis .....	40
1.3.4.1. Factores de riesgo no modificables:.....	40
1.3.4.2. Factores de riesgo modificables:.....	40
1.3.5. Estimación del riesgo de fractura ósea .....	41
1.3.5.1. Densidad mineral ósea y riesgo de fractura .....	41

1.4. Bases genéticas de la osteoporosis.....	45
1.4.1. Estudios genéticos.....	45
1.4.2. Genes implicados en la osteoporosis.....	46
1.4.2.1. Polimorfismos del gen del receptor de la vitamina D.....	47
1.4.2.2. Polimorfismos del gen del receptor de estrógenos.....	47
1.4.2.3. Polimorfismos del ESR1.....	48
1.4.2.4. Polimorfismos del gen del ESR2.....	49
1.4.2.5. Polimorfismos del gen del receptor de la hormona estimulante del folículo (FSHR).....	49
1.4.2.6. Polimorfismos del gen de la aromatasa.....	49
1.4.2.7. Polimorfismos del gen de la NRIP1.....	49
1.4.2.8. Polimorfismos del gen de la proteína morfogenética de hueso 15.....	50
1.4.2.9. Interacciones genéticas.....	50
2. Hipótesis, objetivos y plan de trabajo.....	53
2.1 Hipótesis.....	55
2.2. Objetivos.....	55
2.2.1. Objetivo principal.....	55
2.2.2. Objetivos secundarios.....	55
2.3. Plan de trabajo.....	56
2.4. Tamaño muestral.....	56
3. Materiales y métodos.....	57
3.1. Población a estudio.....	59
3.1.1. Criterios de inclusión.....	59
3.1.2. Criterios de exclusión.....	59
3.2. Obtención de la información epidemiológica.....	60
3.3. Obtención del valor de la DMO.....	60
3.4. Obtención del valor del riesgo de fractura.....	60
3.5. Obtención de la información genética.....	60
3.6. Definición de las variables.....	61
3.6.1. Variables clínicas y demográficas.....	61
3.6.2. Variables genéticas.....	62
3.6.3. Variables de riesgo estimado de fractura mediante la herramienta FRAX®.....	63

3.7. Equilibrio de HARDY - WEINBERG (EHW) .....	64
3.8. Análisis de los datos.....	65
3.8.1. Metodología.....	65
3.8.2. Pruebas estadísticas.....	66
4. Resultados.....	69
4.1. Estadística descriptiva de la muestra.....	71
4.2. Estadística descriptiva de la distribución de los alelos.....	73
4.3. Análisis del riesgo de fractura estimado por FRAX® .....	76
4.4. Estadística descriptiva unilocus de la relación entre genes candidatos y riesgos de fractura estimados mediante FRAX®.....	79
4.5. Percentiles de riesgo estimado por edad.....	85
4.6. Estadística descriptiva de la distribución según riesgo ajustado por edad.....	93
4.7. Análisis de polimorfismos genéticos y riesgo estimado de fractura (FRAX®) ajustado por edad .....	94
4.7.1. Análisis del Gen FSHR .....	94
4.7.2. Análisis del gen ESR1.....	96
4.7.3. Análisis del gen ESR2.....	98
4.7.4. Análisis de gen RIP-140.....	100
4.7.5. Análisis del gen CYP 19 marcador UTR.....	102
4.7.6. Análisis del gen CYP 19 marcador IVS4 .....	104
4.7.7. Análisis del gen BMP15 marcador -673C.....	106
4.7.8. Análisis del gen BMP15 marcador -9C >G.....	108
4.7.9. Análisis del gen BMP15 marcador 905A .....	110
4.7.10. Análisis del gen BMP15 marcador N103.....	112
4.8. Análisis de interacción genética .....	115
4.8.1. Análisis digénico .....	115
4.8.1.1. Análisis digénico para el riesgo estimado de fractura por FRAX® calculado sin densitometría .....	115
4.8.1.2. Análisis digénico para el riesgo ajustado de fractura por FRAX® estimado con densitometría .....	127
4.8.2. Análisis de las relaciones de los genes CYP 19 marcador IVS 4 y el gen BMP 15 905A para el riesgo ajustado de fractura de cadera con densitometría estimado por FRAX.....	147

5. <i>Discusión</i> .....	153
5.1. Consideraciones sobre la pertinencia del estudio.....	155
5.2. Consideraciones sobre la muestra poblacional.....	156
5.3. Consideraciones sobre el FRAX® como método de estimación del riesgo absoluto de fractura osteoporótica.....	157
5.4. Consideraciones sobre el riesgo estimado de fractura en nuestra cohorte de estudio .....	159
5.5. Consideraciones sobre nuestros resultados .....	161
5.5.1. Valoración de los hallazgos significativos.....	161
5.5.2. Valoración de las tendencias no significativas identificadas.....	162
5.6. Consideraciones sobre los estudios genéticos en osteoporosis y lo que aporta nuestra investigación .....	165
6. <i>Conclusiones</i> .....	171
6.1. Conclusiones principales .....	173
6.2. Otras conclusiones.....	173
7. <i>Bibliografía</i> .....	175
8. <i>Anexo 1</i> .....	187



## **1. Introducción**

---



## 1.1. Breve repaso de la fisiología ósea

### 1.1.1. Estructura y características del hueso

#### 1.1.1.1. Tipos de hueso

El tejido óseo es un tipo de tejido conjuntivo que se caracteriza por su rigidez y su gran resistencia tanto a la tracción como a la compresión además de su flexibilidad y ligereza para permitir una movilidad adecuada.

Está formado por la matriz ósea, que es un material intercelular calcificado y por células: osteocitos, osteoblastos y osteoclastos.

Entre sus funciones destacan:

1. Mecánica: mantiene el peso corporal y es zona de inserción de músculos.
2. Protectora: protege órganos vitales y contiene al sistema hematopoyético (médula ósea).
3. Metabólica: es reserva de iones, especialmente fosfato y calcio

Es un tejido muy vascularizado e innervado, que está estructurado en laminillas de matriz osteoide calcificada. La disposición de estas laminillas es la que determina que el hueso sea cortical o esponjoso<sup>1</sup>.

#### 1.1.1.1.1. El hueso cortical o compacto

Este tipo de hueso forma parte de la diáfisis de los huesos largos así como de la parte externa de todos los huesos del cuerpo. Constituye una protección y un soporte. Representa el 80% del hueso total. Ver figuras 1-4.

Tiene una estructura en anillos concéntricos alrededor de canales centrales, llamados canales de Havers, que se extienden longitudinalmente. Los canales de Havers están conectados con otros canales llamados canales de Volkmann que perforan el periostio. Ambos canales son la vía de extensión de los vasos sanguíneos, linfáticos y nervios. Entre las láminas concéntricas de matriz mineralizada hay pequeños orificios donde se encuentran los osteocitos que extienden sus prolongaciones a través de canalículos. Los canalículos están conectados entre sí y, eventualmente a los canales de Havers. El conjunto de un canal central, las láminas concéntricas que lo rodean, los canalículos y los osteocitos recibe el nombre de osteón o sistema de Havers. El resto de láminas entre osteones se llaman láminas intersticiales.

### 1.1.1.1.2. El hueso esponjoso o trabecular

Es el principal constituyente de las epifisis de los huesos largos y del interior de la mayor parte de los huesos. Representa el 20% del total.

En este tipo de hueso, las láminas intersticiales están dispuestas de forma irregular formando unos tabiques llamados trabéculas. Forman una estructura esponjosa dejando huecos que están llenos de la médula ósea. Dentro de las trabéculas están los osteocitos que yacen en sus lagunas con canalículos que irradian desde las mismas. Los vasos sanguíneos penetran directamente en el hueso esponjoso y permiten el intercambio de nutrientes con los osteocitos. Este tipo de constitución le permite absorber cargas y le otorga cierto grado de deformidad.

Figuras 1-4: tipos de hueso. Estructura



Figura 1



Figura 2

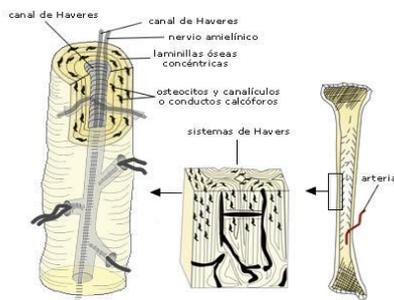


Figura 3

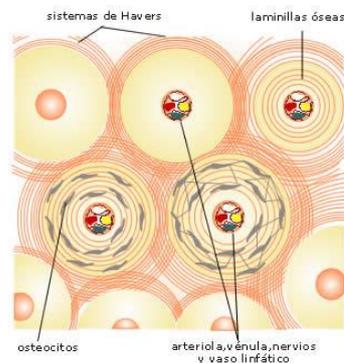


Figura 4

### 1.1.1.2. Elementos celulares

Las células óseas se encuentran dentro del tejido óseo o en el estroma conjuntivo de la médula ósea, rico en células mesenquimales pluripotenciales indiferenciadas (mesenchymal stem cells). Estas células pueden dar origen a cinco estirpes celulares distintas: fibroblastos, osteoblastos, condroblastos, adipocitos y mioblastos, en respuesta a diferentes señales moleculares que inician la cascada de activación de diferentes genes<sup>2</sup>.

#### 1.1.1.2.1. Osteoblastos

Son las células encargadas de sintetizar y secretar la parte orgánica de la matriz ósea durante su formación. Se encuentran en la superficie del tejido óseo ya que este sólo puede crecer por aposición<sup>1</sup>.

Poseen origen en las células mesenquimales pluripotenciales de la médula ósea (proosteoblasto) que proceden del tejido conectivo. Los factores de transcripción más importantes involucrados en la diferenciación hacia la estirpe osteoblástica son Runx2 y Osx y las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs).

El sistema wnt/ $\beta$ -catenina es también un importante regulador, induce la osteoblastogénesis e inhibe la apoptosis de los osteoblastos y los osteocitos. Wnt tiene un receptor de membrana denominado Frizzled y dos correceptores, LRP5 y LRP6<sup>3</sup>. Tanto Runx2 como LRP5 son dianas de estudio en la actualidad por su relación con la osteoporosis<sup>4</sup>.

Los osteoblastos emiten procesos citoplasmáticos hacia la matriz que comunican con la red de osteocitos y con osteoblastos vecinos. Esta conexión se realiza a través de proteínas transmembrana o integrinas, a destacar la conexina 43<sup>5</sup>.

Son responsables de la dirección de la disposición de las fibrillas de la matriz extracelular y de la mineralización de la sustancia osteoide (por la enzima fosfatasa alcalina). También sintetizan citoquinas<sup>6</sup> involucradas en la reabsorción ósea y factores de crecimiento.

Tras su maduración desaparecen por apoptosis o se transforman en células limitantes o de revestimiento o en osteocitos (15%)<sup>7</sup>.

#### 1.1.1.2.2. Osteocitos

Los osteoblastos que quedan en el interior de la matriz tras su mineralización, se transforman en osteocitos. Los osteoblastos, osteoclastos y células limitantes se hallan en la superficie ósea, mientras que los osteocitos están en el interior.

Los osteocitos son las células más abundantes del hueso (10 veces más que los osteoblastos). Tienen forma estrellada y se sitúan en el interior de lagunas u osteoplasmas. Se disponen entre lamelas, en un patrón concéntrico, alrededor del lumen central de los osteones.

Participan en la síntesis y mineralización de la matriz osteoide, aunque su función principal es la de controlar el remodelado óseo, detectando las variaciones mecánicas de las cargas, fenómeno denominado mecanotransducción<sup>8</sup>. Responden a la deformación de manera que cuando el flujo de fluido intersticial a través de la red canalicular osteocítica fluye en sentido opuesto a las regiones de alta tensión se inician las señales mecánicas y electrocinéticas.

Regulan la concentración extracelular de calcio y fosfato a corto plazo. Dicho proceso se denomina osteolisis osteocitaria y supone una entrada y salida al compartimento óseo de unos 500 mg/día de calcio.

### 1.1.1.2.3. Osteoclastos

Son las células responsables de la reabsorción del tejido óseo, participan en los procesos de remodelación de los huesos. Se encuentran en depresiones superficiales de la matriz ósea llamadas lagunas de Howship.

Los osteoclastos contienen la fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP), que permite la desfosforilación de las proteínas.

Proceden de células madre hematopoyéticas medulares denominadas "Unidades Formadoras de Colonias de Granulocitos y Macrófagos" (CFU-GM), precursoras de macrófagos y monocitos<sup>9</sup>.

Los osteoclastos poseen dos áreas especializadas en la membrana: un borde en cepillo, lugar de la reabsorción y otra zona con abundantes microfilamentos e integrinas que sirven de anclaje a la matriz.

Estas células se movilizan hacia la zona ósea a reabsorber y se adhieren a la superficie por el borde en cepillo sellando la zona mediante las integrinas. La integrina reconoce la secuencia Arg-Gly-Asp (RGD) existente en el colágeno y otras proteínas de la matriz osteoide. El medio se torna ácido por la acción de enzimas como la anhidrasa carbónica y otras proteolíticas como las colagenasas, metaloproteasas, catepsina K, glucuronidasa, etc<sup>10</sup>, que van a originar la reabsorción del hueso mediante su solubilización.

Los osteoblastos son fundamentales para la formación de osteoclastos, el factor estimulante de las colonias de macrófagos (M-CSF) que producen es necesario para la proliferación de los progenitores.

En la osteoclastogénesis existen 3 moléculas clave: OPG (osteoprotegerina, proteína sintetizada por osteoblastos y pre-osteoblastos), RANKL (ligando situado en la superficie de osteoblastos y pre-osteoblastos) y RANK (receptor del anterior situado en la membrana de osteoclastos y pre-osteoclastos)<sup>11</sup>.

El RANKL (receptor activador of NFκB ligand)<sup>6</sup> es una citoquina transmembrana perteneciente a la familia del factor de necrosis tumoral (TNF)<sup>12</sup>. La interacción entre RANKL y su receptor RANK produce una activación de la diferenciación y de la actividad osteoclástica, aumentando la reabsorción ósea.

Los efectos del RANKL se inhiben por la osteoprotegerina (OPG), proteína circulante producida por los osteoblastos y pre-osteoblastos perteneciente a la superfamilia de los receptores de TNF<sup>6</sup>. Por tanto, la diferenciación osteoclástica depende del equilibrio entre RANKL y OPG.

Pero, existen además, otros moduladores que intervienen en dicha regulación como son IL-1, TNFα y TGFβ (activadores) y, con capacidad inhibitoria, INF-β, INF-γ, IL-4 y calcitonina.

Se han estudiado al menos una veintena de loci relacionados con la regulación osteoclástica.

### 1.1.1.3. Matriz extracelular

La matriz es muy abundante en el tejido óseo y está compuesta por un componente orgánico (proteínas) y un componente inorgánico (sales minerales).

La proporción química es similar en todos los huesos: 25% agua, 45% de sales minerales y un 30% de materia orgánica.

#### 1.1.1.3.1. Componente orgánico

La matriz orgánica representa el 90% del volumen óseo. Está formada fundamentalmente por proteínas, entre las que destaca el colágeno, que confieren resistencia a la tensión, pero que también participan en la regulación e integridad del tejido óseo.

#### 1.1.1.3.2. El colágeno

Representa el 90% de la matriz extracelular. Predomina el colágeno tipo I pero también se encuentran pequeñas cantidades de tipo V, VI, VIII y XII.

Se conocen al menos una treintena de genes relacionados con el colágeno, su polimorfismo influye en la resistencia ósea y en la alteración de la biomecánica.

Contiene la secuencia Arg-Gly-Asp (RGD), que es reconocida por las integrinas de superficie de las células óseas .

Los osteoblastos sintetizan la molécula de colágeno (procolágeno) y la excretan a la matriz extracelular donde es estabilizada mediante puentes de piridolina entre las hidroxilisinas y las lisinas (aminoácidos característicos del colágeno)<sup>13</sup>. Adquiere la característica estructura de triple hélice que, junto con los enlaces cruzados intermoleculares, genera una estructura porosa estable confiriendo fortaleza al tejido óseo. El ensamblaje se produce tal que las fibras de colágeno son formadas por paquetes de microfibrillas, compuesto por cinco moléculas de colágeno juntas pero desplazadas. Así en un corte transversal, cada fibrilla tiene distintas partes de las moléculas de colágeno.

La maduración del colágeno se produce por fenómenos enzimáticos (activación de la lisil-oxidasa) y no enzimáticos (formación de productos terminales glicosados y racemización e isomerización en el telopéptido del colágeno) y son dependientes de la edad. El cambio en las propiedades del colágeno por efecto del envejecimiento o por enfermedades concomitantes, explicaría el aumento de la fragilidad ósea y, en consecuencia, el aumento de fracturas aún manteniendo una densidad mineral ósea dentro de la normalidad<sup>3</sup>.

#### 1.1.1.3.1.2. Proteínas no colágenas

- **Proteoglicanos:** suponen el 10%. Existen cuatro tipos: hialuronano, condroitín-sulfato, biglicano y decorina.
- **Proteínas con ácido  $\gamma$ -carboxi-glutámico:** Son la osteocalcina y la proteína de la matriz con ácido  $\gamma$ -carboxiglutámico.  
La osteocalcina es sintetizada por los osteoblastos y las plaquetas. Representa el 15%. Sus niveles plasmáticos se consideran marcadores bioquímicos de la osteogénesis.

- **Glicoproteínas:** la osteonectina, la fosfatasa alcalina, la osteoprotegerina y las proteínas con el tripéptido RGD (Arg-Gly-Asp).

La osteonectina presenta gran afinidad por el colágeno tipo I, por el calcio y por la hidroxiapatita. Representa el 25% de las proteínas no colágenas. Interviene en la regulación de la adhesión celular entre la matriz y las células.

La fosfatasa alcalina es una enzima que libera fosfato inorgánico a partir de ésteres fosfóricos, necesario para la mineralización. Existen varias isoenzimas y, entre ellas, la ósea, es un marcador de la actividad osteoblástica.

La osteoprotegerina inhibe la resorción osteoclástica, inhibiendo la formación de osteoclastos y su diferenciación. Su producción está regulada por hormonas y citosinas. Los estrógenos regulan la resorción ósea a través de ella y el sistema RANKL.

Las proteínas con el tripéptido RGD, también llamadas SIBLINGS (Small Integrin-Binding Ligand, N-linked Glycoprotein) son fundamentalmente cinco: osteopontina, sialoproteínas óseas, fibronectina, trombospondina y vitronectina. Son glicoproteínas fundamentales en los procesos de remodelado y regeneración óseos, con una secuencia Arg-Gly-Asp (RGD) que es reconocida por las integrinas de los osteoblastos y los osteoclastos (avβ3, entre otras). También actúan como receptores de superficie de las células óseas permitiendo la adhesión de las células a la matriz extracelular y activando señales.

- **Proteínas morfogenéticas óseas:** son factores de crecimiento y citoquinas que intervienen en la diferenciación, crecimiento y proliferación de las células de forma autocrina o paracrina<sup>14</sup>. Los polimorfismos de los genes involucrados en las proteínas morfogenéticas óseas se han asociado a alteraciones esqueléticas y aumento de la susceptibilidad a la osteoporosis.

### 1.1.1.3.2. Componente mineral

La matriz inorgánica es un importante reservorio mineral. Está formado por calcio, fosfato y carbonato (en proporciones de 10:6:1) en forma de pequeños cristales de hidroxiapatita  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  y, en menor proporción hay magnesio, sodio, potasio, manganeso y flúor. El calcio y el fósforo inorgánico proceden del plasma sanguíneo y son mediadores de su regulación la vitamina D y la parathormona.

La hidroxiapatita confiere al hueso resistencia a la compresión y ésta depende de una correcta mineralización. Los minerales se depositan entre las fibras de colágeno y dentro de ellas y los cristales se alinean en paralelo. A medida que el proceso avanza, disminuye la cantidad de agua y de proteínas no colágenas. La mineralización primaria se produce en los primeros meses y la secundaria tiene una duración de años. El grado de mineralización depende de la tasa de remodelado y ésta no es homogénea en todas las áreas óseas. Por ello, las fracturas serán más frecuentes en zonas con una alta o baja mineralización donde la organización estructural (calidad ósea) esté más afectada.

## 1.1.2. Remodelado y resistencia ósea

El hueso es un tejido metabólicamente activo que experimenta un continuo proceso de remodelado, lo que le confiere la capacidad regenerativa y de adaptación funcional. Se renueva anualmente un 10% del esqueleto (3% del hueso cortical y 30% del hueso trabecular).

El remodelado influye en los componentes de la calidad ósea: la microarquitectura, el grado de mineralización y el acúmulo de daño microscópico.

Durante la juventud, el remodelado mantiene la masa esquelética, mientras que el envejecimiento, la menopausia y distintas enfermedades alteran el balance hacia un predominio de la resorción sobre la formación, lo que ocasiona una pérdida ósea. El cruce entre formación/resorción ocurre habitualmente en la cuarta década de la vida.

El proceso de remodelado tiene lugar en las unidades básicas de remodelado (BMU), formadas por los tres tipos celulares presentes en el hueso. Se componen de un frente de osteoclastos seguido de un grupo de osteoblastos, un aporte vascular y nervioso, y tejido conectivo. Su vida media es de entre seis y nueve meses y se calcula que en un determinado momento están activas entre 1,5 y 2 millones de estas unidades. Su regulación es debida a factores del microambiente óseo y a la influencia de factores hormonales, fuerzas mecánicas locales y cambios ocurridos en el hueso como consecuencia del envejecimiento o daños por fatiga<sup>15</sup>.

### 1.1.2.1. Funciones del remodelado

La principal función del proceso de remodelado es el mantenimiento de las características mecánicas del hueso a través de la sustitución de las zonas dañadas por hueso nuevo.

También es responsable de la organización espacial del hueso a la carga mecánica experimentada en cada momento y contribuye a la homeostasis mineral y especialmente al balance fosfocálcico.

### 1.1.2.2. Regulación de la resorción ósea

El proceso de resorción ósea está controlado por la interacción entre las células osteoblásticas y osteoclásticas.

Como se ha descrito previamente, las células encargadas de la resorción son los osteoclastos, que son activadas por las células del estroma, de la línea osteoblástica, que expresan el ligando del activador del receptor de NFκB (RANKL).<sup>16</sup>

La unión de RANK-RANKL en los proosteoclastos potencia la actividad osteoclástica: aumenta su diferenciación y disminuye la apoptosis de los osteoclastos. La unión RANKL-RANK es inhibida por la osteoprotegerina (OPG), que se une al RANKL e impide la activación osteoclástica<sup>17</sup>.

Con respecto a las citocinas, parece que incrementan la actividad osteoclástica, la interleukina 1 (IL-1), interleukina 6 (IL-6), factor de necrosis tumoral α (TNF α) y la

prostaglandina E2 sin embargo, el transforming growth factor  $\beta$  ( TGF  $\beta$ ) reduciría la pérdida ósea.

La parathormona (PTH), la 1,25 dihidroxi-vitamina D y las hormonas tiroideas, incrementan la expresión de RANKL, por lo que aumentan la resorción ósea<sup>18</sup>.

Los estrógenos aumentan los niveles de OPG cuyo efecto se potencia con la supresión de la síntesis de IL-1, IL-6, PGE2, GM-CSF y TNF $\alpha$ , frenando la diferenciación y activación de los proosteoclastos. Los estrógenos también actúan sobre los osteoclastos ya activados, incrementando su apoptosis, tanto directamente como potenciando la síntesis de TGF  $\beta$ <sup>19</sup>.

La calcitonina inhibe directamente la actividad osteoclástica.

La fragilidad ósea aumenta por la resorción debido a la disminución de la densidad mineral pero también por diversos acontecimientos como la erosión de las espículas del hueso esponjoso y el aumento de porosidad en el hueso cortical. Además, el proceso de formación ósea requiere más tiempo que el de resorción, por lo que si el recambio óseo está muy acelerado, se compromete la mineralización, con posterior incremento de la fragilidad del hueso. Todo ello explicaría la asociación, independiente de otros factores como la densidad mineral ósea, del riesgo de fracturas con una tasa elevada de resorción ósea, así como que la inhibición terapéutica de la reabsorción puede conseguir resultados, en cuanto a la prevención de fracturas, superiores a los esperables por el mero aumento de la masa ósea<sup>20</sup>. Estos fenómenos explican que en el riesgo de fractura y en consecuencia, el concepto de fragilidad ósea está implicada la cantidad de masa ósea pero también la calidad del hueso.

### 1.1.2.3. Regulación de la formación ósea

Los osteoblastos son las células encargadas de la formación ósea. Como se refiere anteriormente proceden de la diferenciación de células del estroma por la interacción de factores locales y sistémicos. Las células precursoras, pueden madurar hacia osteoblastos o adipocitos, en dependencia del estímulo al que se sometan<sup>21</sup>.

Se conoce que los niveles de IGF-1 (factor de crecimiento insulínico tipo 1) disminuyen progresivamente con la edad y existen estudios clínicos que demuestran una asociación entre osteoporosis y su disminución<sup>22</sup>.

Dentro del control osteoblástico las hormonas más importantes son la GH y sus mediadores y las hormonas sexuales (aunque la compleja asociación de éstas y los procesos de formación - reasorción ósea e implicación de factores locales no está claramente bien establecida)<sup>23</sup>.

Los corticoides disminuyen la formación ósea a través de diversas vías (alterando el metabolismo de la vitamina E y de la producción hormonal).

Las proteínas morfogenéticas óseas inducen la diferenciación de las células osteoblásticas y son reguladas por factores locales<sup>14</sup>. Así, mutaciones del gen SOST (gen codificante de la esclerostina, proteína que inhibe la actividad BMP) pueden identificarse en familias con una elevada masa ósea (osteopetrosis).

También se han implicado otros factores de crecimiento como el fibroblast growth factor y el platelet-derived growth factor, péptidos como activina, inhibina, amilina, etc,

factores de transcripción, factores de señalización como el low-density-lipoprotein receptor-related protein-5, etc.

#### **1.1.2.4. Regulación del remodelado óseo**

El proceso de formación y resorción ósea se combina en la unidad multicelular básica (BMU).

Como se ha descrito previamente, la fase resortiva implica que los osteoclastos se adhieren al hueso y producen una excavación, con una duración de 2 a 4 semanas. Tras su apoptosis se inicia la fase de formación ósea y los osteoblastos cubren el área excavada y segregan el osteoide, que posteriormente será mineralizado. La duración de esta fase es de 4 a 6 meses pero se prolonga hasta más de un año para la consolidación de la mineralización. No se conoce si la activación de los osteoblastos se produce en serie, es decir, cuando ha concluido el papel de los osteoclastos, o en paralelo, activación simultánea.

Durante la etapa postmenopáusica, el déficit de estrógenos estimula la activación de las BMU, con un recambio óseo acelerado, se produce un desbalance del remodelado, prolongándose la fase de resorción (por reducción de la apoptosis osteoclástica) con acortamiento de la fase de formación. También se produce un incremento de los osteoclastos reclutados, con incapacidad de los osteoblastos para rellenar el espacio generado<sup>24</sup>. Este fenómeno conlleva a una repercusión en la microarquitectura y resistencia del tejido óseo. Se produce un aumento de la perforación y separación de las trabéculas, sobre todo las horizontales (responsables de la resistencia a la sobrecarga mecánica) y se aumenta la porosidad cortical aumentando la fragilidad ósea y, en consecuencia el riesgo de fractura.

Las fuerzas biomecánicas también están involucradas en la regulación ósea. Frost<sup>24</sup> describió la existencia de un mecanostato, sensible a los cambios de carga esquelética, capaz de adaptar la masa y su distribución a las fuerzas mecánicas medioambientales.

En condiciones basales, las unidades se mantienen en el modo de conservación esquelética. Si existe un incremento de las cargas se induce formación ósea, como ocurriría con la práctica de deporte pero si por el contrario, disminuyen las cargas, como ocurre con la inmovilidad, se induce el modo de desuso, aumentando el recambio, con pérdida neta de hueso.

La pérdida de masa ósea que ocurre en la posmenopausia es similar a la del modo denominado de desuso. Existe una disminución de la sensibilidad del mecanostato, alcanzando un nuevo nivel de equilibrio.

### 1.1.2.5. Marcadores bioquímicos del remodelado óseo

Clásicamente se han subdividido en marcadores de la formación y de la resorción, si bien algunos de estos marcadores pueden reflejar ambos procesos<sup>25,26</sup>.

#### 1.1.2.5.1. Marcadores de formación ósea

- **Fosfatasa alcalina:** es el marcador más utilizado en la práctica clínica. En los individuos sanos la mayoría proviene de la isoenzimas hepática y ósea ( en la misma proporción). Se puede detectar específicamente la isoforma ósea aunque existe reactividad cruzada.
- **Osteocalcina:** proteína sintetizada por los osteoblastos maduros, odontoblastos y condrocitos. Se caracteriza por contener tres residuos del aminoácido ligador de calcio, el ácido gammacarboxiglutámico. Sus niveles reflejan la actividad osteoblástica.
- **Propéptidos terminales del procolágeno I:** son los fragmentos procedentes de la ruptura del colágeno tipo 1 recién formado. Los osteoblastos sintetizan la molécula de procolágeno y tras su secreción las endoproteinasas separan los péptidos terminales que pasan a sangre. Se considera que reflejan la fase colágena de la formación ósea.

#### 1.1.2.5.2. Marcadores de resorción ósea

- **Hidroxiprolina:** aminoácido presente en todos los tipos de colágeno. Es liberado tras su ruptura enzimática, excretándose aproximadamente el 10% por orina. La falta de especificidad y su influencia por el colágeno de la dieta ha hecho que quede desplazado por otras determinaciones.
- **Galactosil-hidroxilisina y glucosil-galactosil-hidroxilisina:** Ambos se sintetizan durante la síntesis de procolágeno. No se pueden determinar directamente por inmunoensayo, lo que ha limitado su amplia utilización clínica.
- **Piridinolina y desoxipiridinolina:** se trata de puentes intermoleculares que estabilizan la molécula de colágeno en la matriz ósea. Cuando el colágeno se metaboliza se liberan y pueden medirse en orina. Los puentes de piridinolina también se encuentran en cartílagos y tendones, por lo que se considera marcador más específicos del recambio óseo los puentes de desoxipiridinolina.
- **Telopéptidos:** hacen referencia a los productos de degradación del colágeno, con puentes procedentes bien de la región amino o carboxi terminal. Pueden determinarse tanto en sangre como en orina. Se consideran los mejores parámetros bioquímicos para la valoración de la resorción ósea en la práctica clínica.
- **Fosfatasa ácida tartrato-resistente 5b:** Es sintetizada y secretada por los osteoclastos durante la resorción activa del hueso. Se determina en suero.
- **Sialoproteína ósea.** Es una fosfoproteína no colágena muy abundante en el hueso. Es sintetizada tanto por osteoblastos como por algunos osteoclastos, si bien recientemente, gracias a la posibilidad de utilizar un inmunoensayo

específico, se ha demostrado que refleja procesos asociados con la resorción ósea.

#### 1.1.2.5.3. Nuevos marcadores del recambio óseo

- **Catepsina K:** enzima proteolítica del osteoclasto que degrada el colágeno tipo I en las regiones helicoidal y telopeptídica. Sus valores en suero reflejan el número de osteoclastos.
- **Fragmentos urinarios de osteocalcina:** fragmentos procedentes de la resorción de la matriz ósea, en estudio.
- **Osteocalcina infracarboxilada.** La osteocalcina requiere la carboxilación de sus tres residuos de ácido glutámico, proceso dependiente de la vitamina K. Se ha descrito que el aumento en suero de la osteocalcina parcialmente carboxilada, en mujeres ancianas, se asocia a un aumento del riesgo de fractura de fémur.
- **Alfa-CTx y beta-CTx:** el telopéptido carboxiterminal tiene en la secuencia un aminoácido, el ácido aspártico, que se puede hallar como forma nativa (alfa-CTx) o isomerizada (beta-CTx). La isomerización se asocia al envejecimiento.
- **Pentosidina:** Se trata de enlaces cruzados que resultan de la modificación no enzimática espontánea, en presencia de azúcares en la matriz extracelular, de las moléculas de colágeno tipo I. Se ha descrito su relevancia en la fragilidad ósea asociada a diabetes tipo 2.

#### 1.1.2.5.4. Utilidad clínica de los marcadores<sup>27</sup>

- **Control terapéutico:** ha sido verificado mediante estudios que los marcadores de remodelado óseo más sensibles y útiles en la clínica serían el telopéptido carboxiterminal (tratamiento antirresortivo) y el propéptido N-terminal del protocógeno (fármacos anabólicos). Su determinación, después de 2 ó 3 meses de tratamiento, permite valorar la efectividad de la medicación sin necesidad de esperar entre 12 y 24 meses para analizar los cambios en la DMO<sup>28</sup>.
- **Predicción del riesgo de fractura:** diversos estudios prospectivos en mujeres posmenopáusicas de edad avanzada muestran una asociación, independiente de la DMO, entre los índices de recambio óseo y el riesgo de fracturas osteoporóticas<sup>29</sup>. Las pacientes que presentaban niveles elevados de marcadores de resorción se relacionaban con un incremento aproximado del doble de riesgo de fracturas vertebrales y no vertebrales en comparación con mujeres en las que dichos marcadores presentaban niveles normales. El estudio EPIDOS<sup>30</sup> relacionó, en las mujeres de edad avanzada, un incremento de marcadores de resorción ósea en orina (telopéptido carboxiterminal) con un aumento del riesgo de fractura de cadera.



## 1.2. Cantidad y calidad ósea como base de la resistencia ósea

La osteoporosis se define como un desorden esquelético que se caracteriza por una disminución de la resistencia ósea, hecho que predispone al individuo a un mayor riesgo de fractura.

La resistencia ósea está determinada por la cantidad mineral ósea y por su calidad, que depende de variables como la composición química de la matriz y de su estructuración espacial.

### 1.2.1. Masa ósea y resistencia a la fractura

La densidad mineral ósea es el parámetro que refleja la cantidad de masa ósea por volumen de un individuo. Representa aproximadamente el 30% de la resistencia ósea. Está determinada por el pico de masa ósea alcanzado sobre la tercera década de vida y por la tasa de pérdida ósea.

Se considera el estándar de oro para el diagnóstico de la osteoporosis y para la valoración del riesgo de fractura ya que una masa ósea baja supone uno de los factores más importantes para la aparición de fracturas por fragilidad del hueso. También es utilizada para la monitorización de un tratamiento y evaluar su eficacia en la ganancia de masa ósea.

#### 1.2.1.1. Factores que influyen en el pico de masa ósea

- **Edad:** la infancia es la época más importante para la adquisición de masa ósea, tras el pico de crecimiento se alcanza el 57% de la masa ósea y a los 18 años se llega al 90%<sup>31</sup>. Es en la tercera década de la vida cuando se alcanza la máxima mineralización. A partir de ese momento se va a producir una pérdida progresiva de la masa ósea. Esta disminución va a depender de los hábitos dietéticos, el ejercicio físico, la toma de tóxicos, enfermedades, etc. La pérdida de masa es aproximadamente de 0.5% por año a partir de los 35 años y de un 5% durante los 5 años posteriores a la menopausia con una estabilización posterior.

Por ello, para la prevención de la osteoporosis, es importante alcanzar la mayor masa ósea dentro del periodo de crecimiento y evitar una gran pérdida de densidad en la madurez.

- **Sexo:** durante la infancia, el tamaño del esqueleto y la densidad mineral ósea son similares en niños y niñas. Pero el patrón de crecimiento entre niños y niñas es distinto, siendo más duradero en los niños. Éstos mantienen un crecimiento prepuberal 2 años más de media que las niñas y el pico de crecimiento puberal dura un año más. Finalmente los hombres obtienen un 10% más de altura y un 25% más de masa ósea<sup>32</sup>. Estas diferencias apoyan la relación de afectación de fractura entre mujeres y hombres de 1,5/1 para fractura de Colles, 7/1 para la fractura vertebral y 2/1 para la fractura de cadera.
- **Genética:** numerosos estudios poblacionales atribuyen alrededor de un 80% de carga genética en la densidad mineral ósea. No obstante la herencia de la

osteoporosis no sigue un patrón monogénico, sino que se considera una patología poligénica, que procede de la interacción de alelos polimórficos comunes con múltiples factores ambientales<sup>33</sup>.

- **Etnia:** los estudios epidemiológicos demuestran que la incidencia de fracturas es mucho menor en personas de raza negra que en los caucásicos. Se ha comprobado mediante tomografía computarizada que la densidad y el tamaño de los huesos es mayor en los primeros, tanto en el esqueleto apendicular como axial.
- **Ejercicio físico y dieta.** El deporte practicado de manera moderada y un aporte adecuado de calcio en la dieta va a favorecer la adquisición de una mejor masa ósea en el período de crecimiento. Un estudio realizado en niños demostró que la aportación de complementos dietéticos con calcio aumentaba de manera significativa la DMO<sup>34</sup>.
- **Situación hormonal:** existen diversas hormonas involucradas en la adquisición y mantenimiento de la masa ósea: hormonas sexuales, GH, IGFs y hormonas tiroideas.

Los estrógenos son las hormonas sexuales más importantes en el desarrollo esquelético. Proceden de la aromatización previa de los andrógenos. La reducción en la producción de estrógenos tras la menopausia es la principal causa de pérdida de densidad mineral ósea en esta etapa. La edad de la menarquía, la regularidad de los ciclos menstruales y la menopausia van a influir en el pico de masa ósea así como en la preservación de la misma.

La hormona de crecimiento también va a ser relevante en la masa ósea, de hecho ante su déficit se va a presentar un retraso en la mineralización. Su acción está mediada por ILGF1.

La función tiroidea también va a ser importante en esta fase de desarrollo, así las niñas con hiperfunción tiroidea presentan una disminución de masa ósea, tanto a nivel de columna lumbar, como en el esqueleto apendicular.

- **Estilo de vida.** La vida sedentaria y los hábitos tóxicos como el tabaco y el alcohol van a influir de manera negativa en la consecución del pico de masa ósea. En un estudio con más de 60.000 mujeres se objetivó que el riesgo de fractura de cadera se incrementaba linealmente con el menor nivel de actividad<sup>35</sup>. Por otra parte, el tabaco altera el metabolismo óseo aumentando los procesos resorptivos y el alcohol presenta una acción antiproliferativa sobre los osteoblastos.

### 1.2.1.2. Medición de la DMO

El patrón de oro para el diagnóstico de la osteoporosis y evaluación de la masa ósea ha sido clásicamente la histología. Debido a ser una técnica invasiva y costosa ha quedado restringida a estudios científicos<sup>36</sup>.

Actualmente se utilizan para la medición de la densidad los métodos indirectos:

- Cualitativa: Radiología simple
- Semicuantitativa: Índices radiológicos (Shing, Meunier...)
- Radiogrametría: Índices de Nordin-Barnet, Morgan...
- Cuantitativa: Técnicas densitométricas
  - 1) Técnicas axiales:
    - a) Densitometría fotónica dual (DPA)
    - b) Tomografía axial cuantitativa (QCT)
    - c) Densitometría radiológica de doble energía (DXA)
  - 2) Técnicas periféricas:
    - a) Densitometría radiológica monoenergética periféricas (SXA)
    - b) Densitometría fotónica simple (SPA)
    - c) DXA periférica (pDXA) (radio, calcáneo, falanges)
    - d) Tomografía periférica cuantitativa (QCTp)
    - e) Ultrasonidos cuantitativos (QUS)
    - f) Radiogrametría digital cuantitativa (QDR)

El más accesible es la interpretación cualitativa de una placa radiológica.

Aunque se trata de la técnica más utilizada, sus limitaciones son conocidas desde el inicio del estudio de la enfermedad<sup>37</sup>. Debe de existir una disminución de masa ósea de entre un 20-40% para poder ser perceptible por el ojo humano en la radiografía simple<sup>38</sup>. Signos característicos, como el remarque de corticales, la trabeculación vertical o las resorciones subperiósticas pueden verse artefactados por la dureza del haz de rayos X, la técnica de revelado o la esclerosis yuxtarticular, que magnifican la radiolucencia ósea.

Los métodos semicuantitativos, como el índice de Singh, han quedado eclipsados por los procedimientos densitométricos, pero deben tenerse presentes en el diagnóstico de aproximación de la osteoporosis. Estos índices tienen una alta especificidad (90%) pero una baja sensibilidad (35%).

En el índice de Singh se describen 7 grados de afectación a medida que van desapareciendo las trabéculas en la imagen ósea. El grado VII representa la normalidad ósea sin adelgazamiento cortical con presencia de todo tipo trabecular. El máximo grado de afectación (grado I) existiría adelgazamiento con ausencia de trabéculas<sup>39</sup>.

#### **1.2.1.2.1. Evaluación de la masa ósea mediante densitometría**

En la década de los 60, Cameron y Sorenson<sup>40</sup> iniciaron los estudios con técnicas cuantitativas con la determinación de la masa ósea gracias a la absorciometría fotónica simple (SPA). Esta técnica permite también la valoración del hueso periférico.

El progreso tecnológico ha permitido el desarrollo de instrumentos capaces de cuantificar la masa ósea en diferentes áreas esqueléticas con una mayor precisión y exactitud.

El fundamento de estas técnicas se basa en la alteración que produce el tejido óseo mineralizado sobre agentes físicos. Se genera una imagen digitalizada en función de la atenuación por absorción que se produce en sendos haces colimados de rayos x de alta y baja energía<sup>41</sup>.

Por su aplicación clínica, se pueden clasificar entre las que permiten evaluar hueso axial (vértebras y cadera) y las que exploran huesos periféricos.

Todas las técnicas han mostrado cierta capacidad de predecir el riesgo de fractura<sup>42</sup>.

La capacidad de predicción del riesgo de fractura de la masa ósea evaluada por densitometría en diferentes sectores anatómicos se asocia a un mayor riesgo relativo de fractura en el mismo lugar anatómico.

En el metaanálisis de Marshall<sup>43</sup> se demostró que el riesgo relativo asociado a la predicción de cualquier tipo de fractura es muy similar en todas las técnicas, tanto axiales como periféricas.

La QCT permite sustraer y analizar el hueso trabecular puro, obteniendo densidades volumétricas (g/ml) mientras que mediante la DXA se debe evaluar conjuntamente el hueso trabecular y cortical.

La DXA calcula los gramos de hidroapatita de calcio de la muestra obtenidos a partir de la equivalencia de los fotones absorbidos por el mineral óseo en relación con el área (cm<sup>2</sup>) de la imagen del contorno del hueso. El coeficiente de ambos datos es la definición de la densidad mineral ósea.

La mejor precisión de la DXA, su menor exposición radiológica (0,5 m Sv; 20 veces menos que QCT) y la ausencia de radiación de dispersión ha hecho de la DXA el patrón de oro en la evaluación incruenta de la masa ósea.

#### **1.2.1.2.1.1. Densitometría radiológica de doble energía (DXA)**

Los diferentes densitómetros DXA se basan en el mismo principio físico ya comentado: 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 cálculo de la densidad se realiza a través de un proceso matemático. Se inicia con la diferenciación del tejido óseo respecto a los tejidos blandos (diferencial de la captación del haz de baja y alta energía), determinación del área explorada (cm<sup>2</sup>), determinación del contenido mineral (g) y con el cociente de ambos se obtiene la densidad por unidad de superficie (DMO = g/cm<sup>2</sup>) en cada subsector de la región ósea explorada.

El tiempo requerido para la prueba ronda los 10-15 minutos y la dosis radiológica recibida por el paciente es muy baja, de 0,5 a 2,4 mSv (cuerpo entero)<sup>44</sup>.

Tras el cálculo de la densidad, se estima la puntuación T (valor que relaciona la densidad del paciente respecto al pico de masa ósea de la población joven sana) y la puntuación Z (valor que relaciona la densidad del paciente respecto a su grupo de

edad y sexo). En ambos casos, se transforma el valor de la DMO en desviaciones estándar respecto al valor medio poblacional.

La estandarización debe realizarse utilizando valores poblacionales válidos, a ser posible, de la misma población estudiada.

En España se dispone de un amplio estudio de la población española a nivel de columna vertebral y de cadera, tanto para hombres como para mujeres<sup>45,46</sup>, cuyos valores para el pico de masa ósea se exponen más abajo. Aunque fueron obtenidos con un densitómetro Hologic, es posible la conversión o estandarización de los valores para otros densitómetros DXA<sup>47</sup>.

A nivel internacional, se han propuesto como referencia de normalidad, por su tamaño muestral y metodología de reclutamiento, los valores obtenidos en el estudio de población norteamericana NHANES III, aunque sólo dispone de estudio de cadera<sup>47</sup>.

*Tabla 1. Valores del pico de masa ósea DMO (g/cm<sup>2</sup>) en población sana española en diferentes sectores anatómicos para Hologic (tomados del Estudio del Grupo de Trabajo en Osteoporosis<sup>45,46</sup>)*

	Hombres	Mujeres
<b>L2-L4</b>	1,030 ± 0,125	1,033 ± 0,106
<b>C. fémur</b>	0,927 ± 0,124	0,840 ± 0,109
<b>Trocánter</b>	0,774 ± 0,115	0,668 ± 0,085
<b>Intertrocantérea</b>	1,195 ± 0,170	1,062 ± 0,116
<b>T. De Ward</b>	0,784 ± 0,173	0,727 ± 0,101
<b>Total</b>	1,031 ± 0,142	0,919 ± 0,097

#### 1.2.1.2.1.2. Indicaciones de la densitometría ósea

En la actualidad no existe un cribado poblacional. La densitometría debe indicarse en la búsqueda selectiva de casos en situaciones clínicas de riesgo, como deformidades vertebrales y osteopenia radiológica, historia de fracturas no traumáticas y monitorización de la respuesta terapéutica.

La OMS considera riesgo muy alto de osteoporosis la asociación de un criterio mayor y dos menores<sup>48</sup>:

##### Criterios mayores

- Menopausia precoz
- Edad > 65 años
- Compresión vertebral por microfracturas
- Fractura por fragilidad > 40 años
- Corticoterapia crónica

- Mala absorción
- Hiperparatiroidismo
- Osteopenia apreciable en la radiografía
- Hipogonadismo
- Tendencia a las caídas
- Historia familiar de fractura osteoporótica

#### Criterios menores

- Tabaquismo
- Abuso de alcohol
- Exceso de cafeína
- Peso < 57 kg ó IMC <19 Kg/m<sup>2</sup>
- Pérdida de peso de un 10%
- Tratamiento crónico con heparina
- Artritis reumatoide
- Antecedente de hipertiroidismo clínico
- Tratamiento con anticonvulsivos
- Baja ingesta de calcio

Respecto a la monitorización terapéutica con la densitometría, cabe señalar que para considerar cambios significativos entre dos determinaciones, en DXA axial, el tiempo medio es de 18-24 meses. Resaltar que los cambios de la masa ósea apenas explican entre un 5 y un 20% de la reducción del riesgo de fractura en los ensayos clínicos con antirreabsortivos<sup>49</sup>. Las causas se deben a que la disminución del riesgo de fractura no sólo se debe al aumento de masa ósea sino que también a alteraciones macro y microestructurales no determinadas en la densidad mineral ósea.

#### **1.2.1.2.2. Evaluación de la masa ósea mediante ultrasonidos cuantitativos (QUS)**

Estos métodos son capaces de cuantificar las modificaciones que produce el hueso sobre dos propiedades físicas de las ondas de ultrasonidos, como son:

- Velocidad de transmisión (SOS): expresada en m/s. Es proporcional al módulo de elasticidad (módulo de Young, específico de cada material) e inversamente a la densidad. A menor densidad menor velocidad de transmisión.
- Atenuación de la amplitud de onda (BUA): expresada en decibelios por megahertzio (dB/MHZ). Cuanto mayor sea la densidad o más compleja la estructura a atravesar mayor será la modificación o atenuación que sufra la onda ultrasónica.

Tienen la necesidad de ser aplicados sobre sectores anatómicos accesibles, periféricos, con poco tejido blando circundante. Inicialmente, se desarrollaron sistemas

de medición sobre rótula pero, en la actualidad, sólo se utilizan en calcáneo, falanges y tibia.

El estudio en el calcáneo incorpora el índice de calidad (QUI), que es un derivado de SOS y BUA. Teóricamente ofrece una información más global. Sin embargo, la mayoría de los estudios con ultrasonidos utilizan como medida SOS o BUA<sup>50</sup>.

La medición con ultrasonidos se trata de una técnica rápida, sin radiación y realizada con equipos accesibles y económicos. Existen estudios que demuestran que la predicción de riesgo de fracturas es similar a la determinación de la masa ósea<sup>51</sup>.

En España existe un estudio poblacional que señala los valores de QUS para el calcáneo referidos al pico máximo<sup>52</sup>, cuyos valores se muestran en la tabla siguiente.

*Tabla 2. Valor medio  $\pm$  DS en población española del estudio de la DMO mediante QUS<sup>52</sup>.*

	Hombres	Mujeres
<b>BUA (db/MHz)</b>	84,5 $\pm$ 18,4	77,8 $\pm$ 15,9
<b>SOS (m/s)</b>	1567,5 $\pm$ 33,3	1.565,8 $\pm$ 30,7
<b>QUI</b>	106,0 $\pm$ 20,2	103,0 $\pm$ 18,4
<b>BMD (g/cm<sup>2</sup>)</b>	0,594 $\pm$ 0,127	0,575 $\pm$ 0,116

En base a criterios epidemiológicos y de correlación con la DXA axial, el punto de corte a partir del cual es más probable el diagnóstico de osteoporosis se sitúa en una puntuación T entre  $-1,5$  y  $-1,8$  (tanto en población americana<sup>53</sup> como en población española<sup>54</sup>).

Se trata de un método útil para el estudio poblacional y de identificación de factores de riesgo<sup>55</sup>. Sin embargo, a pesar de sus características, la densitometría sigue constituyendo el patrón de oro para el diagnóstico de osteoporosis.

## **1.2.2. Calidad ósea y resistencia a la fractura**

La resistencia ósea resulta de la integración de dos variables, la cantidad, como se ha descrito previamente, y de la calidad. La calidad va a depender de la composición química de los materiales orgánicos e inorgánicos que constituyen la matriz y de su estructuración espacial. Dicha estructuración se encuentra jerarquizada en cuatro niveles<sup>56</sup>.

### **1.2.2.1. Nivel macroestructural**

Los factores cualitativos a nivel macroestructural que determinan la calidad ósea son la morfología del hueso y la proporción de los subtipos tisulares que lo componen.

La valoración morfológica de la cadera se puede realizar con el estudio radiológico.

El índice radiológico de Singh se basa en la pérdida progresiva de los haces trabeculares de compresión y tensión a medida que va disminuyendo la masa ósea.

El índice morfológico-cortical de Dorr evalúa la relación del grosor cortical, forma y anchura del canal medular en una placa anteroposterior del fémur proximal.

Existen publicaciones demostrando la relación entre la disminución del grosor cortical con aumento del riesgo de fractura y otras comparando la relación entre los ejes longitudinales del cuello femoral y de la cadera y el ángulo cervicodifisario con aumento de riesgo de fractura, independientemente de la edad y de la DMO.

A nivel vertebral se valora la altura de los cuerpos vertebrales, el grosor cortical, el área de sección transversal y el momento de inercia de la sección transversal. Este principio biomecánico se basa en que la capacidad de un hueso a resistir fuerzas de flexión y torsión se determina por la distancia del endostio respecto al centro del canal medular.

Las características biomecánicas de cada zona van a depender del subtipo de hueso que exista, así en la columna dorso lumbar que debe soportar movimientos de flexo-extensión va a predominar el hueso trabecular y en cuello femoral que transmite cargas hacia miembros inferiores va a predominar el tipo compacto.

#### **1.2.2.2. Nivel microestructural**

El hueso cortical está determinado por los sistemas de Havers, unidades cilíndricas que se disponen formando lamelas circunferenciales. Esta disposición otorga un alto grado de carga con un bajo índice de deformación. Proporciona rigidez al esqueleto. La densidad y disposición espacial de los conductos de Havers, las lamelas y la porosidad cortical determinan la resistencia ósea.

El hueso trabecular está determinado por un entramado multiplanar de trabéculas orientadas según la intensidad y dirección de las cargas. Las trabéculas longitudinales están unidas por puentes horizontales. Esta estructura confiere un mayor grado de deformidad, proporcionando elasticidad al esqueleto, pero, con un menor grado de carga en este subtipo óseo.

Los cambios que se producen en la osteoporosis postmenopáusica se presentan sobretodo en este nivel y afectan mayoritariamente al hueso trabecular. Se produce una disminución del número de trabéculas con adelgazamiento, pérdida de conectividad trabecular, aumento de trabéculas en varilla, menos resistentes, con un acúmulo de microfracturas.

#### **1.2.2.3. Nivel ultraestructural**

Es en este nivel donde el colágeno adquiere relevancia. Sirve como soporte de los componentes inorgánicos y otorga flexibilidad y resistencia a la tracción. La cantidad de colágeno y su estabilidad molecular va a influir en dicha característica.

Por otra parte la hidroxiapatita proporciona dureza y resistencia a la compresión.

#### **1.2.2.4. Nivel nanoestructural**

La forma, el tamaño y la orientación tanto del colágeno como de los cristales también influyen en la resistencia global. Se describe la existencia de polímeros con enlaces de sacrificio que absorben la energía tras un impacto y protegen las fibras de colágeno, otros unen entre sí las fibras y aumentan su resistencia a la separación.

## 1.3. Osteoporosis

### 1.3.1. Definición de la osteoporosis

La osteoporosis es la enfermedad metabólica ósea más frecuente. Es la causa de la mayoría de las fracturas que se producen en personas por encima de los 50 años, entre las que destacan las fracturas de las vértebras, de la extremidad distal del antebrazo y de la proximal del fémur.

Se define clásicamente como una enfermedad sistémica caracterizada por una masa ósea baja y un deterioro de la microarquitectura esquelética, lo que conlleva a un aumento de la fragilidad ósea y, por tanto, del riesgo de fractura<sup>57</sup>. Este concepto quedó instaurado tras consenso en 1991, pero la adquisición de nuevos conocimientos de la enfermedad ha hecho que cambie la definición de la enfermedad.

En 1994, un informe técnico de la OMS<sup>58</sup> estableció los criterios diagnósticos de osteoporosis, basados en la masa ósea, que clasifican a las pacientes de acuerdo a la puntuación T o divergencia en DE respecto al pico de masa ósea de la mujer adulta joven.

- Normal: si presenta una puntuación T mayor de -1.
- Osteopenia: si la puntuación T es igual o menor a -1 pero mayor de -2,5.
- Osteoporosis: una puntuación T de -2,5 o menor.
- Osteoporosis grave o establecida: cuando la osteoporosis densitométrica se acompaña de la presencia de al menos una fractura por fragilidad.

Esta clasificación, aunque no tiene implicaciones terapéuticas, ha permitido homogeneizar universalmente el criterio diagnóstico<sup>59</sup>.

Ha logrado hacer comparables estudios epidemiológicos y hacer similares los criterios de inclusión en ensayos clínicos prospectivos.

Existen, de todos modos, controversias con esta clasificación y el criterio de inicio de tratamiento para la enfermedad: un gran porcentaje de fracturas se presentan en pacientes clasificadas con osteopénicas o incluso con una densidad mineral ósea dentro de la normalidad y existe además, una alta prevalencia de osteoporosis en pacientes de edad avanzada. Por lo que el clínico debe de valorar, además de la densidad, la existencia de otros factores de riesgo de fractura ósea en la toma de decisiones terapéuticas.

Desde el punto de vista de los estudios epidemiológicos se propone emplear como área de determinación la cadera por DXA, utilizando los valores de referencia de normalidad y puntuación T derivados de la población femenina del estudio NHANES III<sup>60</sup>, tanto para el hombre como para la mujer.

La aplicación de los criterios diagnósticos de la OMS en hombres, niños y otros grupos étnicos no está precisada. Existen discrepancias en relación al empleo de estos criterios de la OMS en el varón y no existe acuerdo sobre qué valores de referencia se deben utilizar.

El riesgo absoluto de fractura para un mismo valor de la masa ósea cambia sustancialmente con la edad.

Así, el riesgo absoluto de fractura de cadera en los 10 años siguientes para una mujer de 45 años con osteoporosis densitométrica es de 2,2%, similar al de una paciente de 75 años con una masa ósea normal ( $-1 T$ ), a pesar de que sea unas 5 veces superior al de una mujer de su edad con masa ósea normal.

La puntuación Z, desviaciones estándar respecto a su grupo de edad y sexo, evalúa el riesgo futuro de fractura para su edad. Esta desviación es la recomendable cuando la Población de estudio se trate de niños o bien, adultos jóvenes<sup>61</sup>.

En el año 2001, fruto de un nuevo consenso auspiciado por el National Institute of Health (NIH)<sup>62</sup>, aparece una nueva definición para la osteoporosis que es la que aceptamos en el momento actual.

La osteoporosis se considera “un trastorno generalizado del esqueleto caracterizado por una alteración de la resistencia ósea que predispone a la persona a un mayor riesgo de fractura”

### 1.3.2. Clasificación de la osteoporosis

#### 1.3.2.1. Osteoporosis involutiva o primaria

Es el grupo de OP más frecuente. Se produce con el transcurso de los años.

- **OP posmenopáusica o tipo I:** se produce en la mujer como consecuencia del cese de la función ovárica; la pérdida ósea se acelera y afecta especialmente al hueso trabecular, siendo características las fracturas vertebrales por aplastamiento y las de la extremidad distal del antebrazo.
- **OP senil o tipo II:** se produce en ambos sexos, en edades más avanzadas, consecuencia de la pérdida de cantidad y alteración de la calidad ósea que progresivamente tiene lugar con el transcurso de los años. Esta pérdida no es tan acelerada como en el tipo I y afecta tanto a hueso trabecular como cortical, siendo características la fractura de cadera, además de las de pelvis, húmero proximal y vértebras (cuñas múltiples).

#### 1.3.2.2. Osteoporosis secundarias

Existe una causa capaz de producir el trastorno, independientemente de la menopausia y la edad. Las posibles etiologías son muy numerosas:

- **Endocrinopatías:** hiperparatiroidismo, hipertiroidismo, hipercortisolismo, déficit GH, diabetes mellitus tipo I, hipogonadismo femenino (hiperprolactinemia, amenorrea hipotalámica, anorexia nerviosa, menopausia precoz), Hipogonadismo masculino (fallo gonadal primario o secundario).

- **Enfermedades digestivas:** síndromes de malabsorción (celiaquía, enfermedades inflamatoria intestinal, etc.), gastrectomía subtotal, cirrosis hepática, cirrosis biliar primaria, ictericia obstructiva crónica.
- **Desórdenes hematológicos:** mieloma múltiple, linfomas, anemias hemolíticas, mastocitosis sistémica.
- **Conectivopatías:** artritis reumatoide, osteogénesis imperfecta, síndrome de Marfan, síndrome de Ehlers-Danlos, homocistinuria.
- **Drogas:** alcohol, heparina, corticoides, anticomiciales, ciclosporina, tiroxina, análogos de GnRH, quimioterápicos, litio, diuréticos de asa.
- **Alteraciones de la nutrición:** déficit de calcio y vitamina D, dietas hiperproteicas, cafeína, alcohol, anorexia nerviosa.
- **Otros:** inmovilización, hipercalciuria, postrasplante.

### 1.3.3. Epidemiología de la osteoporosis

Las fracturas óseas tienen una distribución bimodal. En la adolescencia y en la vejez se producen el mayor número de fracturas.

En la primera, las causas son de origen traumático mientras que en la segunda el origen es osteoporótico.

Existe, además, una localización anatómica asociada a las fracturas osteoporóticas.

En la osteoporosis tipo I posmenopáusica, se producen típicamente las fracturas del extremo distal del radio o fractura de Colles, costillas y vértebras debido, en mayor parte, porque en los primeros años tras la menopausia, aproximadamente alrededor de los 60 años, la pérdida de masa ósea se produce fundamentalmente a nivel del hueso trabecular, como se ha comentado previamente en la definición, pero se ha de añadir a este hecho un patrón característico de caídas, que hace que aumenten considerablemente este tipo de fracturas.

En la osteoporosis senil, a partir de los 70-75 años, aparecen las fracturas de fémur proximal, que están más relacionadas con la pérdida cortical de masa ósea y otros factores relacionados con la edad avanzada tales como la pérdida de visión, la facilidad de caídas, la pérdida de fuerza y masa muscular, el uso de somníferos o la demencia senil.

La proporción de fracturas en hueso trabecular en la mujer respecto del hombre es de 8 a 1 y en hueso cortical se reduce a 2:1.

En 1995 Melton y cols. estimaron la prevalencia de osteoporosis según los criterios de la OMS en mujeres de raza blanca mayores de 50 años, siendo del 15% cuando se mide en una de las tres localizaciones habituales (columna, cadera o muñeca) y del 30% cuando se mide en todas ellas<sup>63</sup>.

La prevalencia aumenta con la edad desde el 15% para las edades comprendidas entre 50 y 59 años hasta una prevalencia mayor al 80% para las mujeres con una edad superior a 80 años<sup>64</sup>.

Según los datos del estudio de Looker et al en varones mayores de 50 años la prevalencia de osteoporosis es de un 8%<sup>65</sup>.

Según las revisiones de autores en nuestro país<sup>66</sup> en España se calcula que 2 millones de mujeres y 800.000 varones presentan osteoporosis.

En un estudio de Díaz Curriel y cols., en el que se realizó DXA a 1.305 mujeres españolas entre 20 y 80 años, se encontró una prevalencia de osteoporosis en mujeres >50 años del 26,07% (IC 95%, 22,57-29,57%)<sup>67</sup>.

Los estudios en varones indican que la prevalencia es del 8,1% en mayores de 50 años<sup>68</sup> y asciende con la edad hasta el 11,3% en mayores de 70 años.

La consecuencia más directa de la osteoporosis es el incremento de la incidencia de fracturas por fragilidad. Las fracturas osteoporóticas son aquellas localizadas en zonas de baja DMO, o bien aquellas que ocurren tras una caída desde la propia altura.

La presencia de fracturas por fragilidad se asocia a un mayor riesgo de presentar nuevas fracturas osteoporóticas, así como a un aumento de la mortalidad y una disminución de la calidad de vida en varones y mujeres<sup>69</sup>.

### **1.3.4. Factores de riesgo de la osteoporosis**

#### **1.3.4.1. Factores de riesgo no modificables:**

- Edad: la incidencia de osteoporosis aumenta con la edad.
- Raza: existe mayor prevalencia en las razas blanca y oriental.
- Sexo femenino: en las mujeres existe mayor prevalencia debido a su menor masa ósea y al efecto del hipoestrogenismo posmenopaúsico.
- Antecedente familiar: estudios de asociación familiar corroboran el factor genético que presenta la osteoporosis.

#### **1.3.4.2. Factores de riesgo modificables:**

- Relacionados con el aumento de la fragilidad ósea:
  - Déficit hormonal ( estrogénico o androgénico)
  - Fármacos: glucocorticoides, anticonvulsiantes, anticoagulantes, quimioterapia
- Enfermedades crónicas:
  - Enfermedades que alteran metabolismo del calcio o vitamina D: hiperparatiroidismo, gastrectomía, cirrosis, hipertiroidismo, hipercortisonismo
  - Enfermedades que requieren inmovilización prolongada
  - Enfermedades reumáticas que asocian osteoporosis: artritis reumatoide y lupus

- Enfermedades mentales: anorexia, depresión, esquizofrenia
- Factores dietéticos:
  - Nutricionales: déficit de calcio
  - Actividad física reducida
  - Bajo peso
  - Baja exposición solar
  - Tabaco
  - Alcohol
  - Dieta con alto contenido en sal
  - Consumo excesivo de cafeína
- Factores relacionados con las caídas:
  - Demencias
  - Enfermedades neuromusculares
  - Consumo fcos: sedante, neurolépticos
  - Niveles inadecuados vitamina D

### **1.3.5. Estimación del riesgo de fractura ósea**

#### **1.3.5.1. Densidad mineral ósea y riesgo de fractura**

La relación entre la densidad mineral ósea y el incremento del riesgo de fractura está establecida por numerosos estudios. Ahora bien, el cálculo de la densidad se puede establecer por diversas técnicas entre las que destaca la densitometría de doble fotón. La denominada densitometría ultrasónica probablemente aporta información útil pero es una técnica de poca precisión en la estimación de la densidad y por ello probablemente debería cambiarse de término para referirse a ella.

Efectivamente, la ultrasonografía cuantitativa, descrita previamente, se ha introducido como técnica no invasiva para la estimación del riesgo de fractura. Una revisión sistemática obtuvo correlación entre valores disminuidos de atenuación y velocidad del sonido con aumento del riesgo de fractura<sup>70</sup>.

Pero la técnica más utilizada para la predicción del riesgo de fractura es la densitometría ósea. En el metanálisis de Marshall<sup>43</sup> se publicó que la determinación de la masa ósea en cualquier lugar del esqueleto tiene similar predicción de riesgo para un descenso de 1DS de la DMO, aunque la precisión de ésta es superior con la medición en cadera y columna lumbar. El riesgo de fractura se incrementa en un factor que va de 1.4 a 2.6 por cada DS que disminuye la DMO, dependiendo de la localización de la medición y del tipo de fractura. Este estudio se establece como referente para predecir el riesgo de fractura con la determinación de la DMO pero

concluye que no permite identificar de manera individual el riesgo de fractura por lo que no se debe recomendar como método de screening en la población.

La DMO es el principal factor de riesgo con capacidad predictiva para la fractura osteoporótica pero su efectividad se puede mejorar considerando otro factor independiente de marcado peso como es la edad<sup>71</sup>. En 2005 otro metanálisis relacionó DMO con riesgo de fractura incluyendo variables como la edad y el sexo<sup>72</sup>.

Es por ello, que el cálculo aislado de la densidad mineral ósea para la indicación terapéutica en la osteoporosis posee una baja sensibilidad. No es un método idóneo para la prevención de las fracturas, ya que la gran mayoría se van a producir en pacientes en el rango de la osteopenia<sup>73</sup>.

La fractura es la consecuencia de la conjunción de traumatismo-requerimiento de resistencia por un lado, y de grado de resistencia ósea por otro. Y éste último a su vez depende de la masa ósea (densidad) pero también de otros múltiples factores que se relacionan con la calidad ósea (y no con la cantidad), como geometría, estructura, microestructura, heterogeneidad, etc. Por tanto, debería interpretarse la DMO como un factor de riesgo de fractura relevante pero no el único.

Es requisito indispensable entonces, para estimar el riesgo de fractura de una mujer, el estudio de los factores de riesgo asociados que contribuyen a que se produzca o no la fractura ósea.

Para ello existen escalas predictoras de baja masa ósea cuyo objetivo en origen era seleccionar a las pacientes candidatas a la realización de una densitometría, y en la actualidad, también para orientar decisiones terapéuticas en mujeres con osteopenia.. En dichas escalas se realiza una combinación de los factores de riesgo conocidos para la osteoporosis.

Las más empleadas han sido la ORAI (Osteoporosis Risk Assessment Tool, realizada sobre población de origen canadiense) y la SCORE (Simple Calculated Risk Estimation, basada en población estadounidense) ambas presentan una sensibilidad mayor del 90% en mujeres con más de 50 años y una especificidad del 30 al 50%<sup>74</sup>. Destacar también la valoración de la NOF (National Osteoporosis Foundation) que estableció una serie de factores de riesgo cuya presencia se consideraba como elevado riesgo de osteoporosis, mayor obviamente a mayor número de factores y la escala sobre población española creada por Díez y cols<sup>75</sup>.

Como hemos visto, el riesgo de fractura es multifactorial y dependiente de aspectos óseos que exceden a la simple densidad mineral. Y, a nivel clínico, es más interesante estimar el riesgo de fractura en una paciente que el riesgo de osteoporosis en sí.

El conocimiento de riesgos relativos orienta, pero no refleja realmente el riesgo absoluto de una paciente concreta, y esto debería guiar las decisiones. Por estas razones se crearon nuevas escalas para calcular la probabilidad de fractura.

En este sentido en el año 2001 se creó el índice FRACTURE que mejoraba la validez de las escalas mencionadas previamente y además estimaba el riesgo de fractura por fragilidad pero dicho índice no fue validado para la población española.

Esta restricción fue salvada con el desarrollo de una nueva herramienta creada en el año 2008 en la cual participó una cohorte española: el índice FRAX®.

Se puede disponer con acceso libre on line (<http://www.shef.ac.uk/FRAX/>).

Fue desarrollada por Kanis et al en la Universidad de Sheffield con el patrocinio de la OMS y realiza el cálculo del riesgo absoluto de fractura en los próximos 10 años a partir de factores de riesgo clínicos y, si se dispone de ella, de la DMO<sup>76</sup>.

Dicha herramienta fue elaborada gracias a la colaboración de diversos investigadores que a nivel mundial obtuvieron información sobre los factores de riesgo de fractura de 12 cohortes y al Centro Colaborador de la OMS que cotejó la base de datos poblacional. Se estudiaron los grupos de pacientes prospectivamente en diferentes territorios geográficos utilizando datos individuales primarios. Los grupos de cohortes incluyeron centros en Europa (estudios multicéntricos EVOS<sup>77</sup> y EPIDOS y estudios de centro único en Róterdam, Kuopio, Lyon, Gothenburg y Sheffield), América del Norte (el estudio CaMos y Rochester, EE.UU.), Australia (el estudio DOES) y Japón (Hiroshima). Los participantes tuvieron una evaluación de base, en la que se documentaron los factores de riesgo clínicos de fractura y, en el 75% de los casos, aproximadamente, también se midió la DMO de la cadera. El seguimiento comprendió alrededor de 250.000 pacientes por año en 60.000 hombres y mujeres, durante el cual se registraron más de 5.000 fracturas. Este exclusivo compendio de datos permitió examinar varios factores de riesgo de fractura individuales y sus interrelaciones con otras variables de riesgo, principalmente, edad y DMO.

En el modelo final de FRAX®, el riesgo de fractura de hombres y mujeres se calcula a partir de la edad, el índice de masa corporal (IMC) computado según altura y peso, y las variables de riesgo independientes, tales como fractura previa por fragilidad, antecedentes de fractura de cadera en los progenitores, tabaquismo actual, uso prolongado de glucocorticoides orales, artritis reumatoidea, otras causas de osteoporosis secundaria y consumo diario de alcohol equivalente a 3 ó más unidades por día.

También se puede añadir la DMO del cuello del fémur (cadera), preferentemente como un T-score. Es importante tener en cuenta que, tanto en hombres como en mujeres, el T-score debe obtenerse a través de la base de datos NHANES III para mujeres caucásicas entre 20 y 29 años de edad.

La gran muestra utilizada para elaborar FRAX® permitió examinar la relación de cada factor de riesgo con la edad, sexo, duración del seguimiento, y para las variables continuas (DMO e IMC), la relación de riesgo con la variable en sí.

Se trata de una herramienta útil para identificar al paciente con riesgo de fractura y de ayuda en la toma de decisión terapéutica.

El dato obtenido tras la inclusión de las variables en dicha aplicación es el % de riesgo absoluto de padecer una fractura en los próximos 10 años. Además discrimina la estimación del riesgo de fractura global o denominado en la literatura también como mayor (fractura vertebral, de cadera, antebrazo y húmero proximal) y la estimación del riesgo de fractura de cadera.

El rendimiento de FRAX® ha sido evaluado en once cohortes independientes en Europa, América del Norte, Australia y Japón que no participaron en la elaboración del modelo, lo cual demuestra que FRAX® es una herramienta de amplio alcance. Existen otras validaciones en marcha en otros estudios de hombres y en grupos étnicos no

cubiertos hasta la fecha.

Existen ya publicaciones a nivel mundial analizando en cada medio los resultados de las predicciones de la herramienta FRAX. Un grupo de investigadores en Nevada concluyen que en muchas ocasiones el cálculo FRAX ofrece el mismo resultado cuando se obtiene tanto con la DMO como sin ella y que el factor edad (cuanto menor edad más similitud en las predicciones) es el responsable de dichos resultados<sup>78</sup>.

Otros estudios a nivel nacional obtienen similares resultados<sup>79</sup>.

El primer estudio observacional prospectivo realizado en población residente de Barcelona (estudio Fridex)<sup>80</sup> concluye que la herramienta FRAX® tiene una pobre discriminación para la predicción de fractura global y una buena capacidad para la de fractura de cadera.

Azagra et al<sup>81</sup> en otro artículo publicado en 2011 consideran que la herramienta FRAX® es útil para predecir la presencia de osteoporosis y que su uso combinado utilizando los umbrales de las guías NOGG reduciría a la mitad el número de densitometrías realizadas en nuestra práctica clínica actual.

Existe un informe publicado por el Ministerio de Ciencia e Innovación en el que concluye que, tras el seguimiento de un total de más de 170.000 mujeres, la capacidad predictiva del FRAX® es desigual según la edad de las pacientes y el tipo de fractura.

Se valoró dicha capacidad predictiva de manera retrospectiva, se calculó mediante la razón entre las fracturas esperadas por el modelo y la suma de las observadas durante el período de seguimiento y su intervalo de confianza al 95%. Las conclusiones fueron que la capacidad predictiva de la herramienta FRAX® es aceptable para el cálculo de riesgo de fractura de cadera en mujeres menores de 65 años y para el riesgo de fractura total en las mujeres mayores de 65 años<sup>82</sup>. En dicho estudio se valoraron las pacientes que tenían pautado tratamientos indicados para la osteoporosis como: alendronato, risendronato, raloxifeno, calcitonina, tibolona o estroncio y se concluyó que al desestimarlas no mejoraba la capacidad predictiva del FRAX.®

Existen trabajos publicados en nuestra zona que hacen referencia a la utilidad de la herramienta FRAX® sobre todo en el ámbito de la medicina primaria y acentúan su utilidad en la decisión terapéutica<sup>83,84</sup>.

La mayoría de los autores concluyen que son necesarios más estudios poblacionales para concluir cuál sería la herramienta más adecuada para el asesoramiento y predicción de la fractura osteoporótica<sup>85</sup>.

Otros autores cuestionan la importancia de realizar análisis coste-efectividad adaptados a la realidad española para establecer los límites terapéuticos<sup>86</sup>.

Por otra parte, fue desarrollado un nuevo algoritmo en el año 2009, el QFRACTURE que incluye 26 factores de riesgo a considerar en su versión más reciente. Pero su limitación se debe a que solo ha sido validado para la población británica. También se encuentra disponible en internet: <http://www.qfracture.org>.

## 1.4. Bases genéticas de la osteoporosis

Se ha estimado que en torno al 70% de la resistencia ósea depende en realidad de aspectos genéticos, y también en parte el pico de masa ósea y el ritmo de pérdida (tanto el modificable como el asociado a la edad). Y por otro lado, diversos estudios muestran que a igualdad de densidad mineral unas mujeres tienen más riesgo de fractura que otras en función de múltiples cofactores, pero que alguno de los cuales tiene que ver con aspectos estructurales, en los que a su vez la genética participa probablemente. Es por ello por lo que en la última década se ha intensificado la investigación sobre genética de la osteoporosis.

### 1.4.1. Estudios genéticos

La investigación de genes en enfermedades complejas conlleva seguir varias estrategias:

- Selección de genes candidatos
- Análisis de ligamientos
- Estudios de asociación poblacional
- Análisis en modelos animales

El análisis de ligamientos busca marcadores genéticos anónimos en número muy elevado (barrido genómico) que permitan localizar loci asociados a una característica cuantitativa o rasgo cuantitativo (QTL, siglas en inglés). Se trata de regiones del genoma que contienen genes susceptibles de influir en el rasgo estudiado. De esta manera se localizan los genes “candidatos”. Requiere habitualmente del estudio de familias con varios miembros afectados de la enfermedad.

La estrategia de los estudios de asociación poblacional es buscar la relación de un marcador genético con una enfermedad a través de una población a estudio. Pueden ser estudios retrospectivos de casos y controles o prospectivos de cohortes.

Existen dos tipos de investigación para establecer la relación entre los polimorfismos genéticos (SNP) y el riesgo de aparición de una enfermedad:

- Estudio de un “gen candidato”: se trata de una relación directa entre dicho gen y la aparición de la enfermedad dado el conocimiento científico previo gracias a publicaciones previas o a la evidencia experimental biológica.
- Estudio “indirecto”: se genotipa una gran cantidad de SNP para su asociación a la enfermedad. La ventaja es la no necesidad de conocimiento previo del SNP diana y el inconveniente es la necesidad de genotipar un número muy elevado de SNP.
- El desarrollo en los últimos años de las técnicas de mapeado fino de las variantes génicas asociadas a enfermedades poligénicas, especialmente los análisis globales del genoma (WGA, siglas en inglés), están permitiendo conocer los alelos relacionados con enfermedades complejas, como es el caso de la osteoporosis.

## 1.4.2. Genes implicados en la osteoporosis

Con los conocimientos actuales la osteoporosis se debe considerar como una enfermedad poligénica modulada por factores ambientales donde la predisposición, la patogenia o la respuesta a los tratamientos dependen de la interacción entre diferentes genes o de ellos con factores ambientales<sup>87</sup>.

Los factores genéticos son responsables de hasta el 80% de la variación de la densidad mineral ósea<sup>88,89</sup>. El porcentaje por área anatómica oscila entre el 40-70% en la columna, 70-85% en cadera y 50-60% en muñeca.

La asociación entre genética y densidad mineral ósea se inició gracias al conocimiento de enfermedades de origen genético con herencia monogénica cuyo fenotipo incluye la pérdida o ganancia de DMO. Dentro de estas patologías se incluyen la osteogénesis imperfecta (donde existe una alteración del colágeno tipo 1, principal proteína de la matriz ósea), osteopetrosis, picnodisostosis y el síndrome de osteoporosis acompañado de pseudoglioma.

Pero el análisis de la susceptibilidad genética a la osteoporosis primaria no es sencillo debido al carácter poligénico de la enfermedad y a la importante contribución de factores medioambientales en su desarrollo.

Estudios densitométricos en gemelos han demostrado una concordancia de la DMO mayor en gemelos monocigóticos que en dicigóticos<sup>90</sup>. Otros estudios han concluido que hasta un 40% de pacientes con fractura osteoporótica tenían un antecedente familiar de fractura. Tal es la evidencia de asociación que en el año 2008 la International Osteoporosis Foundation catalogó el antecedente familiar de primer grado como factor de riesgo independiente de la densidad mineral ósea<sup>91</sup>.

Se conocen más de 60 genes relacionados con la OP, los más estudiados son los del receptor de la vitamina D, los de los receptores para estrógenos y el del colágeno de tipo 1<sup>92</sup>.

Una rama de la investigación de los genes involucrados en la osteoporosis se centra en aislar un gen candidato (en el cual es conocida su asociación con dicha patología) y localizar las variantes alélicas comunes (polimorfismos genéticos) relacionadas con alteraciones de la función de las proteínas que codifican.

Dado el alto número de genes implicados es necesario realizar una estrategia de búsqueda para su estudio.

En este sentido, es indudable que el sistema del receptor de vitamina D y su acción genómica, y el de los estrógenos con la suya, han de estar implicados en la regulación de la resistencia ósea y en la fisiopatología de la osteoporosis, y por ende en el riesgo de fractura por fragilidad. E igual puede suceder con otros implicados con la regulación de los anteriores o con los que regulan la producción de colágenos y/o proteínas relevantes para el hueso o para la propia regulación de su remodelado.

Los principales genes involucrados en la osteoporosis y su localización cromosómica se exponen en la *Tabla 3*, y a continuación, revisaremos la información disponible sobre algunos de ellos.

Tabla 3. Principales genes involucrados en la osteoporosis.

Actividad Biológica	Gen	Localización cromosómica
Hormonas relacionadas con metabolismo cálcico	VDR	12q12-14
	ER $\alpha$	6q25
	ER $\beta$	14q22-24
	CT	11p15
	CTR	7q21
	PTH	11p15
	PTHR1	3p22-21
	CYP19	15q21
	GCCR	5q31
	AR	Xq11-12
Citoquinas, factores de crecimiento y receptores	TGF- $\beta$ 1	19q13
	IL-6	7p21
	IGF-1	12q22-24
	IL-1RA	2q14
	OPG	8q24
	TNF- $\alpha$	6p21
Proteínas de la matriz ósea	COL1A1	17q21-22
	COL1A2	7q22
Miscelánea	ApoE	19q13
	HLA-A	6p-21

#### 1.4.2.1. Polimorfismos del gen del receptor de la vitamina D

Los primeros estudios genéticos implicados en la osteoporosis se centraron en el gen del receptor de la vitamina D. En la actualidad un estudio multicéntrico europeo del consorcio GENOMOS realizado a más de 25.000 casos y utilizando el análisis de los polimorfismos Cdx2, FokI, BsmI, Apal y TaqI concluyó que sólo el polimorfismo del promotor de VDR (Cdx2) mostró cierta asociación. Por tanto, por el momento, no se ha demostrado una clara asociación de dicho gen, al menos por sí solo, con la calidad ósea<sup>93</sup>.

#### 1.4.2.2. Polimorfismos del gen del receptor de estrógenos

Los estrógenos desempeñan un papel crítico en la homeostasis ósea como se observa en la disminución acelerada progresiva de la densidad de masa ósea en las mujeres tras la menopausia, y se demuestra por la detención de la pérdida cuando se administran estrógenos a estas mujeres.

Existen dos tipos de receptores para los estrógenos, el alfa o tipo 1 (ESR1) y el beta o tipo 2 (ESR2).

Ambos pertenecen a la superfamilia de los receptores nucleares y están distribuidos de forma distinta en casi todos los tejidos del organismo, coincidiendo en algunos de ellos. ESR1 y ESR2 se comportan como reguladores de la transcripción del ADN, son pues auténticos factores de transcripción.

La asociación del ligando a su receptor promueve su unión a una secuencia específica del ADN denominada elemento de respuesta a estrógeno (ERE), que se localiza en las regiones promotoras de los genes diana. Dicha regulación también puede estar mediada por una interacción proteína-proteína con otros factores de transcripción como la proteína activadora 1 (AP-1), el factor nuclear kappa B (NFkB), el factor específico de promotor tipo 1 (Sp1) y otras proteínas coreguladoras llamadas proteínas de interacción con receptores nucleares (NRIP1), capaces de activar o reprimir la transcripción.

Los genes para los ESR1 y ESR2 se expresan en los osteoblastos, los osteoclastos y las células estromales. Parece que el ESR1 es el principal receptor que media la acción estrogénica en el hueso y tiene una importancia primordial en la regulación de su remodelado, mientras que la acción del ESR2, si bien menos conocida, se ha identificado sobre todo en el hueso trabecular.

#### 1.4.2.3. Polimorfismos del ESR1

El gen del ESR1 se localiza en el brazo corto del cromosoma 6, en la región 6q25, está formado por 8 exones y 7 intrones. Los polimorfismos más importantes se encuentran en las regiones promotoras y son las que determinan el inicio de su transcripción.

La mayoría de los estudios se han dirigido a tres polimorfismos, dos de ellos de tipo RFLP: el PvuII (T397C) y el XbaI (C351G) del intrón 1, y otro de tipo VNTR: (TA)<sub>n</sub><sup>94</sup>.

En un estudio de población japonesa se observó que en las mayores de 60 años, el marcador XbaI por sí solo o en combinación con PvuII estaba asociado con la DMO de cuello femoral<sup>95</sup>. Otro estudio de marcadores dentro del gen *ESR1* en más de 400 familias observó efectos marginales en la DMO femoral con los marcadores rs932477 y rs2228480. Estos mismos autores comunicaron también una asociación entre un haplotipo formado por 7 marcadores y la DMO lumbar<sup>96</sup>.

La asociación de PvuII, XbaI y las repeticiones (TA)<sub>n</sub> fueron estudiadas en más de 2.000 mujeres alemanas ancianas, observándose que las homocigotas para el haplotipo px junto con un bajo número de repeticiones (TA)<sub>n</sub> tuvieron una menor DMO lumbar, junto con un incremento del riesgo de fractura vertebral<sup>97</sup>.

En un gran metaanálisis a partir de más 19.000 casos se llegó a la conclusión de que el homocigoto XX del polimorfismo XbaI presentaba una mayor DMO y un menor riesgo de fractura que las portadoras del alelo x, mientras que el polimorfismo PvuII no estaba asociado con la DMO en estas pacientes<sup>98</sup>.

La relación del gen *ESR1* con la osteoporosis se demostró también en el estudio Framingham en el cual se observaron dos marcadores (rs1884052 y rs3778099) de dicho gen como candidatos para la susceptibilidad a osteoporosis<sup>99</sup>.

#### 1.4.2.4. Polimorfismos del gen del ESR2

El gen que codifica el ESR2 en humanos se localiza en el cromosoma 14, en la región 14q23.2. Tiene 9 exones y su secuencia genómica comprende alrededor de 61,2 Kb.

El primer polimorfismo en *ESR2* fue estudiado en población japonesa y resultó una repetición dinucleótida  $(CA)_n$  altamente polimórfica en el intrón 5<sup>100</sup>.

Los principales estudios realizados en el gen *ESR2* han sido efectuados precisamente en osteoporosis, observándose una asociación entre el polimorfismo de repetición  $(CA)_n$  y la DMO<sup>101</sup>.

#### 1.4.2.5. Polimorfismos del gen del receptor de la hormona estimulante del folículo (FSHR)

El receptor para la hormona estimulante del folículo (FSHR) se encuentra localizado en el cromosoma 2, en la región 2p16.3.

Las mutaciones halladas en este gen se han asociado a clínica de amenorrea<sup>102</sup>.

Los estudios en animales (ratonas castradas) han demostrado que los polimorfismos del gen del FSHR que determinan una hipofunción de este receptor se asocian a una menor pérdida de masa ósea, lo que sugiere que el exceso de expresión de este gen pueda ser la cofactor etiológico del remodelado óseo aumentado tras la menopausia<sup>103</sup>.

#### 1.4.2.6. Polimorfismos del gen de la aromatasa

El gen de la aromatasa (*CYP19A1*) se encuentra localizado en el cromosoma 15, en la región 15q21, y codifica una enzima de la familia del citocromo P450.

Dicha enzima es la encargada de catalizar la transformación (aromatización) de los andrógenos en estrógenos. Se expresa en órganos sexuales como el ovario, el testículo o la placenta y en otros tejidos, fundamentalmente el adiposo, fuente principal de los estrógenos tras la menopausia.

Los estudios que se han publicado con respecto a este gen han identificado varios polimorfismos con asociación variable a la OP<sup>104</sup>.

A este respecto destacar el artículo publicado por Riancho et al<sup>105</sup> en el que relacionan algunos alelos de dicho gen con diferencias en la densidad mineral ósea, principalmente en mujeres postmenopáusicas mayores. En este línea Mendoza et al<sup>106</sup> también han realizado diversas publicaciones en las cuales se correlacionaban los diferentes alelos del gen a estudio con la osteoporosis pero observando diferencias que dependían del índice de masa corporal de la paciente. Se realza la importancia que adquiere el tejido graso en la postmenopausia debido a la aromatización de los estrógenos que se produce en dicha localización.

#### 1.4.2.7. Polimorfismos del gen de la NRIP1

La NRIP1 es una proteína que modula la actividad transcripcional de los receptores de estrógenos. Sus alteraciones se han relacionado con otras enfermedades

dependientes de los estrógenos, pero su posible papel en el desarrollo de la osteoporosis es en la actualidad desconocido.

#### 1.4.2.8. Polimorfismos del gen de la proteína morfogenética de hueso 15

El gen de la proteína morfogenética de hueso 15 (BMP15) está localizado en el cromosoma X, en la región Xp11.2.

Pertenece a la superfamilia de los factores de crecimiento transformantes Beta (TGF-B), junto con el GDF9 (*growth differentiation factor 9*). Su unión a los receptores en las células de la granulosa potencia la producción estrogénica.

La primera mutación del gen de la BMP15 fue descrita en ovejas, animal que presenta ovulaciones únicas como el ser humano. En las heterocigotas se observaron poliovulaciones y embarazos múltiples, mientras en las homocigotas se producía un bloqueo temprano de la foliculogénesis y eran, por tanto, infértiles. Los estudios enfocados en los polimorfismos de dicho gen se han asociado con patología ginecológica como la hiperestimulación ovárica, el fallo ovárico precoz y el síndrome de ovarios poliquísticos<sup>107</sup>. Di Pascuale et al<sup>108</sup> han publicado varios artículos en los que se relaciona la menopausia precoz con polimorfismos en este gen. Aunque estos hallazgos pierden evidencia debido a la investigación de nuevos polimorfismos comunicados por otros autores<sup>109</sup>.

No se ha demostrado en la actualidad su relación directa con la masa ósea, pero debe existir debido a su asociación con el desarrollo folicular y en consecuencia, con los estrógenos.

Existen estudios publicados en población española que relacionan el marcador IVS1+905A>G y el -9C>G, en mujeres diagnosticadas con síndrome de ovario poliquístico, a mayor tasa de anovulación e infertilidad<sup>110</sup>.

#### 1.4.2.9. Interacciones genéticas

Existen numerosas publicaciones que estudian la posible relación de distintas variantes genéticas con enfermedades relacionadas con los estrógenos, pero los resultados son muy variados debido a la compleja interacción genética de las propias enfermedades y a la importancia de los factores medioambientales que influyen en los resultados obtenidos. Este es precisamente el caso de la osteoporosis.

Entre los estudios cabe destacar el trabajo realizado por el equipo de investigadores que fundamenta la actual tesis, el cual originó la publicación de diversos artículos. Una de las publicaciones más importantes fue realizada en la revista Bone en la cual se identificó la asociación que se establece entre la osteoporosis y los patrones digénicos: ESR1-ESR2 y ESR2-NRIP1<sup>111</sup>. Las pacientes portadoras del genotipo ESR2 AG modulado por NRIP1 A+ o ESR1 TT presentaban mayor prevalencia de osteoporosis con una diferencia estadísticamente significativa. Dicho estudio fue pionero en la investigación del gen NRIP1 y su implicación en la osteoporosis postmenopáusica. Este gen codifica una proteína que está involucrada en la fertilidad femenina y relacionada con los quistes luteínicos y la endometriosis. Además otras investigaciones también lo asocian a la acumulación de grasa, fuente principal de los estrógenos en las mujeres postmenopáusicas.

Otra de las publicaciones concluyó que existe una relación de la edad de la menarquía con las interacciones alélicas epistáticas de ESR1 y ESR2<sup>112</sup>.

Esto demuestra que la importancia genética sobrepasa los factores ambientales o socioeconómicos en este aspecto.

En relación con el gen de la BMP 15 no existen evidencias claras con respecto a su asociación con la osteoporosis, pero algunos estudios han verificado la relación de la variante A180T con el fallo ovárico precoz<sup>113</sup>.

Podría pues resultar relevante desde el punto de vista clínico identificar patrones genéticos (monogénicos, digénicos o perfiles de interacción genética) que podrían relacionarse con alto riesgo o bajo riesgo de fractura.

En este sentido, una primera aproximación se ha realizado investigando la posible relación de diversos patrones genéticos con la densidad mineral ósea, base de la cual partió la Tesis Doctoral del Dr. Santalla<sup>114</sup> (publicada por la Universidad de Granada en el año 2008 y dirigida por el Dr. Mendoza, Dr. Gallo y Dr. Salamanca) en la cual no se objetivó una relación monogénica con la osteoporosis en los genes estudiados pero sí se halló una relación estadísticamente significativa en el estudio digénico en el gen de la aromatasa, el NRIP1 y el BMP15.

Sin embargo, una posible limitación de estos estudios es que buscan asociaciones o interacciones genéticas con la densidad mineral ósea, y, como ya hemos visto, aunque correlaciona con el riesgo de fractura lo hace con bastante imprecisión pues no mide el grado de calidad ósea.

Y dado que precisamente el grado de calidad ósea es altamente probable que guarde cierta relación con el patrón genético, y que esto puede ser independiente de la propia densidad mineral ósea, cabe plantearse que el estudio de Santalla no descarta una posible correlación de estos genes con el riesgo de fractura a pesar de todo.

Por ello nos planteamos que investigar si existen patrones genéticos de nuestros genes candidatos que correlacionen con el riesgo absoluto de fractura estimado por el FRAX resulta de sumo interés y no ha sido investigado.

Como hemos visto, el índice FRAX fue diseñado para estimar el riesgo de fractura de cada mujer en la siguiente década, estimación que puede realizarse con y sin el valor de densitometría ósea de cadera; y disponíamos de la información clínica necesaria para aplicar el índice FRAX en nuestra cohorte de mujeres con patrón genético conocido de genes candidatos de osteoporosis. Por tanto, nos pareció de gran interés tratar de identificar si algunos patrones genéticos podrían guardar relación como factor de riesgo o protector para fractura.





## ***2. Hipótesis, objetivos y plan de trabajo***

---



## 2.1 Hipótesis

Existen patrones genéticos en nuestros genes candidatos de osteoporosis que se relacionan con alto y/o bajo riesgo de fractura estimado por el índice FRAX.

## 2.2. Objetivos

### 2.2.1. Objetivo principal

- Investigar la relación entre los diferentes polimorfismos genéticos en los genes candidatos de osteoporosis estudiados y el riesgo absoluto de fractura por fragilidad estimado mediante el índice FRAX®, para identificar posibles asociaciones de patrones genéticos con mayor o menor riesgo de fractura.
- Evaluar si dicha relación es monogénica y/o si existen interacciones entre los distintos genes candidatos que se comporten como factores de riesgo o protectores respecto al riesgo de fractura osteoporótica estimado por el FRAX®.

### 2.2.2. Objetivos secundarios

- Describir la frecuencia de los diferentes alelos de genes candidatos en nuestra población de estudio.
- Investigar la variación en la estimación del riesgo de fractura mediante el índice FRAX en nuestra cohorte en función de conocer o no la densitometría de cadera.
- Diseñar una curva percentilar de riesgo estimado de fractura (FRAX) por edad, que permita identificar mujeres con riesgo elevado o bajo de fractura para su edad.

## 2.3. Plan de trabajo

Para contrastar nuestra hipótesis y cumplir nuestros objetivos nos planteamos el siguiente plan de trabajo:

- En una amplia cohorte de mujeres postmenopáusicas de las que disponíamos de sus datos demográficos y clínicos, así como de su patrón genético para diversos genes candidatos relacionados con osteoporosis (fuente de otros estudios publicados por nuestro grupo), debíamos calcular su riesgo estimado de fractura osteoporótica mediante el índice FRAX.
- Debíamos diseñar las curvas percentilares de riesgo estimado de fractura y realizar el ajuste estadístico para el diseño de un modelo matemático de la curva teórica percentilar de riesgo estimado por edad. Ello nos habría de permitir clasificar a cada mujer respecto a su riesgo de fractura estimado para su edad por comparación con dicha curva percentilar ajustada.
- Seguidamente investigaríamos la existencia de posibles asociaciones entre los diferentes polimorfismos genéticos de dichos genes candidatos y el riesgo absoluto de fractura osteoporótica estimado por el FRAX.
- Y también haríamos estos análisis en los subgrupos de riesgo estimado para su edad bajo, normal y alto de fractura.

## 2.4. Tamaño muestral

Dadas las características de nuestro estudio, nuestro grupo de estudio debía incluir todas las mujeres de las que dispusiéramos de su perfil genético para alguno o todos los genes candidatos de osteoporosis sobre los que pretendíamos investigar.

El máximo disponible eran las 885 mujeres a las que se había determinado uno o varios de dichos patrones genéticos en la amplia cohorte reclutada en un estudio multicéntrico nacional en el que participamos.



### ***3. Materiales y métodos***

---



## 3.1. Población a estudio

Nuestra muestra poblacional la forman 885 mujeres caucásicas, que son una muestra de un estudio más amplio con una gran cohorte de pacientes, incluidas en un estudio multicéntrico, en el cual participaron cinco centros españoles: Hospital Universitario Virgen de las Nieves (Granada), Hospital Universitario de San Juan (Alicante), CEOGA (Lugo), Sanatorio Bilbaino (Bilbao) y la Clínica Diatros (Barcelona).

Se trata de pacientes postmenopáusicas que acudieron a la consulta de ginecología de dichos centros. Todas ellas dieron su consentimiento por escrito para la participación en el estudio.

Previo al inicio del estudio se había obtenido la aprobación de los Comités Ético y de Ensayos Clínicos de cada centro.

Durante el estudio, de cada una de las participantes, se había obtenido información demográfica y clínica exhaustiva, la densidad mineral ósea y se había realizado un análisis sanguíneo para la determinación del patrón genético.

Por tanto, entre los originales y los que nosotros aplicamos para nuestra investigación, las mujeres de nuestro grupo de estudio cumplían los siguientes criterios de inclusión y ninguno de los de exclusión:

### 3.1.1. Criterios de inclusión

- Pacientes postmenopáusicas que acudieron a las consultas de ginecología de los centros referenciados.
- Que dieron su consentimiento para la participación en el estudio genético que requería la extracción de una muestra sanguínea.
- Que tuviéramos disponibles sus datos genéticos determinados en la investigación general (Ensayo Neocodex)

### 3.1.2. Criterios de exclusión

Fueron excluidas todas las pacientes de las que no dispusiéramos de alguno de los siguientes datos:

- Todos los datos relevantes del cuestionario-historia clínica
- Resultado de densitometría ósea
- Estudio y resultado del perfil genético para todos o al menos varios de nuestros genes candidatos a estudiar.

### **3.2. Obtención de la información epidemiológica**

Los datos clínicos habían sido obtenidos a través de un cuestionario desarrollado por consenso por los investigadores clínicos implicados en el estudio multicéntrico (Anexo1). La información recogida incluye ampliamente hace referencia a los factores de riesgo ya conocidos de osteoporosis así como las variables alélicas de los genes estudiados.

### **3.3. Obtención del valor de la DMO**

La medición de la densidad mineral ósea había sido realizada mediante técnicas densitométricas (DEXA). La mayoría de los valores se obtuvieron por absorciometría de doble energía de rayos x (Hologic QDR 1000/W) y en cualquier caso se ha considerado la el valor T para minimizar el efecto de las diferencias entre densitómetros.

### **3.4. Obtención del valor del riesgo de fractura**

Como sea expuesto, se obtuvo el valor del riesgo absoluto estimado de fractura mediante la herramienta informática FRAX® validada para población española.

La información se obtiene con la introducción de los datos clínicos de cada paciente a través del enlace accesible on line en <http://www.shef.ac.uk/FRAX>.

Para cada una de las mujeres se obtuvo el resultado de cuatro riesgos: riesgo de fractura mayor con y sin densitometría ósea y riesgo de fractura de cadera con densitometría ósea.

### **3.5. Obtención de la información genética**

La muestra sanguínea fue tomada en su día en nuestra población estudio con la extracción de 5 ml de sangre periférica en un MagNa Pure LC DNA Isolation kit (Roche Diagnostics) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El DNA se aísla de los leucocitos y para su ampliación se utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (técnica PCR) y uso de cebadores específicos diseñados por Neocodex® para la detección específica de los genes a estudio mediante la utilización de los programas Oligo y GeneFisher (para más información y disponibilidad de los mismos en <http://www.hgmp.mrc.ac.uk>).

## 3.6. Definición de las variables

### 3.6.1. Variables clínicas y demográficas

- Edad: edad de la paciente en el momento del estudio
- Peso: peso en Kilogramos de la paciente en el momento del estudio
- Estatura: talla en centímetros de la paciente en el momento del estudio
- IMC: cálculo del índice de masa corporal de la paciente
- Fumadora: variable cualitativa dicotómica que recoge la presencia o ausencia del hábito tabáquico, independientemente de la cantidad
- Número de cigarrillos al día
- Años fumadora: número de años que lleva fumando la paciente
- Antecedente de fractura previa en la propia paciente
- Antecedente de fractura de cadera en los padres de la paciente
- Corticoides: si tiene pautado tratamiento con corticoides
- Artritis reumatoide: presencia o ausencia de dicha patología en la paciente
- Osteoporosis secundaria: presencia o ausencia de dicho diagnóstico
- Alcohol: si es consumidora de alcohol o no lo es
- Bebidas semanales: número de bebidas alcohólicas a la semana
- Enfermedad paciente: presencia o antecedente de enfermedades en la paciente
- Cáncer paciente: antecedente de cáncer en la paciente
- Enfermedades del padre
- Enfermedades del hermano
- Enfermedades de la hermana
- Enfermedades del abuelo paterno
- Enfermedades de la abuela paterna
- Enfermedades abuelo materno
- Enfermedades de la abuela materna
- Medicación: fármacos que toma la paciente
- Antecedentes quirúrgicos de la paciente: variable dicotómica que indica la presencia o no de dicho antecedente
- Intervenciones previas: tipo de cirugía a la cual fue sometida la paciente
- Edad de la menarquía (1ª menstruación)
- Número de embarazos
- Número de abortos
- Número de fetos vivos
- Edad de la menopausia (última menstruación)
- Tipo de menopausia : natural versus quirúrgica
- Densidad mineral ósea lumbar: resultado de la densitometría medido en  $\text{gr/cm}^2$
- Lumbar T: resultado del T score lumbar de la densitometría
- Femur dmo: densidad mineral ósea del fémur
- Femur T: resultado del T score en fémur
- Tipo de equipo de densitómetro
- Tratamiento antiresortivo: variable dicotómica que señala si la paciente toma o no dicho tipo de tratamiento y si lo había tomado previamente
- Tipo de tratamiento antiresortivo

- Tiempo de tratamiento con antiresorptivos
- Actividad física
- Ciudad de nacimiento
- Provincia
- País de nacimiento
- Ciudad de residencia
- Provincia de residencia
- País de residencia
- Años en domicilio actual
- Ciudad origen del padre
- Provincia del origen del padre
- País de origen del padre
- Ciudad de origen de la madre
- Provincia de origen de la madre
- País de origen de la madre

### 3.6.2. Variables genéticas

- Polimorfismo de un solo nucleótido del gen del receptor de FSH (FSHR): variable cualitativa que expresa la variación en el ADN en un individuo debida a la variación de un único nucleótido del gen FSHR. Se han identificado tres polimorfismos: Asparragina-Asparragina (AA), Asparragina-Serina( AS) y Serina-Serina (SS).
- Polimorfismo de un solo nucleótido del gen del receptor de estrógenos tipo 1(ESR1): variable cualitativa que expresa la variación en el ADN de un individuo de un único nucleótido del gen ESR1. Se han identificado tres polimorfismos: Citosina-Citosina (CC), Timina-Citosina (TC) y Timina-Timina (TT).
- Polimorfismo de un solo nucleótido del gen del receptor de estrógenos tipo 2 (ESR2): variable cualitativa que expresa la variación en el ADN de un individuo de un único nucleótido del gen ESR2. Se han identificado tres polimorfismos: Asparragina-Asparragina(AA), Guanina-Asparragina (GA) y Guanina-Guanina (GG).
- Polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) del gen NRIP1:variable cualitativa que expresa la variación en el ADN de un individuo de un único nucleótido del gen NRIP1. Se han identificado tres polimorfismos: Asparragina-Asparragina (AA), Guanina-Asparragina (GA) y Guanina-Guanina (GG).
- Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) del gen CYP 19 marcador IVS4: variable cualitativa que expresa la variación en el ADN de un individuo de un único nucleótido del gen CYP 19 marcador IVS4. Se han identificado tres polimorfismos: 11,12 y 22.
- Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) del gen CYP 19 marcador UTR3': variable cualitativa que expresa la variación en el ADN de un individuo de un único nucleótido del gen CYP 19 marcador UTR3'. Se han identificado tres polimorfismos: Asparragina-Asparragina (AA), Guanina-Asparragina (GA) y Guanina-Guanina (GG).

- Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) del gen BMP 15 marcador 673C>T: variable cualitativa que expresa la variación en el ADN de un individuo de un único nucleótido del gen BMP 15 marcador 673C>T. Se han identificado tres polimorfismos: Citosina-Citosina (CC), Timina-Citosina (TC) y Timina-Timina (TT).
- Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) del gen BMP 15 marcador 9C>G: variable cualitativa que expresa la variación en el ADN de un individuo de un único nucleótido del gen BMP 15 en la posición 9. Se han identificado tres polimorfismos: Citosina-Citosina (CC), Citosina- Guanina (CG) y Guanina-Guanina (GG).
- Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) del gen BMP 15 marcador IVS1+905 A>G: variable cualitativa que expresa la variación en el ADN de un individuo de un único nucleótido del gen BMP 15 en la posición 905. Se han identificado tres polimorfismos: Citosina-Citosina (CC), Timina-Citosina (TC) y Timina-Timina (TT).
- Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) del gen BMP 15 marcador N103S: variable cualitativa que expresa la variación en el ADN de un individuo de un único nucleótido del gen BMP 15 en la posición 103. Se han identificado tres polimorfismos: Asparragina-Asparragina (AA), Guanina-Asparragina (GA) y Guanina-Guanina (GG).

### **3.6.3. Variables de riesgo estimado de fractura mediante la herramienta FRAX®**

- Riesgo absoluto estimado a 10 años de fractura mayor (sin incluir los datos de la densitometría).
- Riesgo absoluto estimado a 10 años de fractura de cadera (sin incluir datos de densitometría).
- Riesgo absoluto estimado a 10 años de fractura mayor (incluyendo datos de densitometría de cadera).
- Riesgo estimado a 10 años de fractura de cadera (incluyendo datos de densitometría de cadera).

### 3.7. Equilibrio de HARDY - WEINBERG (EHW)

Para la realización de un correcto estudio poblacional genético se debe de calcular si los datos obtenidos mantienen el equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW).

Dicha teoría mantiene que las proporciones relativas de los diferentes genotipos se mantienen constantes de una generación a otra, asegurando de este modo, la diversidad.

Dicho teorema fue formulado en 1908 por el matemático inglés G.H. Hardy y el médico alemán W. Weinberg ) y sigue manteniéndose como uno de los principios básicos de la genética humana.

Para que el equilibrio se mantenga es imprescindible la unión al azar (la panmixia) y la ausencia de influencias externas. Las desviaciones de este equilibrio se deben básicamente a la endogamia (aumenta la homocigosidad), el emparejamiento selectivo y a la deriva genética (resultado de una población con número muy pequeño). Existen otras situaciones en las que no se afecta el emparejamiento aleatorio, pero sí las frecuencias, como son: la selección, la mutación y la migración.

La hipótesis nula que debe de cumplir la población a estudio para mantener dicho equilibrio es:  $p^2 + q^2 + 2pq = 1$ .

Siendo establecido para un locus con dos alelos A y a. La frecuencia alélica homocigótica dominante (AA) vendría representada por  $p$ , la heterocigótica (Aa) por  $2pq$  y la homocigótica recesiva (aa) por  $q$ .

Para realizar el cálculo de dicho teorema se ha utilizado la herramienta bioinformática del Instituto de Genética Humana de Munich, Alemania ,programada por Tim M. Strom y Thomas F Weinker (disponible en <http://ihg.gsf.de>).

Para comprobar que un SNP cumple el EHW se suele utilizar una prueba de bondad de ajuste de  $\chi^2$ . La hipótesis nula es que el SNP cumple con el HWE, por lo que necesitamos obtener p-valores mayores a 0.05, para retener dicha hipótesis. Sin embargo, la prueba de Chi-cuadrado puede tener problemas cuando analizamos un SNP con valores pequeños para un genotipo, en ese caso se suele utilizar un test exacto de Fisher.

En el análisis de las características de nuestro grupo de estudio efectuaremos el análisis del EHW como comprobación de que nuestro estudio no se realiza sobre un grupo de mujeres seleccionadas (desde el punto de vista genético) y se cumple la esperada distribución de la población general.

## 3.8. Análisis de los datos

### 3.8.1. Metodología

Una de las primeras acciones del análisis es determinar el procedimiento que configure una base de datos simple, unificada y que resuma los datos con el fin de disponer de un sistema manejable y adaptable a las necesidades analíticas.

Para cumplir nuestros objetivos y poner a prueba nuestra hipótesis, debíamos analizar cómo se comporta el riesgo estimado de fractura (variable numérica) según el perfil genético de nuestros genes candidatos presente en la mujer. Esto era lo más sencillo, pero estimamos que podríamos reducir el riesgo de perder información relevante si además comparáramos la distribución de perfiles genéticos entre las mujeres de riesgo estimado alto de fractura con las de normal y bajo.

Y además, dado que la edad es un factor de alto impacto en el riesgo de fractura quizás de modo independiente a factores genéticos, y que a mayor edad podría enmascarar nuestros resultados el haber padecido la mujer mayor influencia de factores ambientales, farmacológicos, etc., decidimos que podría resultar de gran valor estratificar a las mujeres en función de su riesgo de fractura en comparación con las mujeres de su propia edad. Ello nos permitiría poder analizar la relación de los patrones genéticos con el riesgo estimado de fractura de modo independiente de la edad.

Con este fin, utilizamos las curvas percentilares de riesgo estimado por edad en nuestro grupo de estudio (percentiles 3, 10, 25, 50, 75, 90 y 97) y con ellas, a través del programa R con el paquete GAMLSS formulamos el modelo matemático con mejor ajuste a dichas curvas de modo que diseñamos las curvas percentilares ajustadas de riesgo por edad que teóricamente debían ser representativas y aplicables a población general. Estas curvas percentilares de riesgo por edad fueron estimadas mediante splines cúbicos en el contexto de los modelos aditivos generalizados para localización, escala y forma (GAMLSS).

Se ajustaron distintos modelos y finalmente se asumió que los datos siguen la distribución Box–Cox t (BCT).

A través del ajuste de las curvas dispusimos de las gráficas que permitieron establecer 5 niveles de riesgo (Muy alto, Alto, Normal, Bajo y Muy bajo) que se corresponden con los siguientes intervalos de percentiles:

- Riesgo ajustado por edad mayor al percentil 90, la paciente corresponde al grupo de muy alto riesgo de fractura.
- Riesgo ajustado por edad entre el percentil 75 y el 90, corresponde al grupo de alto riesgo de fractura.
- Riesgo ajustado por edad entre el percentil 25 y 75, corresponde al grupo de riesgo de fractura normal para su edad.
- Riesgo ajustado por edad entre percentil 25-10, corresponde al grupo de riesgo bajo de fractura ajustado para su edad.

- Riesgo ajustado por edad menor al percentil 10, corresponde con el grupo de muy bajo riesgo de fractura.

En una nueva variable categórica para cada riesgo estimado, cada mujer quedó asignada pues a un grado de riesgo de fractura, que de este modo era independiente de la edad, y se identificó determinando en qué grado de riesgo se encontraba según dichas curvas (una gráfica para cada una de las cuatro variables de riesgo estimado: riesgo de fractura mayor calculado por FRAX® con y sin densitometría, y riesgo de fractura de cadera calculado con y sin densitometría).

Para simplificar el análisis decidimos finalmente agrupar a las mujeres en 3 categorías de riesgo y, de este modo, consideramos grupo de alto riesgo de fractura a las mujeres que presentaban un riesgo situado por encima del percentil 75 para su edad; grupo de riesgo normal a las mujeres con un riesgo estimado entre el percentil 25 - 75 y grupo de riesgo bajo a las mujeres con un riesgo menor al percentil 25.

Una vez determinados los niveles de riesgo se procedió al estudio de las posibles relaciones entre los genes y cada una de las variables de riesgo según el siguiente esquema:

- Relaciones generales entre pares de genes.
- Relaciones generales entre pares de genes teniendo en cuenta riesgos.
- Relación entre riesgo agrupando en 3 niveles (Alto, Normal, Bajo) y genes.
- Relación entre riesgo bruto y genes por rango de edad.
- Relación entre riesgo agrupando 3 niveles (Alto, Normal, Bajo) y pares de genes.
- Relación entre riesgo bruto y pares de genes (combinaciones digénicas) teniendo en cuenta la edad.
- Relación entre genes y pares de genes para mujeres con edades inferiores a 55 (pues quizás en las edades más jóvenes podríamos encontrar relaciones que en edades mayores podrían quedar más enmascaradas por factores epigenéticos).
- Relaciones entre otras variables de interés y los riesgos.

Como vemos, en la presente tesis se han realizado múltiples análisis, algunos complejos, de los que sólo expondremos los más relevantes en relación con los objetivos de la misma.

El análisis de los datos se ha realizado mediante estadística descriptiva (frecuencias, rango, medias y desviación típica) y las siguientes pruebas estadísticas.

### 3.8.2. Pruebas estadísticas

En primer lugar para decidir que test aplicar en cada caso, se realizó el estudio de la normalidad de los datos aplicando el test de **Kolmogorov - Smirnov**.

Para estudiar la **estructura de relaciones** de las variables se han aplicado las siguientes pruebas a tenor del tipo de variable:

Tipo variable	Prueba
Nominal	Chi-cuadrado o Estadístico exacto de Fisher
Cuantitativas	Prueba Kruskal-Wallis (datos no normales)

La prueba **Chi-cuadrado** de independencia puede utilizarse con datos medibles en una escala nominal.

Realiza el contraste de si las variables son independientes, es decir que las diferencias son atribuibles a azar, frente a las que no lo son.

$H_0$ : las variables son independientes

$H_1$ : las variables no son independientes

Para realizar este contraste se disponen los datos en una tabla de doble entrada. Para cada valor o intervalo de valores se indica la frecuencia absoluta observada ( $O_i$ ). A continuación se calculan para cada valor o intervalo de valores la frecuencia absoluta que cabría esperar si las variables fueran independientes o frecuencia esperada ( $E_i = n \cdot p_i$ ), donde  $n$  es el tamaño de la muestra y  $p_i$  la probabilidad del  $i$ -ésimo valor o intervalo de valores. El estadístico de prueba se basa en las diferencias entre la  $O_i$  y  $E_i$  y se define como:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Este estadístico tiene una distribución Chi-cuadrado con  $k-1$  grados de libertad si  $n$  es suficientemente grande, es decir, si todas las frecuencias esperadas son mayores que 5. En la práctica se tolera un máximo del 20% de frecuencias inferiores a 5.

Si existe concordancia entre las frecuencias observadas y las esperadas el estadístico tomará un valor próximo a 0 pero si existe discrepancia el estadístico tomará un valor grande y, en consecuencia, se rechazará la hipótesis nula.

El **test exacto de Fisher** permite analizar si dos variables dicotómicas están asociadas cuando no se cumplen las condiciones necesarias para que la aplicación del test Chi-cuadrado sea adecuada. El estadístico ofrece, basándose en la distribución hipergeométrica y en la hipótesis de independencia, la probabilidad exacta de obtener las frecuencias obtenidas o cualquier otra combinación más alejadas. Para su cálculo se ha aplicado el **método de Monte Carlo** que es una estimación no sesgada del nivel de significación exacto, calculada mediante el muestreo repetido a partir de un conjunto de tablas con iguales dimensiones y marginales de fila y columna que la tabla observada. El método de Monte Carlo permite estimar la significación exacta sin tener que confiar en los supuestos que requiere el método asintótico (Chi-cuadrado).

La prueba de **Kruskal-Wallis** es un contraste no paramétrico que se puede aplicar para ver la asociación entre una variable nominal (más de 2 categorías) con una ordinal.

Realiza el contraste de si las k muestras independientes vienen de la misma población respecto a un parámetro de centralización, la mediana.

$H_0$ : proceden de la misma población

$H_1$ : no proceden de la misma población

Para el cálculo del estadístico de contraste se ordenan las n observaciones de menor a mayor y se les asignan rangos desde 1 hasta n. A continuación se obtiene la suma de los rangos correspondientes a los elementos de cada muestra,  $R_j$  y se halla el rango promedio.

$$H = \frac{12}{n(n+1)} \sum_{j=1}^k \frac{R_j^2}{n_j} - 3(n+1)$$

Que sigue una distribución  $\chi^2$  con k-1 grados de libertad.

En nuestro trabajo hemos considerado estadísticamente significativas las diferencias si p valor < 0.05.



## **4. Resultados**



## 4.1. Estadística descriptiva de la muestra

El tamaño muestral de nuestro estudio lo conforman las 886 mujeres que cumplieron los criterios de inclusión y ninguno de los de exclusión de la cohorte de mujeres incluidas en el referido estudio multicéntrico. Dicho estudio partía de una muestra de 1695 mujeres, nuestro tamaño muestral no incluyó a toda la cohorte debido a la limitación de los fondos disponibles para el análisis de los genes candidatos. Las mujeres incluidas lo fueron en orden consecutivo de entrada en la cohorte, y hasta la última en que Neocodex® consideró factible realizar la determinación de los genes candidatos de osteoporosis por las razones presupuestarias referidas. Por ello, también sucede que un subgrupo de ellas tienen mayor número de genes candidatos determinados, a partir del momento en que se decidió ampliar el número de ellos.

Nuestro grupo de estudio así conformado presenta una edad media de  $59 \pm 7.8$  años (40-85 años) con un índice de masa corporal de  $27 \pm 4.3$  (Kg/m<sup>2</sup>), (Tabla 4).

Entre los antecedentes obstétricos-ginecológicos cabe destacar que habían presentado la menarquía a una edad media de  $12 \pm 1.5$  años y la menopausia de  $47 \pm 5.3$  años; la mayoría había estado embarazada (97%) con una media de  $2.7 \pm 1.7$  embarazos por mujer. El número medio de hijos vivos fue  $2.32 \pm 1.40$ .

La información sobre hábitos tóxicos muestra que más de un 26% son fumadoras con una media de  $16 \pm 9.8$  cigarrillos al día y el 28% refirió consumir al menos una bebida alcohólica a la semana, con una media de 4 unidades semanales.

Con respecto a los datos relacionados con la patología ósea, la media de densidad mineral ósea en columna lumbar era  $0.85 \pm 0.36$  (gr/cm<sup>2</sup>) y la media T-score en zona lumbar  $-1.6 \pm 1.3$ . El promedio de densidad mineral ósea en fémur era  $0.79 \pm 0.4$  (gr/cm<sup>2</sup>) y la media de T-score de cadera  $-0.8 \pm 1$ .

El 57% de las pacientes afirmó realizar algún tipo de deporte apropiado a su edad

Para la comprobación del equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) se realizó la prueba de bondad de ajuste Chi cuadrado a través de la herramienta bioinformática del Instituto de Genética Humana de Munich, Alemania, programada por Tim M. Strom y Thomas F Weinker ( <http://ihg.gsf.de>).

Aplicando esta prueba, en nuestra muestra se observa que las frecuencias genotípicas mantienen el EHW (Tabla 5).

Tabla 4. Estadísticos descriptivos

	N	Media	Desv. típ.	Mínimo	Máximo
EDAD	886	59,02	7,879	40	85
IMC	886	27,2544	4,36098	15,99	46,99
CIG/DIA	235	16,06	9,873	1	50
BEBIDAS/SE	252	4,01	4,642	1	60
EDAD_MQ	874	12,79	1,585	7	19
EDAD_MENOP	868	47,55	5,357	26	60
EMB	859	2,72	1,769	0	12
FETOS_VIVO	852	2,32	1,460	0	11
LUMBAR_DMO	847	,85103	,360787	-3,400	1,645
LUMBAR_T	875	-1,625	1,3264	-8,0	3,0
FEMUR_DMO	850	,79760	,420414	-8,600	1,500
FEMUR_T	880	-,885	1,0990	-4,4	6,0

IMC	Índice de masa corporal (kg/m <sup>2</sup> )
CIG/DIA	Nº de cigarrillos consumidos al día
BEBIDAS/SE	Nº de bebidas alcohólicas semanales
LUMBAR_T	T Score calculado en columna lumbar
LUMBAR_DMO	Densidad mineral ósea calculado en columna lumbar (gr/cm)
FEMUR_DMO	Densidad mineral ósea calculado en cadera (gr/cm <sup>2</sup> )
FEMUR_T	T Score calculado en cadera

Tabla 5. Análisis del EHW en nuestra población

Gen	Marcador	Genotipo homocigoto más frec	Genotipo heterocigoto	Genotipo Homocigoto menos frec	P (test exacto)
FSHR	5680 N	195	294	105	0.80
ESR1	Pvull	162	294	129	0.86
ESR2	39A>G	214	274	105	0.30
NRIP1	G75G	176	306	112	0.31
CYP 19	3ÚTR	223	443	220	1
	IVS4	341	426	119	0.47
BMP15	-673C>T	573	274	38	0.46
	-9C>G	573	274	38	0.46
	IVS1+905A>G	466	356	64	0.8
	N103S	808	75	2	0.7

## 4.2. Estadística descriptiva de la distribución de los alelos

Se ha obtenido información en toda nuestra muestra poblacional (886 mujeres) para 6 locus (gen CYP marcador IVS 4, gen CYP marcador UTR, gen BMP15 905A, gen BMP 103N, gen BMP -9C>G y el gen BMP -673C) y dado que se pudo ampliar el número de genes estudiado durante la investigación inicial, para el estudio que incluye 10 genes candidatos, cuatro genes más: FSHR, ESR1, ESR2, RIP 140.

El tamaño muestral para dichos genes disminuye pues a 594, 584, 592, 593 pacientes respectivamente (tabla 6).

La distribución de los alelos en nuestra población se muestra de tal modo que para los genes FSHR, ESR1, ESR2, RIP 140 y CYP19 UTR el polimorfismo heterocigótico es el predominante con un porcentaje del 50% (tablas 7-11).

Para el gen CYP19 IVS el polimorfismo más frecuente es el 12 (48%) (tabla 12).

El polimorfismo predominante para el gen que codifica la proteína BMP 15 9C >G y la BMP 15 673C es el homocigoto (AA) con un 60% (tablas 13 y 14).

Para el gen de la proteína BMP15 905A el alelo que presentan el 50% de las mujeres es el TT (tabla 15).

Y el 90 % de la muestra presenta el polimorfismo AA para el gen que codifica la proteína BMP15 N103 (tabla 16).

Tabla 6. Distribución del tamaño muestral

Gen	Tamaño muestral (N)
FSHR	594
ESR1	585
ESR2	593
RIP-140	594
CYP19-UTR	886
CYP19-IVS4	886
BMP15-9C>G	886
BMP15-673	886
BMP15-905A	886
BMP15-N103	886

Tabla 7. Distribución de alelos del gen FSHR

FSHR	Frecuencia	Porcentaje %
AA	195	32
AS	294	50
SS	105	18
Total	594	100,0

Tabla 8. Distribución de alelos del gen ESR1

ESR1	Frecuencia	Porcentaje %
CC	129	22
TC	294	50
TT	162	28
<b>Total</b>	<b>585</b>	<b>100,0</b>

Tabla 9. Distribución de alelos del gen ESR2

ESR2	Frecuencia	Porcentaje %
AA	105	18
GA	274	46
GG	214	36
<b>Total</b>	<b>593</b>	<b>100,0</b>

Tabla 10. Distribución de alelos del gen RIP-140

RIP-140	Frecuencia	Porcentaje %
AA	112	18
GA	306	51
GG	176	31
<b>Total</b>	<b>594</b>	<b>100,0</b>

Tabla 11. Distribución de alelos del gen CYP19-3UTR

CYP19-3UTR	Frecuencia	Porcentaje %
AA	223	25,2
GA	443	50,0
GG	220	24,8
<b>Total</b>	<b>886</b>	<b>100,0</b>

Tabla 12. Distribución de alelos del gen CYP19-IVS4

CYP19-IVS4	Frecuencia	Porcentaje %
11	341	38,5
12	426	48,1
22	119	13,4
<b>Total</b>	<b>886</b>	<b>100,0</b>

Tabla 13. Distribución de alelos del gen BMP15-9C>G

BMP15-9C>G	Frecuencia	Porcentaje %
<b>CC</b>	573	64,7
<b>GC</b>	274	30,9
<b>GG</b>	38	4,3
<b>Total</b>	886	100,0

Tabla 14. Distribución de alelos del gen BMP15-673

BMP15-673	Frecuencia	Porcentaje %
<b>CC</b>	573	64,7
<b>TC</b>	274	30,9
<b>TT</b>	38	4,3
<b>Total</b>	886	100,0

Tabla 15. Distribución de alelos del gen BMP15-905A

BMP15-905A	Frecuencia	Porcentaje %
<b>CC</b>	64	7,2
<b>TC</b>	356	40,2
<b>TT</b>	466	52,6
<b>Total</b>	886	100,0

Tabla 16. Distribución de alelos del gen BMP15-N103

BMP15-N103	Frecuencia	Porcentaje %
<b>AA</b>	808	91,2
<b>AG</b>	75	8,5
<b>GG</b>	2	,2
<b>Total</b>	886	100,0

### 4.3. Análisis del riesgo de fractura estimado por FRAX®

En todas las pacientes fue calculado el riesgo de fractura mayor y de cadera a través de la herramienta FRAX®. Dado que la herramienta lo permite, el riesgo fue estimado con y sin densitometría ósea.

Los datos obtenidos hacen referencia al riesgo absoluto de fractura en los próximos 10 años.

El riesgo medio de fractura mayor con y sin densitometría ósea fue respectivamente,  $3.2 \pm 2.6\%$  (rango 20) y  $3.1 \pm 2.5\%$  (rango 26), no hallándose diferencias significativas entre ellos.

La distribución en la muestra de pacientes se observa en la *Figura 5* para riesgo de fractura mayor calculado sin densitometría y con densitometría en la *Figura 6*.

El riesgo medio de fractura de cadera con y sin densitometría fue, respectivamente,  $0.8 \pm 1.3\%$  (rango 11) y  $0.7 \pm 1.4\%$  (rango 17), no hallándose diferencias significativas entre ellos.

La distribución en la muestra se observa en la *Figura 7* para riesgo de fractura de cadera calculado sin densitometría y con densitometría en la *Figura 8*.

*Figura 5. Distribución de la frecuencia del riesgo de fractura mayor calculado sin densitometría en nuestra población*

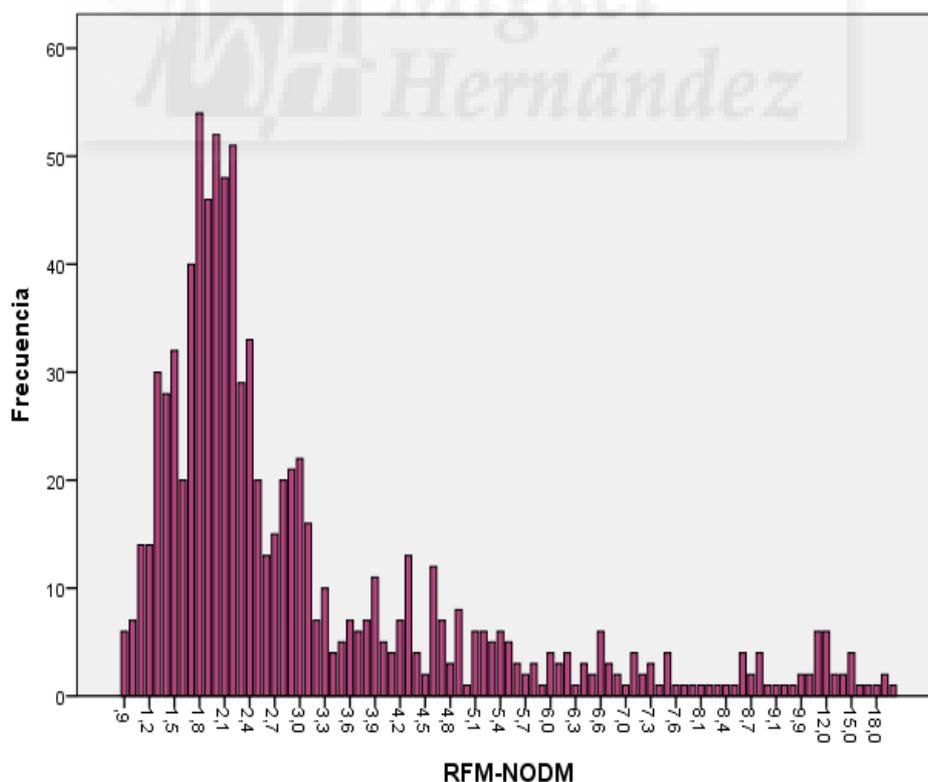


Figura 6. Distribución del Riesgo de fractura mayor calculado por FRAX con densitometría ósea

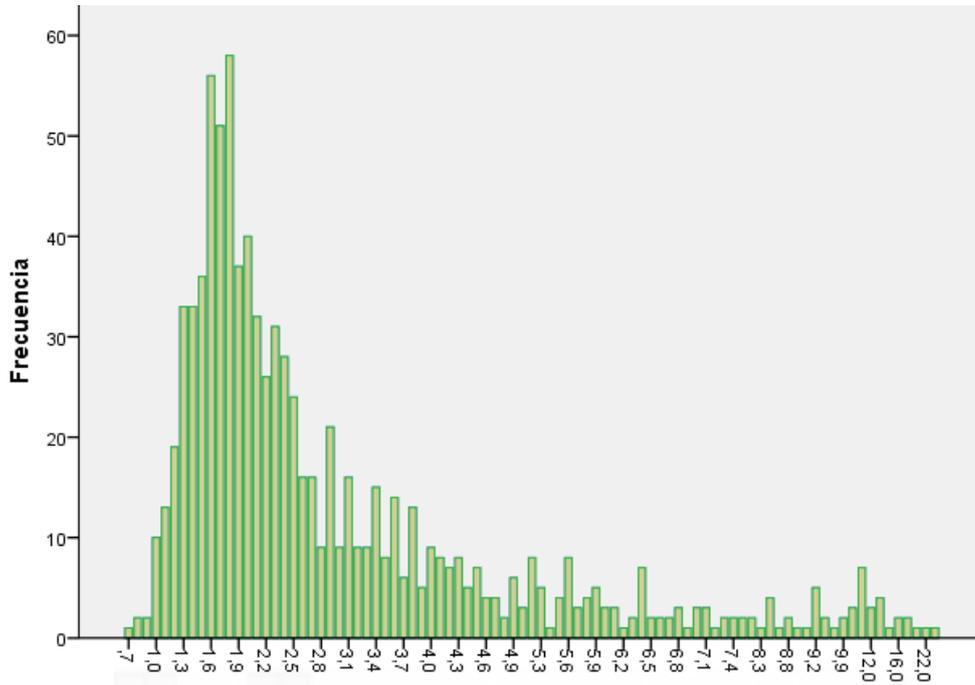


Figura 7. Distribución de la frecuencia del riesgo de fractura de cadera con densitometría

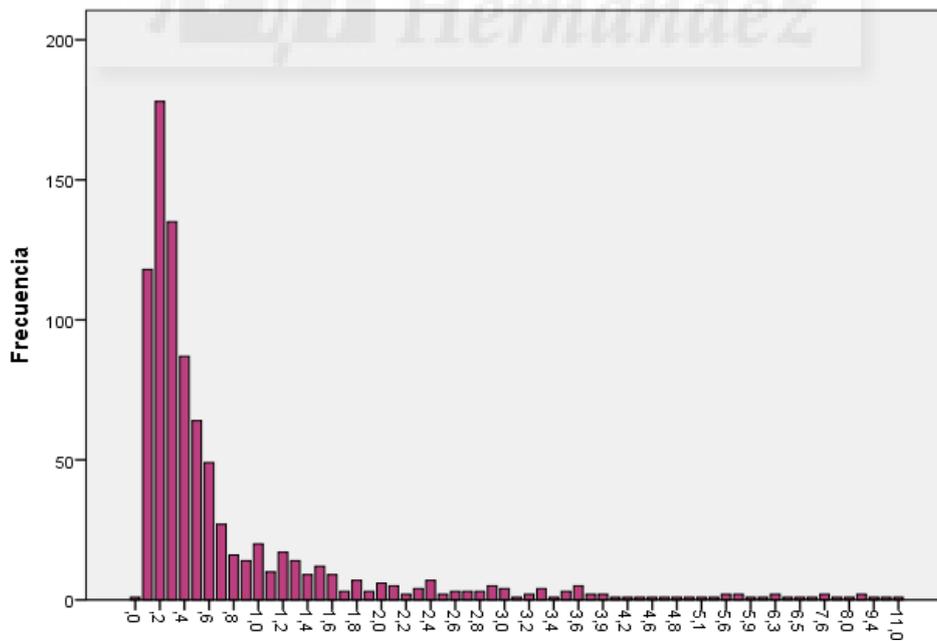
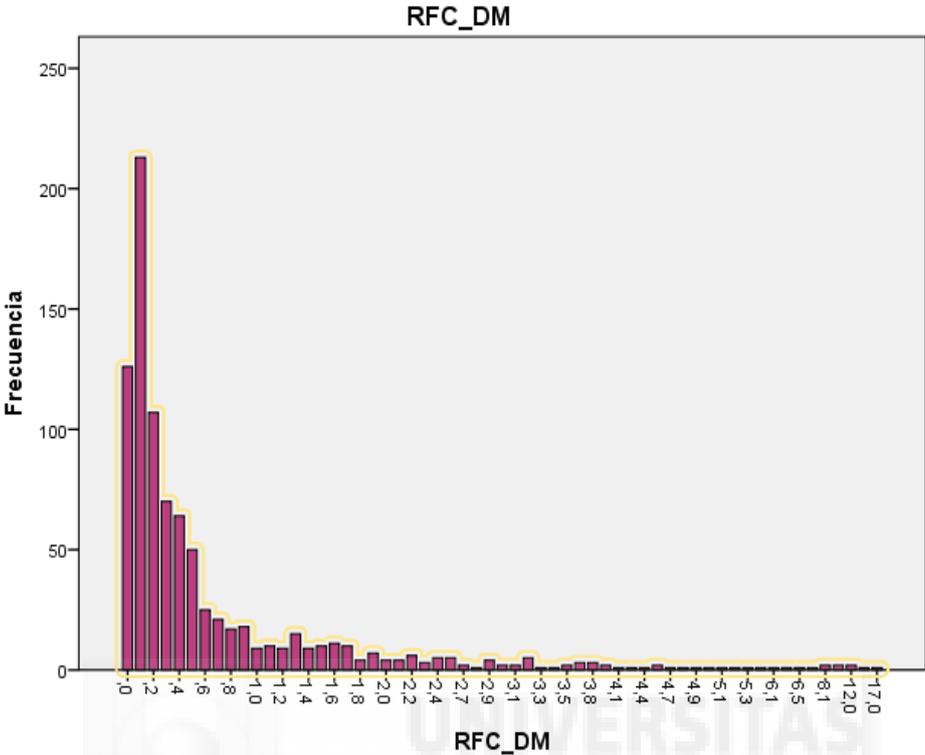


Figura 8. Distribución de la frecuencia del riesgo de fractura de cadera con densitometría



#### 4.4. Estadística descriptiva unilocus de la relación entre genes candidatos y riesgos de fractura estimados mediante FRAX®

A continuación, las tablas 17 a 26 muestran los riesgos promedio estimados de fractura para cada uno de los alelos de cada gen candidato estudiado (análisis unilocus). Como se puede comprobar, no hallamos diferencias estadísticamente significativas en este análisis. Por tanto no encontramos que ningún alelo de dichos genes suponga por sí mismo un incremento o reducción del riesgo estimado de fractura en nuestro grupo de estudio.

Para cada variable de riesgo la nomenclatura reseñada es:

- RFM\_NODM: riesgo de fractura mayor estimado sin DMO
- RFC\_NODM: riesgo de fractura de cadera estimado sin DMO
- RFM\_DM: riesgo de fractura mayor estimado con DMO
- RFC\_DM: riesgo de fractura mayor estimado con DMO

Tabla 17. Análisis del gen FSHR

FSHR		RFM_NODM	RFM_DM	RFC-NODM	RFC_DM
AA	Media	3,112	3,030	,760	,677
	N	195	194	195	194
	Desv. típ.	2,1746	2,2473	,9999	1,2585
AS	Media	3,148	3,061	,819	,716
	N	294	294	294	294
	Desv. típ.	2,6731	2,5900	1,4234	1,4898
SS	Media	3,205	3,161	,803	,765
	N	105	105	105	105
	Desv. típ.	2,6643	3,1392	1,2954	2,0891
Total	Media	3,146	3,068	,797	,712
	N	594	593	594	593
	Desv. típ.	2,5147	2,5884	1,2740	1,5435

Prueba de Kruskal-Wallis. P-valor	<b>0.7</b>	<b>0.6</b>	<b>0.9</b>	<b>0.9</b>
-----------------------------------	------------	------------	------------	------------

Tabla 18. Análisis del gen ESR 1

**ESR1**

ESR1		RFM_NODM	RFM_DM	RFC-NODM	RFC_DM
CC	Media	2,901	2,923	,678	,664
	N	129	129	129	129
	Desv. típ.	1,8510	2,3192	,8714	1,3896
TC	Media	3,146	3,026	,800	,683
	N	294	293	294	293
	Desv. típ.	2,6334	2,5723	1,3596	1,5552
TT	Media	3,255	3,171	,844	,770
	N	162	162	162	162
	Desv. típ.	2,6218	2,7726	1,3034	1,6385
Total	Media	3,122	3,043	,785	,703
	N	585	584	585	584
	Desv. típ.	2,4782	2,5740	1,2513	1,5423

Prueba de Kruskal-Wallis. P-valor	<b>0.5</b>	<b>0.5</b>	<b>0.6</b>	<b>0.4</b>
-----------------------------------	------------	------------	------------	------------

Tabla 19. Análisis del gen ESR 2

**ESR2**

ESR2		RFM_NODM	RFC-NODM	RFM_DM	RFC_DM
AA	Media	3,163	,796	2,966	,619
	N	105	105	104	104
	Desv. típ.	2,2152	1,1831	2,2728	1,2907
GA	Media	3,187	,822	3,052	,686
	N	274	274	274	274
	Desv. típ.	2,7575	1,4120	2,4988	1,3444
GG	Media	3,091	,768	3,143	,793
	N	214	214	214	214
	Desv. típ.	2,3349	1,1299	2,8468	1,8673
Total	Media	3,148	,798	3,070	,713
	N	593	593	592	592
	Desv. típ.	2,5164	1,2749	2,5903	1,5447

Prueba de Kruskal-Wallis. P-valor	<b>0.6</b>	<b>0.7</b>	<b>0.9</b>	<b>0.7</b>
-----------------------------------	------------	------------	------------	------------

Tabla 20. Análisis del gen RIP140

**RIP140**

RIP-140		RFM_NODM	RFC-NODM	RFM_DM	RFC_DM
AA	Media	3,213	,814	3,302	,864
	N	112	112	111	111
	Desv. típ.	2,4052	1,1686	2,5830	1,6145
GA	Media	3,206	,825	3,020	,655
	N	306	306	306	306
	Desv. típ.	2,6465	1,3381	2,2702	1,3282
GG	Media	2,999	,738	3,005	,714
	N	176	176	176	176
	Desv. típ.	2,3496	1,2282	3,0733	1,8238
Total	Media	3,146	,797	3,068	,712
	N	594	594	593	593
	Desv. típ.	2,5147	1,2740	2,5884	1,5435

Prueba de Kruskal-Wallis. P-valor	<b>0.6</b>	<b>0.6</b>	<b>0.5</b>	<b>0.5</b>
-----------------------------------	------------	------------	------------	------------

Tabla 21. Análisis del gen CYP 19 -UTR

**CYP19-3UTR**

CYP19-3UTR		RFM_NODM	RFC_NODM	RFM_DM	RFC_DM
AA	Media	3,356	,878	3,126	,664
	N	223	223	223	223
	Desv. típ.	2,4674	1,2626	2,2067	1,0692
GA	Media	3,110	,786	3,045	,708
	N	443	443	443	443
	Desv. típ.	2,6304	1,3330	2,5997	1,4615
GG	Media	3,310	,860	3,289	,830
	N	220	220	219	219
	Desv. típ.	2,6750	1,3131	2,9408	1,8236
Total	Media	3,222	,828	3,126	,727
	N	886	886	885	885
	Desv. típ.	2,6012	1,3099	2,5971	1,4761

Prueba de Kruskal-Wallis. P-valor	<b>0.1</b>	<b>0.1</b>	<b>0.3</b>	<b>0.5</b>
-----------------------------------	------------	------------	------------	------------

Tabla 22. Análisis del gen CYP19- IVS4

IVS4		RFM_NODM	RFC_NODM	RFM_DM	RFC_DM
11	Media	3,195	,816	3,026	,649
	N	341	341	341	341
	Desv. típ.	2,5166	1,2823	2,2499	1,1524
12	Media	3,218	,821	3,141	,738
	N	426	426	426	426
	Desv. típ.	2,6185	1,3074	2,7176	1,5069
22	Media	3,312	,886	3,358	913
	N	119	119	119	119
	Desv. típ.	2,7917	1,4036	3,0360	2,0713
Total	Media	3,222	,828	3,126	,727
	N	886	886	885	885
	Desv. típ.	2,6012	1,3099	2,5971	1,4761

Prueba de Kruskal-Wallis.p-valor	<b>0.9</b>	<b>0.9</b>	<b>0.9</b>	<b>0.7</b>
----------------------------------	------------	------------	------------	------------

Tabla 23. Análisis del gen BMP15 673C

BMP15 673		RFM_NO DM	RFC_NO DM	RFM_DM	RFC_DM
CC	Media	3,192	0,817	3,107	0,718
	N	573	573	573	573
	Desv.tip	2,6449	1,3277	2,6507	1,4941
TC	Media	3,224	0,820	3,134	0,732
	N	274	274	273	273
	Desv.tip	2,4577	1,2324	2,5351	1,4735
TT	Media	3,703	1,063	3,397	0,837
	N	38	38	38	38
	Desv.tip	2,9660	1,5838	2,2608	1,2484
Total	Media	3,222	0,828	3,126	0,727
	N	886	886	885	885
	Desv.tip	2,6012	1,3099	2,5971	1,4761

Prueba de Kruskal-Wallis. P-valor	<b>0.2</b>	<b>0.2</b>	<b>0.3</b>	<b>0.4</b>
-----------------------------------	------------	------------	------------	------------

Tabla 24. Análisis del gen BMP15 N 103

**BMP15-N103**

BMP15-N103		RFM_NODM	RFC-NODM	RFM_DM	RFC_DM
AA	Media	3,136	,788	3,083	,723
	N	542	542	541	541
	Desv. típ.	2,5093	1,2418	2,6617	1,5986
AG	Media	3,116	,835	2,822	,573
	N	49	49	49	49
	Desv. típ.	2,3378	1,5316	1,4854	,7485
GG	Media	6,750	2,450	5,050	1,200
	N	2	2	2	2
	Desv. típ.	7,4246	3,1820	4,8790	1,4142
Total	Media	3,146	,797	3,068	,712
	N	593	593	592	592
	Desv. típ.	2,5168	1,2751	2,5906	1,5448

Prueba de Kruskal-Wallis. P-valor	<b>0.8</b>	<b>0.7</b>	<b>0.7</b>	<b>0.6</b>
-----------------------------------	------------	------------	------------	------------

Tabla 25. Análisis del gen BMP15 9C >G

**BMP15-9C>G**

BMP15-9C > G		RFM_NODM	RFC-NODM	RFM_DM	RFC_DM
CC	Media	3,192	,817	3,107	,718
	N	573	573	573	573
	Desv. típ.	2,6449	1,3277	2,6507	1,4941
GC	Media	3,224	,820	3,134	,732
	N	274	274	273	273
	Desv. típ.	2,4577	1,2324	2,5351	1,4735
GG	Media	3,703	1,063	3,397	,837
	N	38	38	38	38
	Desv. típ.	2,9660	1,5838	2,2608	1,2484
Total	Media	3,224	,829	3,128	,728
	N	885	885	884	884
	Desv. típ.	2,6020	1,3104	2,5978	1,4768

Prueba de Kruskal-Wallis. P-valor	<b>0.2</b>	<b>0.1</b>	<b>0.2</b>	<b>0.2</b>
-----------------------------------	------------	------------	------------	------------

Tabla 26. Análisis del gen BMP15 905A

**BMP15-905A**

BMP15-905A		RFM_NODM	RFC_NODM	RFM_DM	RFC_DM
CC	Media	3,453	,914	3,277	,745
	N	64	64	64	64
	Desv. típ.	2,5189	1,3164	2,0883	1,0845
TC	Media	3,196	,813	3,162	,774
	N	356	356	355	355
	Desv. típ.	2,5534	1,2734	2,9002	1,7420
TT	Media	3,210	,827	3,077	,689
	N	466	466	466	466
	Desv. típ.	2,6519	1,3385	2,4128	1,2922
Total	Media	3,222	,828	3,126	,727
	N	886	886	885	885
	Desv. típ.	2,6012	1,3099	2,5971	1,4761

Prueba de Kruskal-Wallis. P-valor	0.3	0.3	0.2	0.2
-----------------------------------	-----	-----	-----	-----

El análisis del riesgo de fractura en los genes a estudio dentro de las cuatro categorías establecidas no muestra diferencias estadísticamente significativas en función de los polimorfismos unilocus.

Destacar que el gen BMP 15 N 103 (GG) muestra un valor medio del riesgo estimado de fractura que dobla al resto de polimorfismos, pero con un tamaño muestral muy pequeño (N=2).

Dicho análisis tampoco mostró resultados significativos al segmentar por rango de edad con intervalos de 5 años, a mayor edad implícitamente está asociado mayor riesgo estimado de fractura, pero no hallamos diferencias entre los polimorfismos de los genes, por lo que no mostramos estos datos para abreviar.

## 4.5. Percentiles de riesgo estimado por edad

Tal y como expusimos en material y métodos, a partir de nuestra muestra diseñamos las curvas y tablas de los percentiles de riesgo ajustados para cada edad y para cada variable de riesgo estimado que a continuación se presentan:

*Tabla 27. Percentiles teóricos por edad del riesgo estimado mediante FRAX® para fractura mayor (sin densitometría ósea).*

edad	C10	C25	C75	C90
40	0,9617605	1,049702	1,327318	1,597025
41	0,9606857	1,048529	1,325834	1,59524
42	0,9600328	1,047817	1,324933	1,594156
43	0,9611204	1,049004	1,326434	1,595962
44	0,9662331	1,054584	1,33349	1,604451
45	0,978262	1,067713	1,350091	1,624426
46	1,0001643	1,091618	1,380318	1,660795
47	1,0341687	1,128732	1,427248	1,71726
48	1,0808387	1,179669	1,491657	1,794757
49	1,1392118	1,24338	1,572217	1,891686
50	1,2074454	1,317852	1,666385	2,00499
51	1,283608	1,400979	1,771497	2,131459
52	1,3645256	1,489296	1,88317	2,265825
53	1,4465714	1,578844	1,996401	2,402064
54	1,5259429	1,665473	2,105941	2,533862
55	1,6013652	1,747792	2,210031	2,659102
56	1,6748381	1,827983	2,31143	2,781106
57	1,7509382	1,911041	2,416455	2,907471
58	1,8350452	2,002839	2,532531	3,047133
59	1,9333805	2,110166	2,668242	3,210421
60	2,0520029	2,239635	2,831952	3,407396
61	2,1944747	2,395134	3,028576	3,643974
62	2,3609952	2,576881	3,25839	3,920485
63	2,55057	2,78379	3,52002	4,235278
64	2,7625813	3,015188	3,812616	4,587327
65	2,9961088	3,270069	4,134905	4,975105
66	3,2492214	3,546325	4,484223	5,395404
67	3,519128	3,840912	4,856719	5,84359
68	3,8029273	4,150661	5,248388	6,314845
69	4,0981499	4,472879	5,655823	6,805069

70	4,4026341	4,805205	6,076039	7,310671
71	4,7145997	5,145696	6,50658	7,828697
72	5,0324963	5,49266	6,945306	8,356571
73	5,3550522	5,84471	7,390463	8,892182
74	5,6813648	6,200861	7,840804	9,434032
75	6,0106743	6,560282	8,295282	9,980857
76	6,342163	6,922081	8,752766	10,531302
77	6,6751914	7,285561	9,212376	11,084303
78	7,0092745	7,650192	9,673441	11,639055
79	7,3440431	8,015572	10,135453	12,194946
80	7,6792211	8,381398	10,598029	12,751516

<b>C10</b>	<b>percentil 10</b>
<b>C25</b>	<b>percentil 25</b>
<b>C75</b>	<b>percentil 75</b>
<b>C90</b>	<b>percentil 90</b>

Figura 9. Distribución de puntos observados y curva teórica de percentiles de riesgo

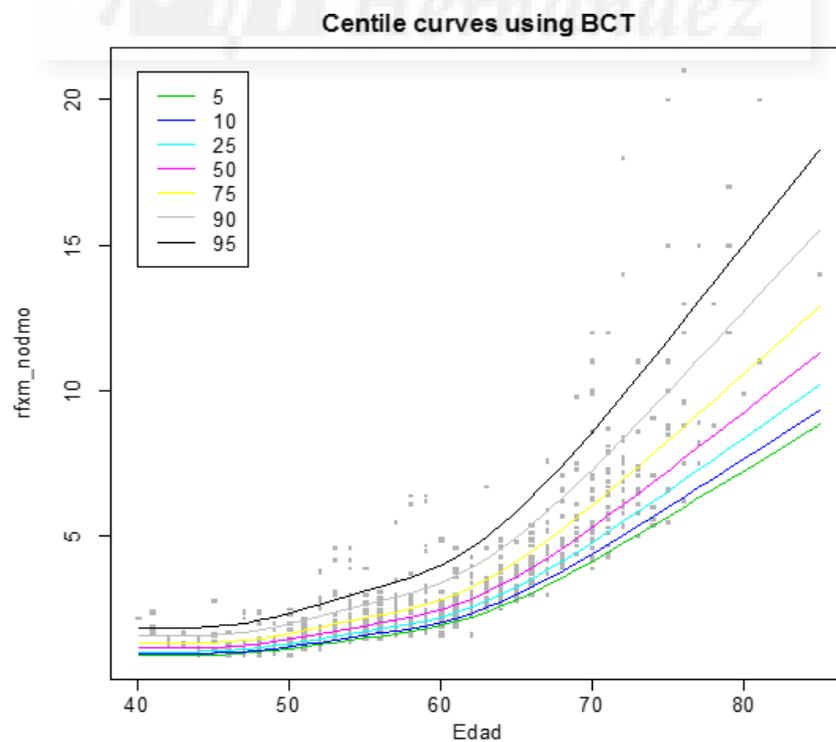


Tabla 28. Percentiles teóricos por edad del riesgo estimado mediante FRAX® para fractura de cadera (sin densitometría ósea).

edad	C10	C25	C75	C90
40	0,08545747	0,10498981	0,1900786	0,2750082
41	0,08301614	0,10199049	0,1846484	0,2671518
42	0,08070205	0,09914747	0,1795013	0,2597049
43	0,07876616	0,09676912	0,1751954	0,2534751
44	0,07737813	0,09506384	0,1721081	0,2490083
45	0,07661701	0,09412875	0,1704152	0,2465589
46	0,07654668	0,09404235	0,1702588	0,2463326
47	0,07732919	0,0950037	0,1719992	0,2488508
48	0,07918596	0,09728487	0,1761292	0,254826
49	0,08247279	0,10132294	0,1834399	0,2654033
50	0,08762287	0,10765014	0,1948949	0,2819766
51	0,09493075	0,11662832	0,2111495	0,3054939
52	0,10444898	0,12832206	0,2323204	0,3361242
53	0,11623065	0,14279657	0,2585257	0,3740385
54	0,12973537	0,15938795	0,2885635	0,4174976
55	0,1447808	0,1778722	0,3220283	0,4659149
56	0,16169499	0,19865233	0,3596497	0,5203459
57	0,18112694	0,22252569	0,4028711	0,5828793
58	0,20382643	0,25041343	0,4533604	0,6559279
59	0,23084278	0,28360469	0,5134514	0,7428684
60	0,26332993	0,32351717	0,5857109	0,8474144
61	0,30215955	0,37122176	0,6720776	0,9723708
62	0,34749917	0,4269243	0,7729241	1,1182769
63	0,39920093	0,49044312	0,8879216	1,2846568
64	0,45699893	0,56145155	1,0164787	1,4706549
65	0,52051205	0,63948137	1,1577476	1,6750446
66	0,5891632	0,72382356	1,3104447	1,8959688
67	0,6622343	0,81359595	1,4729729	2,1311168
68	0,73897755	0,9078798	1,6436689	2,378082
69	0,81870024	1,00582407	1,8209918	2,6346353
70	0,90076681	1,10664794	2,0035282	2,8987313
71	0,9846193	1,20966593	2,1900369	3,1685746
72	1,06980785	1,31432535	2,3795173	3,4427173
73	1,15598418	1,42019832	2,5711947	3,7200389
74	1,24288779	1,52696481	2,7644899	3,9997008
75	1,33031252	1,63437152	2,9589441	4,2810398

76	1,41808373	1,74220389	3,154169	4,5634937
77	1,50607997	1,85031273	3,3498944	4,8466719
78	1,59422119	1,95859969	3,5459422	5,1303166
79	1,68245311	2,06699809	3,7421919	5,4142531
80	1,77073681	2,1754601	3,9385567	5,6983563

Figura 10. Distribución de puntos observados y curva teórica de percentiles de riesgo

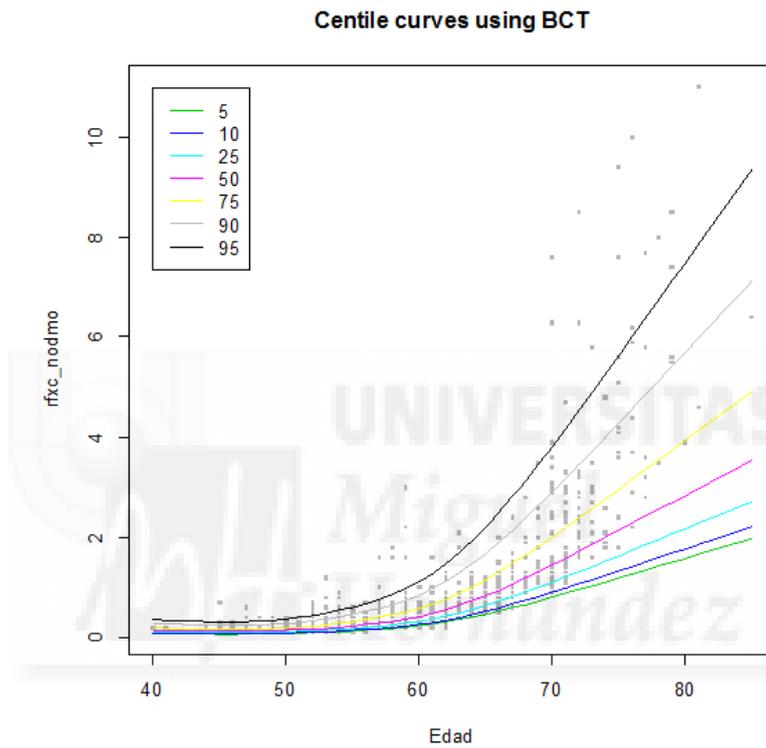


Tabla 29. Percentiles teóricos por edad del riesgo estimado mediante FRAX® para fractura mayor (con densitometría ósea).

edad	C10	C25	C75	C90
40	0,9262378	1,047436	1,540906	2,087208
41	0,9240977	1,045016	1,537346	2,082386
42	0,922524	1,043236	1,534728	2,078839
43	0,9231202	1,043911	1,53572	2,080183
44	0,9284711	1,049962	1,544622	2,092241
45	0,9415479	1,064749	1,566377	2,121708
46	0,9645142	1,090721	1,604584	2,173461
47	0,9983617	1,128997	1,660893	2,249734
48	1,0414772	1,177755	1,732621	2,346891
49	1,0909679	1,233721	1,814955	2,458415
50	1,1446472	1,294424	1,904256	2,579377
51	1,2011096	1,358275	1,998188	2,706611
52	1,2592837	1,424061	2,094968	2,837702
53	1,316395	1,488645	2,189979	2,966398
54	1,3692022	1,548362	2,27783	3,085395
55	1,4165087	1,601859	2,35653	3,191997
56	1,460586	1,651704	2,429858	3,291322
57	1,5060324	1,703097	2,505463	3,393732
58	1,5573815	1,761165	2,590889	3,509444
59	1,6188315	1,830656	2,693118	3,647917
60	1,695038	1,916834	2,819897	3,819642
61	1,7887341	2,02279	2,975771	4,030779
62	1,9006776	2,149381	3,162003	4,283036
63	2,0309383	2,296687	3,378707	4,576569
64	2,17944	2,46462	3,625757	4,911206
65	2,3459622	2,652931	3,902786	5,286451
66	2,5292211	2,86017	4,207659	5,699412
67	2,7269972	3,083825	4,536683	6,145086
68	2,9363328	3,320552	4,884938	6,616808
69	3,1546223	3,567405	5,248088	7,108707
70	3,3795656	3,821782	5,622308	7,6156
71	3,609534	4,081842	6,004888	8,133817
72	3,8432598	4,346151	6,393719	8,660501
73	4,0797541	4,61359	6,787155	9,193423
74	4,3182737	4,88332	7,18396	9,730909
75	4,5583876	5,154853	7,583418	10,271988

76	4,7996825	5,427721	7,984841	10,815728
77	5,0418795	5,70161	8,387765	11,361501
78	5,2847629	5,976275	8,79183	11,908821
79	5,5280958	6,251448	9,196643	12,457153
80	5,7717148	6,526944	9,601932	13,006131

Figura 11. Distribución de puntos observados y curva teórica de percentiles de riesgo

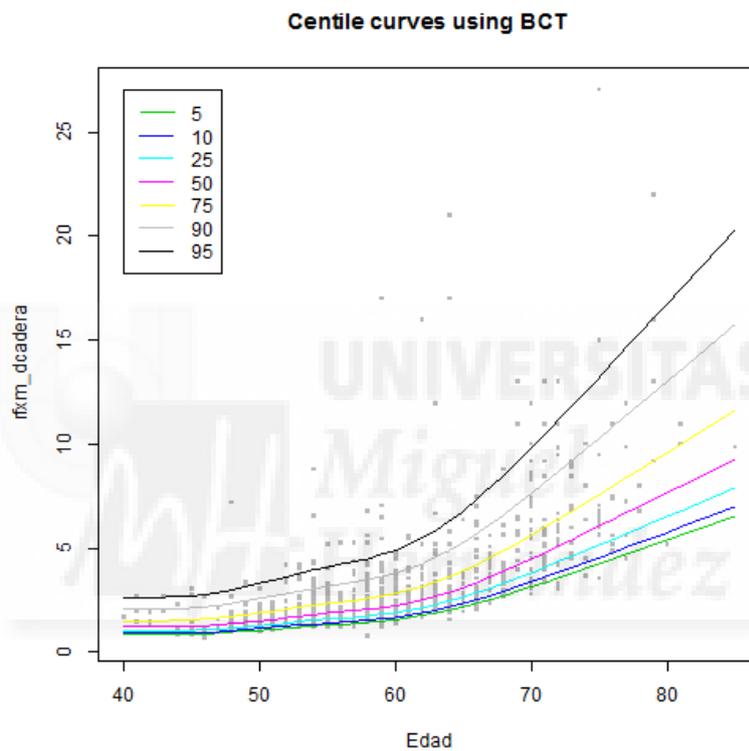
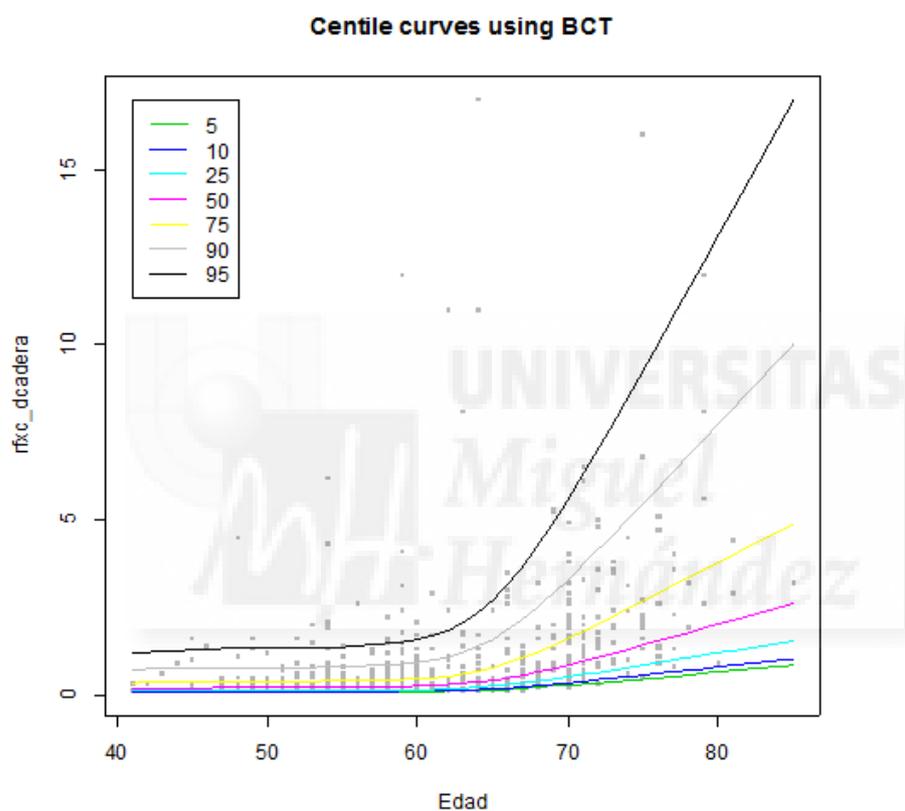


Tabla 30. Percentiles teóricos por edad del riesgo estimado mediante FRAX® para fractura de cadera (con densitometría ósea).

edad	C10	C25	C75	C90
40	0,0716085	0,1070532	0,3399867	0,6952413
41	0,07284332	0,1088992	0,3458494	0,70723
42	0,07407961	0,1107475	0,3517191	0,7192331
43	0,07531345	0,112592	0,3575772	0,7312123
44	0,07650145	0,1143681	0,3632177	0,7427466
45	0,07758749	0,1159917	0,368374	0,7532908
46	0,07848496	0,1173334	0,3726351	0,7620043
47	0,07920828	0,1184147	0,3760693	0,769027
48	0,0796414	0,1190622	0,3781257	0,7732321
49	0,07970327	0,1191547	0,3784195	0,7738328
50	0,07952711	0,1188914	0,3775831	0,7721224
51	0,07947338	0,1188111	0,377328	0,7716008
52	0,07978537	0,1192775	0,3788092	0,7746298
53	0,08056925	0,1204494	0,382531	0,7822405
54	0,08171931	0,1221687	0,3879913	0,7934063
55	0,08296301	0,124028	0,3938962	0,8054814
56	0,08437682	0,1261416	0,4006087	0,8192078
57	0,08619738	0,1288633	0,4092525	0,8368836
58	0,0883292	0,1320503	0,4193741	0,8575812
59	0,09103084	0,1360892	0,4322011	0,8838112
60	0,09512725	0,1422133	0,4516502	0,9235829
61	0,10154376	0,1518058	0,4821149	0,9858804
62	0,11104883	0,1660157	0,5272436	1,0781643
63	0,12431203	0,1858439	0,5902153	1,2069357
64	0,14188367	0,2121131	0,6736429	1,3775374
65	0,1641435	0,2453911	0,7793292	1,5936563
66	0,19121963	0,2858694	0,9078828	1,8565363
67	0,22291707	0,3332564	1,0583775	2,1642842
68	0,25856509	0,3865494	1,2276291	2,510388
69	0,29740246	0,4446105	1,4120233	2,887457
70	0,3386395	0,506259	1,6078107	3,2878242
71	0,38162649	0,5705237	1,8119066	3,7051815
72	0,42589219	0,6367	2,0220737	4,1349537
73	0,47108457	0,7042616	2,2366405	4,5737229
74	0,51692686	0,7727949	2,4542929	5,0188021
75	0,56322445	0,8420089	2,6741071	5,4683018

76	0,60982544	0,9116764	2,8953618	5,9207471
77	0,65662835	0,9816457	3,1175751	6,3751529
78	0,70356277	1,0518117	3,3404129	6,8308355
79	0,75057509	1,1220942	3,5636205	7,2872744
80	0,79762789	1,1924371	3,7870203	7,7441063

Figura 12. Distribución de puntos observados y curva teórica de percentiles de riesgo



Y con arreglo a ello, clasificamos a nuestras mujeres según el grado de riesgo de fractura osteoporótica para su edad con el resultado mostrado en el apartado siguiente.

## 4.6. Estadística descriptiva de la distribución según riesgo ajustado por edad

Como ya expusimos en material y métodos, clasificamos a las pacientes en función de su situación dentro de las curvas de percentiles mostradas en el apartado anterior, tras comprobar que un análisis con puntos de corte en percentiles 5, 10, 25, 75, 90 y 95 no mostraba resultados diferentes, decidimos emplear los percentiles 25 y 75 de, de tal modo que:

- < percentil 25: se catalogó como paciente de bajo riesgo de fractura
- entre percentil 25 y 75: riesgo normal de fractura
- > percentil 75: riesgo alto de fractura

*Tabla 31. Distribución de la cohorte según niveles de riesgo de fractura estimado ajustado para su edad.*

	RIESGO BAJO	RIESGO NORMAL	RIESGO ALTO
<b>RFMnoDM</b>	146 (16%)	484 (54%)	252 (29%)
<b>RFCnoDM</b>	116 (13%)	452 (51%)	318 (36%)
<b>RFM_DM</b>	150 (17%)	471 (53%)	264 (30%)
<b>RFC_DM</b>	354 (40%)	279 (31%)	252 (28%)

**RFMnoDM:** riesgo de fractura mayor estimado sin DMO

**RFCnoDM:** riesgo de fractura de cadera estimado sin DMO

**RFM\_DM:** riesgo de fractura mayor estimado con DMO

**RFC\_DM:** riesgo de fractura mayor estimado con DMO

La mitad de la población del estudio quedó por tanto catalogada dentro del grupo de riesgo normal y, el resto distribuido en un 30 % dentro del grupo de alto riesgo y alrededor de un 15% en el grupo de bajo riesgo.

Al introducir en la estimación los datos de la densitometría no se apreciaron diferencias para la estimación del riesgo de fractura mayor pero sí para el riesgo de cadera. De tal modo, que, el porcentaje mayoritario en este caso se encontraba en el grupo de bajo riesgo (40%) y el resto de la población se distribuía de manera similar en alto riesgo y riesgo normal (30%).

## 4.7. Análisis de polimorfismos genéticos y riesgo estimado de fractura (FRAX®) ajustado por edad

A continuación se muestran las tablas de contingencia con el valor de p de su estadístico correspondiente, calculado mediante Chi-cuadrado, para cada gen estudiado analizando si existen diferencias significativas en la distribución de los grupos de riesgo (alto, normal, bajo) para cada categoría de fractura (fractura mayor y de cadera estimado con y sin densitometría).

Por tanto, mostramos para cada gen 4 tablas de contingencia en las que:

**RFM\_NODM:** riesgo de fractura mayor calculado sin DMO

**RFC\_NODM:** riesgo de fractura de cadera calculado sin DMO

**RFM\_DM:** riesgo de fractura mayor calculado con DMO

**RFC\_DM:** riesgo de fractura mayor calculado con DMO

### 4.7.1. Análisis del Gen FSHR

A continuación se muestran los resultados obtenidos en el análisis del gen FSHR mostrando la distribución de polimorfismos en cada grupo de riesgo alto, normal o bajo de fractura (tablas 32-35).

En ellas únicamente apreciamos una tendencia no significativa hacia algo mayor riesgo en el polimorfismo AA y menor en el SS con una diferencia máxima de 10% más de mujeres incluidas en alto riesgo de un polimorfismo frente a otro.

*Tabla 32. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen FSHR según riesgo estimado de fractura mayor sin DMO*

RAFXM_NODMO		FSHR			Total
		AA	AS	SS	
Bajo riesgo	Recuento	36	53	20	109
	% dentro de FSHR	18,5%	18,0%	19,0%	18,4%
Normal	Recuento	102	162	61	325
	% dentro de FSHR	52,3%	55,1%	58,1%	54,7%
Alto riesgo	Recuento	57	79	24	160
	% dentro de FSHR	29,2%	26,9%	22,9%	26,9%
Total	Recuento	195	294	105	594
	% dentro de FSHR	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.8**

Tabla 33. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen FSHR según riesgo estimado de fractura de cadera sin DMO

RAFC_NODMO		FSHR			Total
		AA	AS	SS	
Bajo riesgo	Recuento	26	38	15	79
	% dentro de FSHR	13,3%	12,9%	14,3%	13,3%
Normal	Recuento	92	160	59	311
	% dentro de FSHR	47,2%	54,4%	56,2%	52,4%
Alto riesgo	Recuento	77	96	31	204
	% dentro de FSHR	39,5%	32,7%	29,5%	34,3%
Total	Recuento	195	294	105	594
	% dentro de FSHR	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.3**

Tabla 34. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen FSHR según riesgo estimado de fractura mayor con DMO

RAFM_DMOC		FSHR			Total
		AA	AS	SS	
Bajo riesgo	Recuento	34	51	19	104
	% dentro de FSHR	17,5%	17,3%	18,1%	17,5%
Normal	Recuento	99	156	58	313
	% dentro de FSHR	51,0%	53,1%	55,2%	52,8%
Alto riesgo	Recuento	61	87	28	176
	% dentro de FSHR	31,4%	29,6%	26,7%	29,7%
Total	Recuento	194	294	105	593
	% dentro de FSHR	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.9**

Tabla 35. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen FSHR según riesgo estimado de fractura mayor con DMO

RAFM_DMOC		FSHR			Total
		AA	AS	SS	
Bajo riesgo	Recuento	34	51	19	104
	% dentro de FSHR	17,5%	17,3%	18,1%	17,5%
Normal	Recuento	99	156	58	313
	% dentro de FSHR	51,0%	53,1%	55,2%	52,8%
Alto riesgo	Recuento	61	87	28	176
	% dentro de FSHR	31,4%	29,6%	26,7%	29,7%
Total	Recuento	194	294	105	593
	% dentro de FSHR	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.6

#### 4.7.2. Análisis del gen ESR1

A continuación se muestran los resultados obtenidos en el análisis del gen ESR1 (tablas 36-39), en el que no encontramos ni tendencias ni diferencias significativas.

Tabla 36. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen ESR1 según riesgo estimado de fractura mayor sin DMO

RAFXM_NODMO		ESR1			Total
		CC	TC	TT	
Bajo riesgo	Recuento	25	53	29	107
	% dentro de ESR1	19,4%	18,0%	17,9%	18,3%
Normal	Recuento	73	161	88	322
	% dentro de ESR1	56,6%	54,8%	54,3%	55,0%
Alto riesgo	Recuento	31	80	45	156
	% dentro de ESR1	24,0%	27,2%	27,8%	26,7%
Total	Recuento	129	294	162	585
	% dentro de ESR1	100%	100%	100%	100%

p-valor: 0.9

Tabla 37. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen ESR1 según riesgo estimado de fractura de cadera sin DMO

RAFC_NODMO		ESR1			Total
		CC	TC	TT	
Bajo riesgo	Recuento	17	38	22	77
	% dentro de ESR1	13,2%	12,9%	13,6%	13,2%
Normal	Recuento	75	152	81	308
	% dentro de ESR1	58,1%	51,7%	50,0%	52,6%
Alto riesgo	Recuento	37	104	59	200
	% dentro de ESR1	28,7%	35,4%	36,4%	34,2%
Total	Recuento	129	294	162	585
	% dentro de ESR1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.6**

Tabla 38. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen ESR1 según riesgo estimado de fractura mayor con DMO

RAFM_DMOC		ESR1			Total
		CC	TC	TT	
Bajo riesgo	Recuento	31	46	26	103
	% dentro de ESR1	24,0%	15,7%	16,0%	17,6%
Normal	Recuento	60	161	88	309
	% dentro de ESR1	46,5%	54,9%	54,3%	52,9%
Alto riesgo	Recuento	38	86	48	172
	% dentro de ESR1	29,5%	29,4%	29,6%	29,5%
Total	Recuento	129	293	162	584
	% dentro de ESR1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.2**

Tabla 39. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen ESR1 según riesgo estimado de fractura de cadera con DMO

RAFC_DMOC		ESR1			Total
		CC	TC	TT	
Bajo riesgo	Recuento	58	123	60	241
	% dentro de ESR1	45,0%	42,0%	37,0%	41,3%
Normal	Recuento	34	89	54	177
	% dentro de ESR1	26,4%	30,4%	33,3%	30,3%
Alto riesgo	Recuento	37	81	48	166
	% dentro de ESR1	28,7%	27,6%	29,6%	28,4%
Total	Recuento	129	293	162	584
	% dentro de ESR1	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.6**

#### 4.7.3. Análisis del gen ESR2

A continuación se muestran los resultados obtenidos en el análisis del gen ESR2 (tablas 40-43), en el que tampoco identificamos tendencias ni diferencias significativas.

Tabla 40. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen ESR2 según riesgo estimado de fractura mayor sin DMO

RAFXM_NODMO		ESR2			Total
		AA	GA	GG	
Bajo riesgo	Recuento	23	50	35	108
	% dentro de ESR2	22,1%	18,2%	16,4%	18,2%
Normal	Recuento	52	155	117	324
	% dentro de ESR2	50,0%	56,6%	54,7%	54,7%
Alto riesgo	Recuento	29	69	62	160
	% dentro de ESR2	27,9%	25,2%	29,0%	27,0%
Total	Recuento	104	274	214	592
	% dentro de ESR2	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.9**

Tabla 41. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen ESR2 según riesgo estimado de fractura de cadera sin DMO

RAFC_NODMO		ESR2			Total
		AA	GA	GG	
Bajo riesgo	Recuento	11	39	28	78
	% dentro de ESR2	10,6%	14,2%	13,1%	13,2%
Normal	Recuento	57	145	108	310
	% dentro de ESR2	54,8%	52,9%	50,5%	52,4%
Alto riesgo	Recuento	36	90	78	204
	% dentro de ESR2	34,6%	32,8%	36,4%	34,5%
Total	Recuento	104	274	214	592
	% dentro de ESR2	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.8**

Tabla 42. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen ESR2 según riesgo estimado de fractura mayor con DMO

RAFM_DMOC		ESR2			Total
		AA	GA	GG	
Bajo riesgo	Recuento	20	41	41	102
	% dentro de ESR2	19,2%	15,0%	19,9%	17,5%
Normal	Recuento	56	150	102	308
	% dentro de ESR2	53,8%	54,7%	49,5%	52,7%
Alto riesgo	Recuento	28	83	63	174
	% dentro de ESR2	26,9%	30,3%	30,6%	29,8%
Total	Recuento	104	274	206	584
	% dentro de ESR2	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.5**

Tabla 43. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen ESR2 según riesgo estimado de fractura de cadera con DMO

RAFC_DMOC		ESR2			Total
		AA	GA	GG	
Bajo riesgo	Recuento	47	109	87	243
	% dentro de ESR2	45,6%	39,8%	40,7%	41,1%
Normal	Recuento	34	77	68	179
	% dentro de ESR2	33,0%	28,1%	31,8%	30,3%
Alto riesgo	Recuento	22	88	59	169
	% dentro de ESR2	21,4%	32,1%	27,6%	28,6%
Total	Recuento	103	274	214	591
	% dentro de ESR2	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor :0.3**

#### 4.7.4. Análisis de gen RIP-140

A continuación se muestran los resultados obtenidos en el análisis del gen RIP-140 (tablas 44-47), en el que no hallamos diferencias estadísticamente significativa, y únicamente, parece existir una discreta tendencia a menor riesgo de fractura (sólo para fractura de cadera, estimado con DMO) en el polimorfismo GG.

Tabla 44. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen RIP 140 según riesgo estimado de fractura mayor sin DMO

RAFXM_NODMO		RIP-140			Total
		AA	GA	GG	
Bajo riesgo	Recuento	22	52	35	109
	% dentro de RIP-140	19,6%	17,0%	19,9%	18,4%
Normal	Recuento	56	169	100	325
	% dentro de RIP-140	50,0%	55,2%	56,8%	54,7%
Alto riesgo	Recuento	34	85	41	160
	% dentro de RIP-140	30,4%	27,8%	23,3%	26,9%
Total	Recuento	112	306	176	594
	% dentro de RIP-140	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.9**

Tabla 45. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen RIP 140 según riesgo estimado de fractura de cadera sin DMO

RAFC_NODMO		RIP-140			Total
		AA	GA	GG	
Bajo riesgo	Recuento	11	44	24	79
	% dentro de RIP-140	9,8%	14,4%	13,6%	13,3%
Normal	Recuento	64	151	96	311
	% dentro de RIP-140	57,1%	49,3%	54,5%	52,4%
Alto riesgo	Recuento	37	111	56	204
	% dentro de RIP-140	33,0%	36,3%	31,8%	34,3%
Total	Recuento	112	306	176	594
	% dentro de RIP-140	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.8**

Tabla 46. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen RIP 140 según riesgo estimado de fractura de mayor con DMO

RAFM_DMOC		RIP-140			Total
		AA	GA	GG	
Bajo riesgo	Recuento	15	51	38	104
	% dentro de RIP-140	13,5%	16,7%	21,6%	17,5%
Normal	Recuento	58	164	91	313
	% dentro de RIP-140	52,3%	53,6%	51,7%	52,8%
Alto riesgo	Recuento	38	91	47	176
	% dentro de RIP-140	34,2%	29,7%	26,7%	29,7%
Total	Recuento	111	306	176	593
	% dentro de RIP-140	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor:0.3**

Tabla 47. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen RIP 140 según riesgo estimado de fractura de cadera con DMO

RAFC_DMO		RIP-140			Total
		AA	GA	GG	
Bajo riesgo	Recuento	41	122	80	243
	% dentro de RIP-140	36,9%	39,9%	45,5%	41,0%
Normal	Recuento	35	99	47	181
	% dentro de RIP-140	31,5%	32,4%	26,7%	30,5%
Alto riesgo	Recuento	35	85	49	169
	% dentro de RIP-140	31,5%	27,8%	27,8%	28,5%
Total	Recuento	111	306	176	593
	% dentro de RIP-140	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.5

#### 4.7.5. Análisis del gen CYP 19 marcador UTR

A continuación se muestran los resultados obtenidos en el análisis del CYP 19 marcador 3' UTR (tablas 48-51), en el que no encontramos diferencias estadísticamente significativas ni tendencias apreciables.

Tabla 48. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen CYP 19 marcador 3' UTR según riesgo estimado de fractura mayor sin DMO

RAFXM_NODMO		CYP19-3UTR			Total
		AA	GA	GG	
Bajo riesgo	Recuento	37	81	28	146
	% dentro de CYP19-3UTR	16,6%	18,3%	12,7%	16,5%
Normal	Recuento	114	245	125	484
	% dentro de CYP19-3UTR	51,1%	55,3%	56,8%	54,6%
Alto riesgo	Recuento	72	117	67	256
	% dentro de CYP19-3UTR	32,3%	26,4%	30,5%	28,9%
Total	Recuento	223	443	220	886
	% dentro de CYP19-3UTR	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.8

Tabla 49. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen CYP 19 marcador 3' UTR según riesgo estimado de fractura de cadera sin DMO

RAFC_NODMO		CYP19-3UTR			Total
		AA	GA	GG	
Bajo riesgo	Recuento	27	63	26	116
	% dentro de CYP19-3UTR	12,1%	14,2%	11,8%	13,1%
Normal	Recuento	114	228	110	452
	% dentro de CYP19-3UTR	51,1%	51,5%	50,0%	51,0%
Alto riesgo	Recuento	82	152	84	318
	% dentro de CYP19-3UTR	36,8%	34,3%	38,2%	35,9%
Total	Recuento	223	443	220	886
	% dentro de CYP19-3UTR	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.8**

Tabla 50. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen CYP 19 marcador 3' UTR según riesgo estimado de fractura mayor con DMO.

RAFM_DMOC		CYP19-3UTR			Total
		AA	GA	GG	
Bajo riesgo	Recuento	34	81	35	150
	% dentro de CYP19-3UTR	15,2%	18,3%	16,0%	16,9%
Normal	Recuento	127	230	114	471
	% dentro de CYP19-3UTR	57,0%	51,9%	52,1%	53,2%
Alto riesgo	Recuento	62	132	70	264
	% dentro de CYP19-3UTR	27,8%	29,8%	32,0%	29,8%
Total	Recuento	223	443	219	885
	% dentro de CYP19-3UTR	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.06**

Tabla 51. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen CYP 19 marcador 3' UTR según riesgo estimado de fractura de cadera con DMO

RAFC_DMO		CYP19-3UTR			Total
		AA	GA	GG	
Bajo riesgo	Recuento	83	185	86	354
	% dentro de CYP19-3UTR	37,2%	41,8%	39,3%	40,0%
Normal	Recuento	87	128	64	279
	% dentro de CYP19-3UTR	39,0%	28,9%	29,2%	31,5%
Alto riesgo	Recuento	53	130	69	252
	% dentro de CYP19-3UTR	23,8%	29,3%	31,5%	28,5%
Total	Recuento	223	443	219	885
	% dentro de CYP19-3UTR	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.07

#### 4.7.6. Análisis del gen CYP 19 marcador IVS4

A continuación se muestran los resultados obtenidos en el análisis del CYP 19 marcador IVS4 (tablas 52-55), en el que tampoco encontramos diferencias ni identificamos tendencias destacables.

Tabla 52. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen CYP 19 marcador IVS 4 según riesgo estimado de fractura mayor sin DMO

RAFXM_NODMO		IVS4			Total
		11	12	22	
Bajo riesgo	Recuento	49	83	14	146
	% dentro de IVS4	14,4%	19,5%	11,8%	16,5%
Normal	Recuento	190	225	69	484
	% dentro de IVS4	55,7%	52,8%	58,0%	54,6%
Alto riesgo	Recuento	102	118	36	256
	% dentro de IVS4	29,9%	27,7%	30,3%	28,9%
Total	Recuento	341	426	119	886
	% dentro de IVS4	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.2

Tabla 53. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen CYP 19 marcador IVS 4 según riesgo estimado de fractura de cadera sin DMO

RAFC_NODMO		IVS4			Total
		11	12	22	
Bajo riesgo	Recuento	37	65	14	116
	% dentro de IVS4	10,9%	15,3%	11,8%	13,1%
Normal	Recuento	185	205	62	452
	% dentro de IVS4	54,3%	48,1%	52,1%	51,0%
Alto riesgo	Recuento	119	156	43	318
	% dentro de IVS4	34,9%	36,6%	36,1%	35,9%
Total	Recuento	341	426	119	886
	% dentro de IVS4	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.3**

Tabla 54. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen CYP 19 marcador IVS 4 según riesgo estimado de fractura mayor con DMO

RAFM_DMOC		IVS4			Total
		11	12	22	
Bajo riesgo	Recuento	52	80	18	150
	% dentro de IVS4	15,2%	18,8%	15,3%	16,9%
Normal	Recuento	192	219	60	471
	% dentro de IVS4	56,3%	51,4%	50,8%	53,2%
Alto riesgo	Recuento	97	127	40	264
	% dentro de IVS4	28,4%	29,8%	33,9%	29,8%
Total	Recuento	341	426	118	885
	% dentro de IVS4	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor:0.2**

Tabla 55. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen CYP 19 marcador IVS 4 según riesgo estimado de fractura de cadera con DMO

RAFC_DMO		IVS4			Total
		11	12	22	
Bajo riesgo	Recuento	136	172	46	354
	% dentro de IVS4	39,9%	40,4%	39,0%	40,0%
Normal	Recuento	117	132	30	279
	% dentro de IVS4	34,3%	31,0%	25,4%	31,5%
Alto riesgo	Recuento	88	122	42	252
	% dentro de IVS4	25,8%	28,6%	35,6%	28,5%
Total	Recuento	341	426	118	885
	% dentro de IVS4	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.6

#### 4.7.7. Análisis del gen BMP15 marcador -673C

A continuación se muestran los resultados obtenidos en el análisis del gen BMP15 marcador -673C (tablas 56-59), no se hallan ni diferencias ni tendencias.

Tabla 56. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen BMP15 marcador -673 según riesgo estimado de fractura mayor sin DMO

RAFXM_NODMO		BMP15-673C			Total
		CC	TC	TT	
Bajo riesgo	Recuento	90	50	6	146
	% dentro de BMP15-673C	15,7%	18,2%	15,8%	16,5%
Normal	Recuento	317	145	21	484
	% dentro de BMP15-673C	55,3%	52,9%	55,3%	54,6%
Alto riesgo	Recuento	166	79	11	256
	% dentro de BMP15-673C	29,0%	28,8%	28,9%	28,9%
Total	Recuento	573	274	38	886
	% dentro de BMP15-673C	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.9

Tabla 57. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen BMP15 marcador -673 según riesgo estimado de fractura de cadera sin DMO

RAFXM_NODMO		BMP15-673C			Total
		CC	TC	TT	
Bajo riesgo	Recuento	69	40	6	116
	% dentro de BMP15-673C	12,0%	14,6%	15,8%	13,1%
Normal	Recuento	297	137	18	452
	% dentro de BMP15-673C	51,8%	50,0%	47,4%	51,0%
Alto riesgo	Recuento	207	97	14	318
	% dentro de BMP15-673C	36,1%	35,4%	36,8%	35,9%
Total	Recuento	573	274	38	886
	% dentro de BMP15-673C	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.8**

Tabla 58. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen BMP15 marcador -673 según riesgo estimado de fractura mayor con DMO

RAFM_DMOC		BMP15-673C			Total
		CC	TC	TT	
Bajo riesgo	Recuento	93	49	7	150
	% dentro de BMP15-673C	16,2%	17,9%	18,4%	16,9%
Normal	Recuento	310	143	18	471
	% dentro de BMP15-673C	54,1%	52,4%	47,4%	53,2%
Alto riesgo	Recuento	170	81	13	264
	% dentro de BMP15-673C	29,7%	29,7%	34,2%	29,8%
Total	Recuento	573	273	38	885
	% dentro de BMP15-673C	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.9**

Tabla 59. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen BMP15 marcador -673 según riesgo estimado de fractura de cadera con DMO

RAFC_DMO		BMP15-673C			Total
		CC	TC	TT	
Bajo riesgo	Recuento	228	111	14	354
	% dentro de BMP15-673C	39,8%	40,7%	36,8%	40,0%
Normal	Recuento	183	85	11	279
	% dentro de BMP15-673C	31,9%	31,1%	28,9%	31,5%
Alto riesgo	Recuento	162	77	13	252
	% dentro de BMP15-673C	28,3%	28,2%	34,2%	28,5%
Total	Recuento	573	273	38	885
	% dentro de BMP15-673C	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.9

#### 4.7.8. Análisis del gen BMP15 marcador -9C >G

A continuación se muestran los resultados obtenidos en el análisis del gen BMP15 marcador -9C>G (tablas 60-63), una vez más sin hallazgos significativos.

Tabla 60. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen BMP15 marcador -9C >G según riesgo estimado de fractura mayor sin DMO

RAFXM_NODMO		BMP15-9C>G			Total
		CC	GC	GG	
Bajo riesgo	Recuento	90	50	6	146
	% dentro de BMP15-9C>G	15,7%	18,2%	15,8%	16,5%
Normal	Recuento	317	145	21	484
	% dentro de BMP15-9C>G	55,3%	52,9%	55,3%	54,6%
Alto riesgo	Recuento	166	79	11	256
	% dentro de BMP15-9C>G	29,0%	28,8%	28,9%	28,9%
Total	Recuento	573	274	38	886
	% dentro de BMP15-9C>G	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.9

Tabla 61. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen BMP15 marcador -9C>G según riesgo estimado de fractura de cadera sin DMO

RAFC_NODMO		BMP15-9C>G			Total
		CC	GC	GG	
Bajo riesgo	Recuento	69	40	6	116
	% dentro de BMP15-9C>G	12,0%	14,6%	15,8%	13,1%
Normal	Recuento	297	137	18	452
	% dentro de BMP15-9C>G	51,8%	50,0%	47,4%	51,0%
Alto riesgo	Recuento	207	97	14	318
	% dentro de BMP15-9C>G	36,1%	35,4%	36,8%	35,9%
Total	Recuento	573	274	38	886
	% dentro de BMP15-9C>G	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.8

Tabla 62. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen BMP15 marcador -9C>G según riesgo estimado de fractura mayor con DMO

RAFM_DMOC		BMP15-9>G			Total
		CC	GC	GG	
Bajo riesgo	Recuento	93	49	7	150
	% dentro de BMP15-9C>G	16,2%	17,9%	18,4%	16,9%
Normal	Recuento	310	143	18	471
	% dentro de BMP15-9C>G	54,1%	52,4%	47,4%	53,2%
Alto riesgo	Recuento	170	81	13	264
	% dentro de BMP15-9C>G	29,7%	29,7%	34,2%	29,8%
Total	Recuento	573	273	38	885
	% dentro de BMP15-9C>G	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.9

Tabla 63. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen BMP15 marcador -9C >G según riesgo estimado de fractura de cadera con DMO

RAFC_DMO		BMP15-9C>G			Total
		CC	GC	GG	
Bajo riesgo	Recuento	228	111	14	354
	% dentro de BMP15-9C>G	39,8%	40,7%	36,8%	40,0%
Normal	Recuento	183	85	11	279
	% dentro de BMP15-9C>G	31,9%	31,1%	28,9%	31,5%
Alto riesgo	Recuento	162	77	13	252
	% dentro de BMP15-9C>G	28,3%	28,2%	34,2%	28,5%
Total	Recuento	573	273	38	885
	% dentro de BMP15-9C>G	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.9

#### 4.7.9. Análisis del gen BMP15 marcador 905A

A continuación se muestran los resultados obtenidos en el análisis del gen BMP15 marcador 905A (tablas 64-67), sin nada que destacar.

Tabla 64. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen BMP15 marcador 905A según riesgo estimado de fractura mayor sin DMO

RAFXM_NODMO		BMP15-905A			Total
		CC	TC	TT	
Bajo riesgo	Recuento	10	64	72	146
	% dentro de BMP15-905A	15,6%	18,0%	15,5%	16,5%
Normal	Recuento	38	183	263	484
	% dentro de BMP15-905A	59,4%	51,4%	56,4%	54,6%
Alto riesgo	Recuento	16	109	131	256
	% dentro de BMP15-905A	25,0%	30,6%	28,1%	28,9%
Total	Recuento	64	356	466	886
	% dentro de BMP15-905A	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.9

Tabla 65. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen BMP15 marcador 905A según riesgo estimado de fractura de cadera sin DMO

RAFC_NODMO		BMP15-905A			Total
		CC	TC	TT	
Bajo riesgo	Recuento	8	50	58	116
	% dentro de BMP15-905A	12,5%	14,0%	12,4%	13,1%
Normal	Recuento	34	174	244	452
	% dentro de BMP15-905A	53,1%	48,9%	52,4%	51,0%
Alto riesgo	Recuento	22	132	164	318
	% dentro de BMP15-905A	34,4%	37,1%	35,2%	35,9%
Total	Recuento	64	356	466	886
	% dentro de BMP15-905A	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.8**

Tabla 66. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen BMP15 marcador 905A según riesgo estimado de fractura mayor con DMO

RAFM_DMOC		BMP15-905A			Total
		CC	TC	TT	
Bajo riesgo	Recuento	9	64	77	150
	% dentro de BMP15-905A	14,1%	18,0%	16,5%	16,9%
Normal	Recuento	32	192	247	471
	% dentro de BMP15-905A	50,0%	54,1%	53,0%	53,2%
Alto riesgo	Recuento	23	99	142	264
	% dentro de BMP15-905A	35,9%	27,9%	30,5%	29,8%
Total	Recuento	64	355	466	885
	% dentro de BMP15-905A	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.7**

Tabla 67. Análisis de la distribución de polimorfismos del gen BMP15 marcador 905A según riesgo estimado de fractura de cadera con DMO

RAFC_DMO		BMP15-905A			Total
		CC	TC	TT	
Bajo riesgo	Recuento	23	150	181	354
	% dentro de BMP15-905A	35,9%	42,3%	38,8%	40,0%
Normal	Recuento	19	110	150	279
	% dentro de BMP15-905A	29,7%	31,0%	32,2%	31,5%
Alto riesgo	Recuento	22	95	135	252
	% dentro de BMP15-905A	34,4%	26,8%	29,0%	28,5%
Total	Recuento	64	355	466	885
	% dentro de BMP15-905A	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.7

#### 4.7.10. Análisis del gen BMP15 marcador N103

A continuación se muestran los resultados obtenidos en el análisis del gen BMP15 marcador N103 (tablas 68-71). No hallamos diferencias significativas pero sí identificamos un polimorfismo muy poco frecuente (0.23%) en la población para el que nuestros datos sugieren que podría asociarse con mayor riesgo pero que, dado que sólo teníamos dos casos, no puede siquiera describirse como tendencia).

Tabla 68. Análisis del gen BMP15 marcador – N103 para riesgo estimado de fractura mayor sin DM

RAFXM_NODMO		BMP15-N103			Total
		AA	AG	GG	
Bajo riesgo	Recuento	133	13	0	146
	% dentro de BMP15-N103	16,5%	17,3%	0,0%	16,5%
Normal	Recuento	443	39	1	484
	% dentro de BMP15-N103	54,8%	52,0%	50,0%	54,6%
Alto riesgo	Recuento	232	23	1	256
	% dentro de BMP15-N103	28,7%	30,7%	50,0%	28,9%
Total	Recuento	808	75	2	886
	% dentro de BMP15-N103	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.5

Tabla 69. Análisis del gen BMP15 marcador N103 para riesgo estimado de fractura de cadera sin DM

RAFC_NODMO		BMP15-N103			Total
		AA	AG	GG	
Bajo riesgo	Recuento	108	8	0	116
	% dentro de BMP15N103	13,4%	10,7%	0,0%	13,1%
Normal	Recuento	411	40	0	452
	% dentro de BMP15N103	50,9%	53,3%	0,0%	51,0%
Alto riesgo	Recuento	289	27	2	318
	% dentro de BMP15N103	35,8%	36,0%	100,0%	35,9%
Total	Recuento	808	75	2	886
	% dentro de BMP15N103	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.4

Tabla 70. Análisis del gen BMP15 marcador – N103 para riesgo estimado de fractura mayor con DM.

RAFM_DMOC		BMP15-N103			Total
		AA	AG	GG	
Bajo riesgo	Recuento	139	11	0	150
	% dentro de BMP15-N103	17,2%	14,7%	0,0%	16,9%
Normal	Recuento	425	45	1	471
	% dentro de BMP15-N103	52,7%	60,0%	50,0%	53,2%
Alto riesgo	Recuento	243	19	1	264
	% dentro de BMP15-N103	30,1%	25,3%	50,0%	29,8%
Total	Recuento	807	75	2	885
	% dentro de BMP15-N103	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.7

Tabla 71. Análisis del gen BMP15 marcador – N103 para riesgo estimado de fractura de cadera con DM

RAFC_DMOC		BMP15-N103			Total
		AA	AG	GG	
Bajo riesgo	Recuento	328	26	0	354
	% dentro de BMP15-N103	40,6%	34,7%	0,0%	40,0%
Normal	Recuento	249	29	1	279
	% dentro de BMP15-N103	30,9%	38,7%	50,0%	31,5%
Alto riesgo	Recuento	230	20	1	252
	% dentro de BMP15-N103	28,5%	26,7%	50,0%	28,5%
Total	Recuento	1	807	75	2
	% dentro de BMP15-N103	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor:0.5**

Por tanto, en el análisis unilocus para cada una de las categorías de cálculo de riesgo de fractura ajustado por edad no se han hallado diferencias significativas y únicamente hemos identificado unas discretas tendencias hacia algo mayor de riesgo estimado en el gen FSHR polimorfismo AA (Tablas 32-35) y tendencia a riesgo estimado de fractura bajo, en el gen RIP 140 polimorfismo GG (Tabla 47).

Destacar la muy baja prevalencia del polimorfismo GG del gen BMP 15-N103 pero, su asociación, en nuestros resultados, a riesgo de fractura estimado alto (tabla 69). Se trata de dos mujeres cuyas edades eran 51 y 71 años y que presentaban una densidad mineral ósea lumbar de 0.782 gr/cm<sup>2</sup> (T-score: -2,4) y 0.749 gr/cm<sup>2</sup> ( T-score: -2.7) respectivamente.

Ambas quedan catalogadas en el grupo de alto riesgo de fractura de cadera estimado sin densitometría y, tan solo la mujer de 71 años se mantiene en el grupo de alto riesgo de fractura al estimar el riesgo con los datos de la densitometría. También queda catalogada como alto riesgo en el resto de estimaciones. Como datos importantes cabe destacar el hecho de que dicha paciente tenía como antecedente personal una fractura previa.

## 4.8. Análisis de interacción genética

### 4.8.1. Análisis digénico

Dadas las características probablemente poligénica de la osteoporosis, en la presente tesis quisimos avanzar en estudio de interacciones genéticas y se realizaron los cálculos estadísticos que relacionan, de manera digénica, entre los diez locus a estudio, las posibles combinaciones de los alelos (9 en total) en cada grupo de riesgo de fractura ajustado por edad (fractura mayor y de cadera, con y sin densitometría ósea), dividido en tres categorías (alto riesgo, normal y bajo riesgo).

Para cada grupo de cálculo de riesgo de fractura (riesgo de fractura mayor y de cadera, con y sin densitometría ósea) se obtienen 45 tablas de contingencia con la prueba Chi-cuadrado correspondiente con el fin de intentar identificar posibles relaciones estadísticamente significativas.

Como ya expusimos, para los genes FSHR, ESR1, ESR2, RIP140 la muestra es de 582 pacientes y para el resto de genes la N aumenta a 886 pacientes.

#### 4.8.1.1. Análisis digénico para el riesgo estimado de fractura por FRAX® calculado sin densitometría

En el análisis digénico del riesgo estimado de fractura por FRAX® calculado sin densitometría, tanto para fractura mayor como para fractura de cadera, no se han hallado relaciones estadísticamente significativas. Por simplificar mostraremos únicamente las tablas de riesgo estimado para fractura mayor.

A continuación se muestran las tablas correspondientes a las combinaciones de los genes FSHR, ESR1, ESR2 y RIP 140 para el cálculo de riesgo de fractura mayor.

En las tablas de contingencia queda reflejado los grupos de riesgo como RAFM\_NODM = riesgo ajustado por edad para fractura mayor sin datos de la DMO:

1. RB: Riesgo ajustado considerado “bajo riesgo” (< percentil25)
2. RN: Riesgo ajustado considerado como “normal” (p25 - 75)
3. RA: Riesgo considerado como “alto” (> p75)

Se ha resaltado con el color de fuente rojo, los hallazgos que, aún no siendo estadísticamente significativos, muestran unos porcentajes de riesgo superior a lo esperables, y sugieren que quizás una muestra mayor podría haber encontrado diferencias.

#### 4.8.1.1.1. Análisis de las relaciones digénicas gen FSHR con el resto para riesgo de fractura mayor sin DMO

A continuación se muestran las tablas de contingencia de las combinaciones digénicas con su p-valor del estadístico Chi-cuadrado correspondiente (Tablas 72- 80).

No hallamos diferencias estadísticamente significativas, pero cabe destacar que el 44% de las mujeres con el polimorfismo AAAA de los locus FSHR y RIP-140 respectivamente, fueron catalogadas como de alto riesgo de fractura (Tabla 74).

Tabla 72. Análisis FSH-ESR1

RAFXM	FSHR - ESR1									Total
	AACC	AATC	AATT	ASCC	ASTC	ASTT	SSCC	SSTC	SSTT	
RB	7 (15%)	16 (18%)	11 (20%)	15 (24%)	23 (16%)	14 (18%)	3 (16%)	13 (24%)	4 (13%)	106 (18%)
RN	27 (57%)	51 (57%)	24 (44%)	31 (50%)	86 (58%)	41 (54%)	14 (74%)	24 (44%)	22 (73%)	320 (55%)
RA	13 (28%)	23 (26%)	20 (36%)	16 (26%)	39 (26%)	21 (28%)	2 (11%)	18 (33%)	4 (13%)	156 (27%)
<b>Total</b>	47 (100%)	90 (100%)	55 (100%)	62 (100%)	148 (100%)	76 (100%)	19 (100%)	55 (100%)	30 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.4

Tabla 73. Análisis FSH-ESR2

RAFXM	FSHR_ESR2									Total
	AAAA	AAGA	AAGG	ASAA	ASGA	ASGG	SSAA	SSGA	SSGG	
RB	9 26%	15 16%	10 15%	9 20%	26 20%	17 15%	4 16%	9 21%	7 19%	106 18%
RN	15 44%	51 55%	36 54%	23 52%	73 55%	62 55%	14 56%	27 62%	19 52%	320 54%
RA	10 29%	26 28%	20 30%	12 27%	32 24%	32 28%	7 28%	7 16%	10 27%	156 27%
<b>Total</b>	34 100%	92 100%	66 100%	44 100%	131 100%	111 100%	25 100%	43 100%	36 100%	582 100%

p-valor: 0.6

Tabla 74. Análisis FSH-RIP-140

RAFXM	FSHR - RIP140									Total
	AAAA	AAGA	AAGG	ASAA	ASGA	ASGG	SSAA	SSGA	SSGG	
RB	9 23%	15 15%	10 18%	10 19%	26 18%	16 18%	2 11%	10 18%	8 24%	106 18%
RN	12 31%	55 55%	35 64%	31 58%	81 55%	46 53%	13 72%	30 56%	17 51%	320 54%
RA	17 44%	30 30%	9 16%	12 22%	40 27%	24 27%	3 16%	13 24%	8 24%	156 26%
<b>Total</b>	38 100%	100 100%	54 100%	53 100%	147 100%	86 100%	18 100%	53 100%	33 100%	582 100%

p-valor: 0.4

Tabla 75. Análisis FSH- CYP 19 3' UTR

RAFXM	FSHR - CYP 19 3'UTR									Total
	AAAA	AAGA	AAGG	ASAA	ASGA	ASGG	SSAA	SSGA	SSGG	
RB	8 (18%)	17 (18%)	9 (17%)	12 (18%)	31 (22%)	9 (11%)	3 (11%)	14 (25%)	3 (14%)	106 (18%)
RN	23 (52%)	50 (53%)	29 (55%)	33 (51%)	77 (55%)	48 (59%)	15 (56%)	33 (60%)	12 (55%)	320 (55%)
RA	13 (30%)	28 (29%)	15 (28%)	20 (31%)	32 (23%)	24 (30%)	9 (33%)	8 (15%)	7 (32%)	156 (27%)
<b>Total</b>	44 (100%)	95 (100%)	53 (100%)	65 (100%)	140 (100%)	81 (100%)	27 (100%)	55 (100%)	22 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.7

Tabla 76. Análisis FSH-CYP 19 marcador IVS4

RAFXM	FSHR IVS4									Total
	AA11	AA12	AA22	AS11	AS12	AS22	SS11	SS12	SS22	
RB	11 (15%)	18 (20%)	5 (19%)	20 (19%)	28 (21%)	4 (8%)	3 (8%)	15 (28%)	2 (18%)	106 (18%)
RN	40 (54%)	51 (55%)	11 (42%)	54 (52%)	71 (53%)	33 (67%)	26 (67%)	29 (54%)	5 (45%)	320 (55%)
RA	23 (31%)	23 (25%)	10 (38%)	29 (28%)	35 (26%)	12 (24%)	10 (26%)	10 (19%)	4 (36%)	156 (27%)
<b>Total</b>	74 (100%)	92 (100%)	26 (100%)	103 (100%)	134 (100%)	49 (100%)	39 (100%)	54 (100%)	11 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.4

Tabla 77. Análisis FSH-BMP15 673C

RAFXM	FSHR_BMP15673C_NUM									Total
	AACC	AATC	AATT	ASCC	ASTC	ASTT	SSCC	SSTC	SSTT	
RB	19 (16%)	13 (21%)	2 (20%)	33 (17%)	18 (22%)	1 (09%)	12 (17%)	6 (21%)	2 40%	106 (18%)
RN	62 (52%)	35 (56%)	5 (50%)	112 (58%)	41 (49%)	5 (45%)	40 (57%)	17 (59%)	3 60%	320 (55%)
RA	38 (32%)	15 (24%)	3 (30%)	47 (24%)	24 (29%)	5 (45%)	18 (26%)	6 (21%)	0 (0%)	156 (27%)
Total	119 (100%)	63 (100%)	10 (100%)	192 (100%)	83 (100%)	11 (100%)	70 (100%)	29 (100%)	5 100%	582 (100%)

p-valor: 0.8

Tabla 78. Análisis FSH-BMP15 C>G

RAFXM	FSHR_BMP159C>G									Total
	AACC	AAGC	AAGG	ASCC	ASGC	ASGG	SSCC	SSGC	SSGG	
RB	19 (16%)	13 (21%)	2 (20%)	33 (17%)	18 (22%)	1 (9%)	12 (17%)	6 (21%)	2 (40%)	106 (18%)
RM	62 (52%)	35 (56%)	5 (50%)	112 (58%)	41 (49%)	5 (45%)	40 (57%)	17 (59%)	3 (60%)	320 (55%)
RA	38 (32%)	15 (24%)	3 (30%)	47 (24%)	24 (29%)	5 (45%)	18 (26%)	6 (21%)	0 (0%)	156 (27%)
Total	119 (100%)	63 (100%)	10 (100%)	192 (100%)	83 (100%)	11 (100%)	70 (100%)	29 (100%)	5 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.8

Tabla 79. Análisis FSH-BMP15 905A

RAFXM	FSHR - BMP15 905A									Total
	AACC	AATC	AATT	ASCC	ASTC	ASTT	SSCC	SSTC	SSTT	
RB	4 (22%)	13 (18%)	17 (17%)	3 (18%)	23 (20%)	26 (17%)	2 (29%)	9 (23%)	9 (16%)	106 (18%)
RN	10 (56%)	40 (56%)	52 (50%)	8 (47%)	53 (47%)	97 (62%)	5 (71%)	23 (58%)	32 (56%)	320 (55%)
RA	4 (22%)	18 (25%)	34 (33%)	6 (35%)	37 (33%)	33 (21%)	0 (0%)	8 (20%)	16 (28%)	156 (27%)
Total	18 (100%)	71 (100%)	103 (100%)	17 (100%)	113 (100%)	156 (100%)	7 100%	40 100%	57 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.6

Tabla 80. Análisis FSH-BMP15 N103

RAF M	FSHR - BMP15N103							Total
	AAAA	AAAG	AAGG	ASAA	ASAG	SSAA	SSAG	
RB	32 (18%)	2 (13%)	0 (0%)	48 (18%)	4 (15%)	17 (18%)	3 (38%)	106 (18%)
RN	90 (51%)	11 (73%)	1 (50%)	145 (56%)	13 (50%)	56 (58%)	4 (50%)	320 (55%)
RA	53 (30%)	2 (13%)	1 (50%)	67 (26%)	9 (35%)	23 (24%)	1 (13%)	156 (27%)
Total	175 (100%)	15 (100%)	2 (100%)	260 (100%)	26 (100%)	96 (100%)	8 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.7

#### 4.8.1.1.2. Análisis de las relaciones digénicas gen ESR1 con el resto para riesgo de fractura mayor sin DMO

A continuación se muestran las tablas de contingencia de las combinaciones digénicas con su p-valor del estadístico Chi-cuadrado correspondiente (Tablas 81-88).

No encontramos diferencias significativas pero cabe destacar que:

- El 48% de las mujeres con el genotipo TTA A de los genes ESR1 y RIP 140 respectivamente, eran catalogadas como de alto riesgo de fractura (Tabla 82).
- El 50% de los casos con genotipo TTTT de los genes ESR1 y BMP15 673C, en este caso con únicamente 4 mujeres (0.50% de la muestra) eran de alto riesgo (Tabla 85).
- Y lo mismo sucede con el polimorfismo TTGG de ESR1 y BMP 15 9C>G respectivamente, que tiene una prevalencia de 0.50% en la muestra pero el 50% son mujeres catalogadas como de alto riesgo de fractura y ninguna de bajo riesgo (pero sólo con cuatro mujeres) (Tabla 86).
- En sentido contrario, el genotipo CCCC de ESR1 y BMP 15 905 A mostró una tendencia de mayor frecuencia de bajo riesgo de fractura (40%) (Tabla 87).

Tabla 81. Análisis ESR1- ESR2

RAF XM	ESR1 - ESR2									Total
	CCAA	CCGA	CCGG	TCAA	TCGA	TCGG	TTAA	TTGA	TTGG	
RB	6 (21%)	10 (18%)	9 (20%)	11 (22%)	23 (18%)	18 (16%)	5 (20%)	17 (20%)	7 (13%)	106 (18%)
RM	17 (59%)	32 (58%)	23 (52%)	22 (45%)	75 (59%)	64 (55%)	13 (52%)	44 (53%)	30 (57%)	320 (55%)
RA	6 (21%)	13 (24%)	12 (27%)	16 (33%)	30 (23%)	34 (29%)	7 (28%)	22 (27%)	16 (30%)	156 (27%)
Total	29 (100%)	55 (100%)	44 (100%)	49 (100%)	128 (100%)	116 (100%)	25 (100%)	83 (100%)	53 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.9

Tabla 82. Análisis ESR1- RIP 140

RAF M	ESR1 - RIP140									Total
	CCAA	CCGA	CCGG	TCAA	TCGA	TCGG	TTAA	TTGA	TTGG	
RB	7 (24%)	12 (17%)	6 (20%)	11 (21%)	24 (16%)	17 (18%)	3 (11%)	15 (18%)	11 (22%)	106 (18%)
RN	16 (55%)	40 (58%)	16 (53%)	29 (55%)	80 (55%)	52 (55%)	11 (41%)	46 (54%)	30 (61%)	320 (55%)
RA	6 (21%)	17 (25%)	8 (27%)	13 (25%)	42 (29%)	25 (27%)	13 (48%)	24 (28%)	8 (16%)	156 (27%)
Total	29 (100%)	69 (100%)	30 (100%)	53 (100%)	146 (100%)	94 (100%)	27 (100%)	85 (100%)	49 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.8

Tabla 83. Análisis ESR1- CYP 19 3'UTR

RAF M	ESR1- CYP193UTR									Total
	CCAA	CCGA	CCGG	TCAA	TCGA	TCGG	TTAA	TTGA	TTGG	
RB	8 (30%)	13 (18%)	4 (13%)	10 (14%)	34 (23%)	8 (10%)	5 (13%)	15 (21%)	9 (18%)	106 (18%)
RN	11 (41%)	42 (59%)	19 (63%)	38 (55%)	78 (53%)	45 (58%)	22 (55%)	40 (56%)	25 (51%)	320 (55%)
RA	8 (30%)	16 (23%)	7 (23%)	21 (30%)	35 (24%)	24 (31%)	13 (33%)	17 (24%)	15 (31%)	156 (27%)
Total	27 (100%)	71 (100%)	30 (100%)	69 (100%)	147 (100%)	77 (100%)	40 (100%)	72 (100%)	49 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.6

Tabla 84. Análisis ESR1- CYP 19 IVS4

RAF XM	ESR1_IVS4									Total
	CC11	CC12	CC22	TC11	TC12	TC22	TT11	TT12	TT22	
RB	10 (21%)	13 (22%)	2 (10%)	15 (14%)	33 (23%)	4 (10%)	9 (15%)	15 (19%)	5 (20%)	106 (18%)
RM	26 (54%)	34 (57%)	12 (60%)	62 (57%)	76 (53%)	23 (56%)	32 (54%)	41 (53%)	14 (56%)	320 (55%)
RA	12 (25%)	13 (22%)	6 (30%)	32 (29%)	34 (24%)	14 (34%)	18 (31%)	21 (27%)	6 (24%)	156 (27%)
Total	48 (100%)	60 (100%)	20 (100%)	109 (100%)	143 (100%)	41 (100%)	59 (100%)	77 (100%)	25 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.8

Tabla 85. Análisis ESR1- BMP 15 673C

RAFXM	ESR1-BMP15 673C									Total
	CCCC	CCTC	CCTT	TCCC	TCTC	TCTT	TTCC	TTTC	TTTT	
RB	16 (18%)	7 (23%)	2 (25%)	33 (17%)	16 (18%)	3 (21%)	15 (15%)	14 (25%)	0 (0%)	106 (18%)
RN	50 (56%)	18 (60%)	4 (50%)	106 (56%)	48 (54%)	7 (50%)	58 (57%)	27 (48%)	2 (50%)	320 (55%)
RA	24 (27%)	5 (17%)	2 (25%)	51 (27%)	25 (28%)	4 (29%)	28 (28%)	15 (27%)	2 (50%)	156 (27%)
Total	90 (100%)	30 (100%)	8 (100%)	190 (100%)	89 (100%)	14 (100%)	101 (100%)	56 (100%)	4 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.9

Tabla 86. Análisis ESR1- BMP 15 9C>G

RAFXM	ESR1- BMP15 9C>G									Total
	CCCC	CCGC	CCGG	TCCC	TCGC	TCGG	TTCC	TTGC	TTGG	
RB	16 (18%)	7 (23%)	2 (25%)	33 (17%)	16 (18%)	3 (21%)	15 (15%)	14 (25%)	0 (0%)	106 (18%)
RN	50 (56%)	18 (60%)	4 (50%)	106 (56%)	48 (54%)	7 (50%)	58 (57%)	27 (48%)	2 (50%)	320 (55%)
RA	24 (27%)	5 (17%)	2 (25%)	51 (27%)	25 (28%)	4 (29%)	28 (28%)	15 (27%)	2 (50%)	156 (27%)
Total	90 (100%)	30 (100%)	8 (100%)	190 (100%)	89 (100%)	14 (100%)	101 (100%)	56 (100%)	4 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.9

Tabla 87. Análisis ESR1- BMP 15 905 A

RAFXM	ESR1 - BMP15 905A									Total
	CCCC	CCTC	CCTT	TCCC	TCTC	TCTT	TTCC	TTTC	TTTT	
RB	4 (40%)	9 (21%)	12 (16%)	3 (14%)	22 (20%)	27 (17%)	2 (20%)	14 (20%)	13 (16%)	106 (18%)
RM	4 (40%)	25 (58%)	43 (57%)	14 (64%)	56 (51%)	91 (57%)	5 (50%)	35 (49%)	47 (59%)	320 (55%)
RA	2 (20%)	9 (21%)	20 (27%)	5 (23%)	32 (29%)	43 (27%)	3 (30%)	22 (31%)	20 (25%)	156 (27%)
Total	10 (100)	43 (100%)	75 (100%)	22 (100%)	110 (100%)	161 (100%)	10 (100%)	71 (100%)	80 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.9

Tabla 88. Análisis ESR1- BMP15 N103

RAFX M	ESR1- BMP15 N103								Total
	CCAA	CCAG	CCGG	TCAA	TCAG	TTAA	TTAG	TTGG	
RB	25 (20%)	0 (0%)	0 (0%)	46 (17%)	6 (21%)	26 (18%)	3 (18%)	0 (0%)	106 (18%)
RN	68 (55%)	3 (75%)	1 (100%)	144 (54%)	17 (61%)	79 (55%)	8 (47%)	0 (0%)	320 (55%)
RA	30 (24%)	1 (25%)	0 (0%)	75 (28%)	5 (18%)	38 (27%)	6 (35%)	1 (100%)	156 (27%)
Total	123 (100%)	4 (100%)	1 (100%)	265 (100%)	28 (100%)	143 (100%)	17 (100%)	1 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.9

#### 4.8.1.1.3. Análisis de las relaciones digénicas gen ESR2 con el resto para riesgo de fractura mayor sin DMO

A continuación se muestran las tablas de contingencia de las combinaciones digénicas con su p-valor del estadístico Chi-cuadrado correspondiente (tablas 89- 95).

Tampoco hallamos diferencias estadísticamente significativas, pero sí tendencias sugerentes como:

- De las mujeres con polimorfismo GATT de ESR2- BMP15 673C, el 42% estaban entre las de alto riesgo y sólo el 8% eran de bajo riesgo (tabla 92).
- Entre las mujeres con el genotipo AATT de los locus ESR2 y BMP15 673C (tabla 92) respectivamente (2.1% de la muestra) el 50% eran catalogadas de bajo riesgo y ninguna (0%) de alto riesgo. Y los mismos números y porcentajes presentaron las AAGG para los locus ESR2 y BMP15 9C>G (tabla 93), sugiriendo para ambos tendencia a menor riesgo de fractura.
- Y sin embargo, las GATT de ESR2 y BMP15 673C (tabla 92) (4.2% de la muestra) eran el 42% de alto riesgo y sólo el 8% de bajo riesgo, y exactamente lo mismo sucede para las GAGG de ESR2 y BMP15 9C>G (tabla 93), sugiriendo para ambos tendencia a mayor riesgo de fractura.

Tabla 89. Análisis ESR2- RIP 140

RAFX M	ESR2 RIP140									Total
	AAAA	AAGA	AAGG	GAAA	GAGA	GAGG	GGAA	GGGA	GGGG	
RB	7 (27%)	10 (21%)	5 (17%)	11 (25%)	21 (17%)	18 (18%)	3 (8%)	20 (16%)	11 (24%)	106 (18%)
RN	12 (46%)	26 (54%)	14 (48%)	23 (52%)	65 (52%)	63 (64%)	21 (54%)	75 (59%)	21 (46%)	320 (55%)
RA	7 (27%)	12 (25%)	10 (34%)	10 (23%)	38 (31%)	17 (17%)	15 (38%)	33 (26%)	14 (30%)	156 (27%)
Total	26 (100%)	48 (100%)	29 (100%)	44 (100%)	124 (100%)	98 (100%)	39 (100%)	128 (100%)	46 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.4

Tabla 90. Análisis ESR2- CYP 19 3'UTR

RAF XM	ESR2_CYP19 3'UTR									Total
	AAAA	AAGA	AAGG	GAAA	GAGA	GAGG	GGAA	GGGA	GGGG	
RB	5 (17%)	13 (25%)	4 (17%)	13 (22%)	27 (20%)	10 (14%)	5 (11%)	22 (21%)	7 (11%)	106 (18%)
RN	15 (52%)	25 (49%)	12 (52%)	32 (53%)	80 (59%)	39 (56%)	24 (51%)	55 (53%)	38 (60%)	320 (55%)
RA	9 (31%)	13 (25%)	7 (30%)	15 (25%)	29 (21%)	21 (30%)	18 (38%)	26 (25%)	18 (29%)	156 (27%)
<b>Total</b>	29 (100%)	51 (100%)	23 (100%)	60 (100%)	136 (100%)	70 (100%)	47 (100%)	103 (100%)	63 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.7

Tabla 91. Análisis ESR2- CYP 19 IVS4

RAFXM_ NOD	ESR2_IVS4									Total
	AA11	AA12	AA22	GA11	GA12	GA22	GG11	GG12	GG22	
RB	7 (17%)	14 (29%)	1 (08%)	17 (17%)	27 (21%)	6 (15%)	10 (13%)	20 (19%)	4 (13%)	106 (18%)
RN	24 (59%)	21 (43%)	7 (54%)	55 (56%)	72 (57%)	24 (59%)	41 (54%)	58 (55%)	18 (56%)	320 (55%)
RA	10 (24%)	14 (29%)	5 (38%)	27 (27%)	27 (21%)	11 (27%)	25 (33%)	27 (26%)	10 (31%)	156 (27%)
<b>Total</b>	41 (100%)	49 (100%)	13 (100%)	99 (100%)	126 (100%)	41 (100%)	76 (100%)	105 (100%)	32 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.7

Tabla 92. Análisis ESR2- BMP15 673C

RAFXM	ESR2_BMP15 673C									Total
	AACC	AATC	AATT	GACC	GATC	GATT	GGCC	GGTC	GGTT	
RB	13 (20%)	6 (19%)	3 (50%)	32 (19%)	17 (20%)	1 (8%)	19 (13%)	14 (24%)	1 (13%)	106 (18%)
RN	31 (47%)	18 (58%)	3 (50%)	98 (58%)	47 (55%)	6 (50%)	85 (58%)	28 (47%)	4 (50%)	320 (55%)
RA	22 (33%)	7 (23%)	0 (0%)	39 (23%)	21 (25%)	5 (42%)	42 (29%)	17 (29%)	3 (38%)	156 (27%)
<b>Total</b>	66 (100%)	31 (100%)	6 (100%)	169 (100%)	85 (100%)	12 (100%)	146 (100%)	59 (100%)	8 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.5

Tabla 93. Análisis ESR2- BMP15 9C>G

RAFXM	ESR2 - BMP15 9C>G									Total
	AACC	AAGC	AAGG	GACC	GAGC	GAGG	GGCC	GGGC	GGGG	
RB	13 (20%)	6 (19%)	3 (50%)	32 (19%)	17 (20%)	1 (08%)	19 (13%)	14 (24%)	1 (13%)	106 (18%)
RN	31 (47%)	18 (58%)	3 (50%)	98 (58%)	47 (55%)	6 (50%)	85 (58%)	28 (47%)	4 (50%)	320 (55%)
RA	22 (33%)	7 (23%)	0 (0%)	39 (23%)	21 (25%)	5 (42%)	42 (29%)	17 (29%)	3 (38%)	156 (27%)
Total	66 (100%)	31 (100%)	6 (100%)	169 (100%)	85 (100%)	12 (100%)	146 (100%)	59 (100%)	8 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.5

Tabla 94. Análisis ESR2- BMP15 905A

RAFXM	ESR2 - BMP15 905A									Total
	AACC	AATC	AATT	GACC	GATC	GATT	GGCC	GGTC	GGTT	
RB	3 (33%)	7 (18%)	12 (22%)	3 (15%)	22 (21%)	25 (18%)	3 (23%)	16 (21%)	15 (12%)	106 (18%)
RN	6 (67%)	20 (50%)	26 (48%)	11 (55%)	58 (54%)	82 (59%)	6 (46%)	38 (49%)	73 (59%)	320 (55%)
RA	0 (0%)	13 (33%)	16 (30%)	6 (30%)	27 (25%)	32 (23%)	4 (31%)	23 (30%)	35 (28%)	156 (27%)
Total	9 (100%)	40 (100%)	54 (100%)	20 (100%)	107 (100%)	139 (100%)	13 (100%)	77 (100%)	123 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.7

Tabla 95. Análisis ESR2- BMP15 N103

RAFXM	ESR2 - BMP15 N103							Total
	AAAA	AAAG	GAAA	GAAG	GGAA	GGAG	GGGG	
RB	19 (21%)	3 (25%)	47 (19%)	3 (14%)	31 (16%)	3 (19%)	0 (0%)	106 (18%)
RN	44 (48%)	8 (67%)	140 (57%)	11 (52%)	107 (55%)	9 (56%)	1 (50%)	320 (55%)
RA	28 (31%)	1 (08%)	58 (24%)	7 (33%)	57 (29%)	4 (25%)	1 (50%)	156 (27%)
Total	91 (100%)	12 (100%)	245 (100%)	21 (100%)	195 (100%)	16 (100%)	2 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.8

#### 4.8.1.1.4. Análisis de las relaciones digénicas gen RIP140 con el resto para riesgo de fractura mayor sin DMO

A continuación se muestran las tablas de contingencia de las combinaciones digénicas con su p-valor del estadístico Chi-cuadrado correspondiente (tablas 96-101).

No hallamos diferencias significativas, pero del análisis de las tendencias merece destacarse que:

- Entre las 13 mujeres con AA22 de RIP 140 y CYP19 IVS4 respectivamente, (prevalencia del 2.2% en la muestra), ninguna era de bajo riesgo, aunque sólo el 31% lo eran de alto (tabla 97).
- De las portadoras del polimorfismo AATT de la pareja de locus RIP 140 y BMP15 673C , (prevalencia del 1.2%) el 57% estaban entre las de alto riesgo de fractura (tabla 98). Y exactamente las mismas cifras encontramos para las AAGG de la pareja RIP 140 y BMP15 9C>G (tabla 99).

Tabla 96. Análisis RIP 140- CYP19 3'UTR

RAFX M	RIP140 - CYP19 3UTR									Total
	AAAA	AAGA	AAGG	GAAA	GAGA	GAGG	GGAA	GGGA	GGGG	
RB	8 (32%)	10 (19%)	3 (10%)	9 (13%)	33 (23%)	9 (10%)	6 (14%)	19 (20%)	9 (24%)	106 (18%)
RN	10 (40%)	27 (51%)	19 (61%)	37 (54%)	78 (54%)	51 (59%)	24 (57%)	55 (59%)	19 (50%)	320 (55%)
RA	7 (28%)	16 (30%)	9 (29%)	23 (33%)	33 (23%)	27 (31%)	12 (29%)	19 (20%)	10 (26%)	156 (27%)
<b>Total</b>	25 (100%)	53 (100%)	31 (100%)	69 (100%)	144 (100%)	87 (100%)	42 (100%)	93 (100%)	38 (100%)	582 (100%)

**p-valor: 0.3**

Tabla 97. Análisis RIP 140- CYP19 IVS4

RAFX M	RIP140 - IVS4									Total
	AA11	AA12	AA22	GA11	GA12	GA22	GG11	GG12	GG22	
RB	10 (25%)	11 (20%)	0 (0%)	14 (12%)	31 (22%)	6 (13%)	10 (16%)	19 (22%)	5 (20%)	106 (18%)
RN	18 (45%)	29 (52%)	9 (69%)	66 (58%)	73 (53%)	27 (56%)	36 (58%)	49 (57%)	13 (52%)	320 (55%)
RA	12 (30%)	16 (29%)	4 (31%)	34 (30%)	34 (25%)	15 (31%)	16 (26%)	18 (21%)	7 (28%)	156 (27%)
<b>Total</b>	40 (100%)	56 (100%)	13 (100%)	114 (100%)	138 (100%)	48 (100%)	62 (100%)	86 (100%)	25 (100%)	582 (100%)

**p-valor: 0.6**

Tabla 98. Análisis RIP 140- BMP15 673C

RAFX M	RIP140 - BMP15 673C									Total
	AACC	AATC	AATT	GACC	GATC	GATT	GGCC	GGTC	GGTT	
RB	15 (21%)	5 (17%)	1 (14%)	28 (14%)	19 (21%)	4 (27%)	21 (19%)	13 (23%)	0 (0%)	106 (18%)
RN	37 (51%)	17 (59%)	2 (29%)	116 (59%)	42 (47%)	8 (53%)	61 (54%)	34 (60%)	3 (75%)	320 (55%)
RA	21 (29%)	7 (24%)	4 (57%)	52 (27%)	28 (31%)	3 (20%)	30 (27%)	10 (18%)	1 (25%)	156 (27%)
<b>Total</b>	73 (100%)	29 (100%)	7 (100%)	196 (100%)	89 (100%)	15 (100%)	112 (100%)	57 (100%)	4 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.6

Tabla 99. Análisis RIP 140- BMP15 9C>G

RAFX M	RIP140 - BMP15 9C>G									Total
	AACC	AAGC	AAGG	GACC	GAGC	GAGG	GGCC	GGGC	GGGG	
RB	15 (21%)	5 (17%)	1 (14%)	28 (14%)	19 (21%)	4 (27%)	21 (19%)	13 (23%)	0 (0%)	106 (18%)
RN	37 (51%)	17 (59%)	2 (29%)	116 (59%)	42 (47%)	8 (53%)	61 (54%)	34 (60%)	3 (75%)	320 (55%)
RA	21 (29%)	7 (24%)	4 (57%)	52 (27%)	28 (31%)	3 (20%)	30 (27%)	10 (18%)	1 (25%)	156 (27%)
<b>Total</b>	73 (100%)	29 (100%)	7 (100%)	196 (100%)	89 (100%)	15 (100%)	112 (100%)	57 (100%)	4 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.6

Tabla 100. Análisis RIP 140- BMP15 905A

RAFX M	RIP140 - BMP15 905A									Total
	AACC	AATC	AATT	GACC	GATC	GATT	GGCC	GGTC	GGTT	
RB	2 (22%)	7 (17%)	12 (20%)	7 (28%)	19 (17%)	25 (15%)	0 (0%)	19 (27%)	15 (16%)	106 (18%)
RN	3 (33%)	24 (59%)	29 (49%)	14 (56%)	55 (49%)	97 (60%)	6 (75%)	37 (52%)	55 (59%)	320 (55%)
RA	4 (44%)	10 (24%)	18 (31%)	4 (16%)	38 (34%)	41 (25%)	2 (25%)	15 (21%)	24 (26%)	156 (27%)
<b>Total</b>	9 (100%)	41 (100%)	59 (100%)	25 (100%)	112 (100%)	163 (100%)	8 (100%)	71 (100%)	94 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.4

Tabla 101. Análisis RIP 140 - BMP15 N103

RAFXM	RIP140 - BMP15 N103								Total
	AAAA	AAAG	AAGG	GAAA	GAAG	GAGG	GGAA	GGAG	
RB	19 (19%)	2 (33%)	0 (0%)	46 (17%)	5 (18%)	0 (0%)	32 (20%)	2 (13%)	106 (18%)
RN	53 (52%)	3 (50%)	0 (0%)	150 (55%)	15 (54%)	1 (100%)	88 (56%)	10 (67%)	320 (55%)
RA	30 (29%)	1 (17%)	1 (100%)	75 (28%)	8 (29%)	0 (0%)	38 (24%)	3 (20%)	156 (27%)
Total	102 (100%)	6 (100%)	1 (100%)	271 (100%)	28 (100%)	1 (100%)	158 (100%)	15 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.9

#### 4.8.1.2. Análisis digénico para el riesgo ajustado de fractura por FRAX® estimado con densitometría

En el análisis efectuado para el cálculo del riesgo de fractura, ajustado por edad, calculado por FRAX® introduciendo los datos de la densitometría ósea de cadera, se ha obtenido 45 tablas de contingencia con sus respectivos Chi.cuadrados para identificar posibles relaciones de las combinaciones digénicas con el riesgo de fractura.

Se han estudiado 90 tablas, resultado de los dos grupos de cálculo de riesgo (riesgo de fractura mayor y riesgo de fractura de cadera).

A continuación se muestran las tablas de contingencia que muestran las relaciones digénicas entre los locus estudiados para el riesgo ajustado de fractura de cadera calculado mediante FRAX con los datos de la densitometría de cadera.

En este grupo se halla una relación estadísticamente significativa entre los genes CYP marcador IVS4 y BMP 15 905A cuyo análisis se muestran en el apartado 4.8.2.

Se ha resaltado, en distinta fuente de color, los resultados que, aún no hallándose diferencias estadísticamente significativas, muestran unos porcentajes superiores a los esperables.

Se obvian las tablas de contingencia para el grupo de riesgo ajustado por edad de fractura mayor por no hallarse relaciones estadísticamente significativas ni hallazgos relevantes en el presente estudio.

##### 4.8.1.2.1. Análisis de las relaciones digénicas gen FSHR con el resto para riesgo de fractura de cadera estimado con DMO

A continuación se muestran las tablas de contingencia de las combinaciones digénicas con su p-valor del estadístico Chi-cuadrado correspondiente (tablas 102-110).

Las abreviaturas mostradas para las siguientes tablas se corresponden con:

<b>RAFC</b>	<b>Riesgo ajustado de fractura de cadera estimado con DMO</b>
<b>RB</b>	Riesgo bajo
<b>RN</b>	Riesgo normal
<b>RA</b>	Riesgo alto

No encontramos diferencias estadísticamente significativas pero sí identificamos las siguientes tendencias:

- El 5.8% de las mujeres eran AAAA para los genes FSHR y ESR2 , y de ellas el 59% son de bajo riesgo de fractura (tabla 103).
- El 9.3% de las mujeres eran SS12 en los locus FSHR y CYP 19 IVS4 respectivamente, y el 54% eran de bajo riesgo de fractura y el 19% de alto riesgo sugiriendo tendencia de este polimorfismo a menor riesgo de fractura (tabla 106).
- Y aunque el número de casos es muy bajo, 5 mujeres eran SSTT para los genes FSHR y BMP 15 673C, y de ellas el 60% de bajo riesgo y ninguna de alto riesgo (tabla 107). Y exactamente lo mismo encontramos para el polimorfismo SSGG de los locus *FSHR* y *BMP 15 9C>G* (tabla 108).
- El 2.6% de las mujeres presentaban el polimorfismo AAAG para FSHR y BMP 15 N103, y de ellas el 47% eran de bajo riesgo y sólo el 13% de alto riesgo sugiriendo relación con menor riesgo (tabla 110).

Tabla 102. Análisis gen FSHR- ESR1

RAF C	FSHR_ESR1									Total
	AACC	AATC	AATT	ASCC	ASTC	ASTT	SSCC	SSTC	SSTT	
<b>RB</b>	22 (47%)	39 (43%)	15 (27%)	28 (45%)	61 (41%)	34 (45%)	8 (42%)	23 (42%)	11 (37%)	241 (41%)
<b>RN</b>	13 (28%)	27 (30%)	22 (40%)	14 (23%)	45 (30%)	19 (25%)	6 (32%)	17 (31%)	13 (43%)	176 (30%)
<b>RA</b>	12 (26%)	24 (27%)	18 (33%)	20 (32%)	42 (28%)	23 (30%)	5 (26%)	15 (27%)	6 (20%)	165 (28%)
<b>Total</b>	47 (100%)	90 (100%)	55 (100%)	62 (100%)	148 (100%)	76 (100%)	19 (100%)	55 (100%)	30 (100%)	582 (100%)

**p-valor: 0.8**

Tabla 103. Análisis gen FSHR- ESR2

RAF C	FSHR - ESR2									Total
	AAAA	AAGA	AAGG	ASAA	ASGA	ASGG	SSAA	SSGA	SSGG	
RB	20 (59%)	36 (39%)	20 (30%)	19 (43%)	55 (42%)	49 (44%)	8 (32%)	17 (40%)	17 (47%)	241 (41%)
RN	7 (21%)	27 (29%)	28 (42%)	16 (36%)	33 (25%)	29 (26%)	11 (44%)	14 (33%)	11 (31%)	176 (30%)
RA	7 (21%)	29 (32%)	18 (27%)	9 (20%)	43 (33%)	33 (30%)	6 (24%)	12 (28%)	8 (22%)	165 (28%)
<b>Total</b>	34 (100%)	92 (100%)	66 (100%)	44 (100%)	131 (100%)	111 (100%)	25 (100%)	43 (100%)	36 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.3

Tabla 104. Análisis gen FSHR- RIP 140

RAF C	FSHR_RIP140									Total
	AAAA	AAGA	AAGG	ASAA	ASGA	ASGG	SSAA	SSGA	SSGG	
RB	16 (42%)	35 (35%)	25 (46%)	19 (36%)	64 (44%)	40 (47%)	6 (33%)	22 (42%)	14 (42%)	241 (41%)
RN	10 (26%)	35 (35%)	17 (31%)	17 (32%)	41 (28%)	20 (23%)	7 (39%)	19 (36%)	10 (30%)	176 (30%)
RA	12 (32%)	30 (30%)	12 (22%)	17 (32%)	42 (29%)	26 (30%)	5 (28%)	12 (23%)	9 (27%)	165 (28%)
<b>Total</b>	38 (100%)	100 (100%)	54 (100%)	53 (100%)	147 (100%)	86 (100%)	18 (100%)	53 (100%)	33 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.9

Tabla 105. Análisis gen FSHR- CYP 19 3'UTR

RAF C	FSHR - CYP19 3UTR									Total
	AAAA	AAGA	AAGG	ASAA	ASGA	ASGG	SSAA	SSGA	SSGG	
RB	18 (41%)	39 (41%)	19 (36%)	27 (42%)	59 (42%)	37 (46%)	8 (30%)	28 (51%)	6 (27%)	241 (41%)
RN	14 (32%)	31 (33%)	17 (32%)	25 (38%)	33 (24%)	20 (25%)	12 (44%)	16 (29%)	8 (36%)	176 (30%)
RA	12 (27%)	25 (26%)	17 (32%)	13 (20%)	48 (34%)	24 (30%)	7 (26%)	11 (20%)	8 (36%)	165 (28%)
<b>Total</b>	44 (100%)	95 (100%)	53 (100%)	65 (100%)	140 (100%)	81 (100%)	27 (100%)	55 (100%)	22 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.4

Tabla 106. Análisis gen FSHR- CYP 19 IVS4

RAF C	FSHR - IVS4									Total
	AA11	AA12	AA22	AS11	AS12	AS22	SS11	SS12	SS22	
RB	34 (46%)	34 (37%)	8 (31%)	43 (42%)	57 (43%)	23 (47%)	10 (26%)	29 (54%)	3 (27%)	241 (41%)
RN	23 (31%)	30 (33%)	9 (35%)	32 (31%)	35 (26%)	11 (22%)	17 (44%)	15 (28%)	4 (36%)	176 (30%)
RA	17 (23%)	28 (30%)	9 (35%)	28 (27%)	42 (31%)	15 (31%)	12 (31%)	10 (19%)	4 (36%)	165 (28%)
Total	74 (100%)	92 (100%)	26 (100%)	103 (100%)	134 (100%)	49 (100%)	39 (100%)	54 (100%)	11 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.4

Tabla 107. Análisis gen FSHR- BMP 15 673C

RAFC	FSHR - BMP15 673C									Total
	AACC	AATC	AATT	ASCC	ASTC	ASTT	SSCC	SSTC	SSTT	
RB	44 (37%)	28 (44%)	4 (40%)	83 (43%)	38 (46%)	2 (18%)	29 (41%)	10 (34%)	3 (60%)	241 (41%)
RN	41 (34%)	18 (29%)	3 (30%)	52 (27%)	22 (27%)	4 (36%)	22 (31%)	12 (41%)	2 (40%)	176 (30%)
RA	34 (29%)	17 (27%)	3 (30%)	57 (30%)	23 (28%)	5 (45%)	19 (27%)	7 (24%)	0 (0%)	165 (28%)
Total	119 (100%)	63 (100%)	10 (100%)	192 (100%)	83 (100%)	11 (100%)	70 (100%)	29 (100%)	5 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.8

Tabla 108. Análisis gen FSHR- BMP 15 9C>G

RAFC	FSHR - BMP15 9C>G									Total
	AACC	AAGC	AAGG	ASCC	ASGC	ASGG	SSCC	SSGC	SSGG	
RB	44 (37%)	28 (44%)	4 (40%)	83 (43%)	38 (46%)	2 (18%)	29 (41%)	10 (34%)	3 (60%)	241 (41%)
RN	41 (34%)	18 (29%)	3 (30%)	52 (27%)	22 (27%)	4 (36%)	22 (31%)	12 (41%)	2 (40%)	176 (30%)
RA	34 (29%)	17 (27%)	3 (30%)	57 (30%)	23 (28%)	5 (45%)	19 (27%)	7 (24%)	0 (0%)	165 (28%)
Total	119 (100%)	63 (100%)	10 (100%)	192 (100%)	83 (100%)	11 (100%)	70 (100%)	29 (100%)	5 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.8

Tabla 109. Análisis gen FSHR- BMP 15 905A

RAFC	FSHR - BMP15 905A									Total
	AACC	AATC	AATT	ASCC	ASTC	ASTT	SSCC	SSTC	SSTT	
RB	7 (39%)	31 (44%)	38 (37%)	5 (29%)	52 (46%)	66 (42%)	3 (43%)	18 (45%)	21 (37%)	241 (41%)
RN	6 (33%)	22 (31%)	34 (33%)	6 (35%)	30 (27%)	42 (27%)	3 (43%)	15 (38%)	18 (32%)	176 (30%)
RA	5 (28%)	18 (25%)	31 (30%)	6 (35%)	31 (27%)	48 (31%)	1 (14%)	7 (18%)	18 (32%)	165 (28%)
Total	18 (100%)	71 (100%)	103 (100%)	17 (100%)	113 (100%)	156 (100%)	7 100%	40 (100%)	57 (100%)	582 100%

p-valor: 0.9

Tabla 110. Análisis gen FSHR- BMP 15 N103

RAFC	FSHR - BMP15 N103							Total
	AAAA	AAAG	AAGG	ASAA	ASAG	SSAA	SSAG	
RB	69 (39%)	7 (47%)	0 (0%)	113 (43%)	10 (38%)	40 (42%)	2 (25%)	241 (41%)
RN	55 (31%)	6 (40%)	1 (50%)	70 (27%)	8 (31%)	31 (32%)	5 (63%)	176 (30%)
RA	51 (29%)	2 (13%)	1 (50%)	77 (30%)	8 (31%)	25 (26%)	1 (13%)	165 (28%)
Total	175 (100%)	15 (100%)	2 (100%)	260 (100%)	26 (100%)	96 (100%)	8 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0

#### 4.8.1.2.2. Análisis de las relaciones digénicas gen ESR1 con el resto para riesgo de fractura de cadera estimado con DMO

A continuación se muestran las tablas de contingencia de las combinaciones digénicas con su p-valor del estadístico Chi-cuadrado correspondiente (tablas 111-118).

De nuevo no encontramos diferencias estadísticamente significativas pero sí tendencias reseñables:

- El 5% de las mujeres eran CCAA para los genes ESR1- ESR2 y de ellas el 59% eran de bajo riesgo y sólo el 17% de alto riesgo, sugiriendo relación con menor riesgo óseo (tabla 111).
- El 57% de las CCGG en ESR1 y RIP 140, respectivamente, eran de bajo riesgo de fractura (tabla 112).

- El 52% de las CCAA para ESR1 y CYP 19 3'UTR eran de bajo riesgo (tabla113).
- El 45% de las CC22 para ESR1- CYP 19 IVS4 eran de alto riesgo de fractura (tabla 114).
- El 57% de las CCTC para ESR1- BMP 15 673C eran de bajo riesgo (tabla 115).
- El 57% de las CCGC de los locus ESR1- BMP 15 9C>G eran de bajo riesgo de fractura (tabla 116).

Tabla 111. Análisis ESR1- ESR2

RAF C	ESR1_ESR2									Total
	CCAA	CCGA	CCGG	TCAA	TCGA	TCGG	TTAA	TTGA	TTGG	
RB	17 (59%)	22 (40%)	19 (43%)	19 (39%)	57 (45%)	47 (41%)	11 (44%)	29 (35%)	20 (38%)	241 (41%)
RN	7 (24%)	13 (24%)	13 (30%)	18 (37%)	34 (27%)	37 (32%)	9 (36%)	27 (33%)	18 (34%)	176 (30%)
RA	5 (17%)	20 (36%)	12 (27%)	12 (24%)	37 (29%)	32 (28%)	5 (20%)	27 (33%)	15 (28%)	165 (28%)
<b>Total</b>	29 (100%)	55 (100%)	44 (100%)	49 (100%)	128 (100%)	116 (100%)	25 (100%)	83 (100%)	53 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.8

Tabla 112. Análisis ESR1- RYP 140

RAF C	ESR1_RIP140									Total
	CCAA	CCGA	CCGG	TCAA	TCGA	TCGG	TTAA	TTGA	TTGG	
RB	10 (34%)	31 (45%)	17 (57%)	20 (38%)	58 (40%)	45 (48%)	11 (41%)	32 (38%)	17 (35%)	241 (41%)
RN	9 (31%)	18 (26%)	6 (20%)	16 (30%)	47 (32%)	26 (28%)	9 (33%)	30 (35%)	15 (31%)	176 (30%)
RA	10 (34%)	20 (29%)	7 (23%)	17 (32%)	41 (28%)	23 (24%)	7 (26%)	23 (27%)	17 (35%)	165 (28%)
<b>Total</b>	29 (100%)	69 (100%)	30 (100%)	53 (100%)	146 (100%)	94 (100%)	27 (100%)	85 (100%)	49 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.9

Tabla 113. Análisis ESR1- CYP 19 3'UTR

RAFC _DM	ESR1 - CYP19 3UTR									Total
	CCAA	CCGA	CCGG	TCAA	TCGA	TCGG	TTAA	TTGA	TTGG	
RB	14 (52%)	32 (45%)	12 (40%)	27 (39%)	63 (43%)	33 (43%)	12 (30%)	31 (43%)	17 (35%)	241 (41%)
RN	8 (30%)	17 (24%)	8 (27%)	27 (39%)	40 (27%)	22 (29%)	16 (40%)	23 (32%)	15 (31%)	176 (30%)
RA	5 (19%)	22 (31%)	10 (33%)	15 (22%)	44 (30%)	22 (29%)	12 (30%)	18 (25%)	17 (35%)	165 (28%)
<b>Total</b>	27 (100%)	71 (100%)	30 (100%)	69 (100%)	147 (100%)	77 (100%)	40 (100%)	72 (100%)	49 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.7

Tabla 114. Análisis ESR1- CYP 19 IVS4

RAFC	ESR1 - IVS4									Total
	CC11	CC12	CC22	TC11	TC12	TC22	TT11	TT12	TT22	
RB	23 (48%)	29 (48%)	6 (30%)	43 (39%)	63 (44%)	17 (41%)	21 (36%)	28 (36%)	11 (44%)	241 (41%)
RN	13 (27%)	15 (25%)	5 (25%)	37 (34%)	41 (29%)	11 (27%)	22 (37%)	24 (31%)	8 (32%)	176 (30%)
RA	12 (25%)	16 (27%)	9 (45%)	29 (27%)	39 (27%)	13 (32%)	16 (27%)	25 (32%)	6 (24%)	165 (28%)
<b>Total</b>	48 100%	60 (100%)	20 (100%)	109 (100%)	143 (100%)	41 (100%)	59 (100%)	77 (100%)	25 (100%)	582 (100%)

p-valor : 0.9

Tabla 115. Análisis ESR1- BMP 15 673C

RAF C	ESR1 - BMP15 673C									Total
	CCCC	CCTC	CCTT	TCCC	TCTC	TCTT	TTCC	TTTC	TTTT	
RB	38 (42%)	17 (57%)	3 (38%)	79 (42%)	40 (45%)	4 (29%)	39 (39%)	19 (34%)	2 (50%)	241 (41%)
RN	24 (27%)	6 (20%)	3 (38%)	57 (30%)	27 (30%)	5 (36%)	34 (34%)	19 (34%)	1 (25%)	176 (30%)
RA	28 (31%)	7 (23%)	2 (25%)	54 (28%)	22 (25%)	5 (36%)	28 (28%)	18 (32%)	1 (25%)	165 (28%)
<b>Total</b>	90 (100%)	30 (100%)	8 100%	190 (100%)	89 (100%)	14 (100%)	101 (100%)	56 (100%)	4 100%	582 (100%)

p-valor: 0.9

Tabla 116. Análisis ESR1- BMP 15 9C>G

RAFC	ESR1 - BMP15 9C>G									Total
	CCCC	CCGC	CCGG	TCCC	TCGC	TCGG	TTCC	TTGC	TTGG	
RB	38 (42%)	17 (57%)	3 (38%)	79 (42%)	40 (45%)	4 (29%)	39 (39%)	19 (34%)	2 (50%)	241 (41%)
RN	24 (27%)	6 (20%)	3 (38%)	57 (30%)	27 (30%)	5 (36%)	34 (34%)	19 (34%)	1 (25%)	176 (30%)
RA	28 (31%)	7 (23%)	2 (25%)	54 (28%)	22 (25%)	5 (36%)	28 (28%)	18 (32%)	1 (25%)	165 (28%)
<b>Total</b>	90 (100%)	30 (100%)	8 100%	190 (100%)	89 (100%)	14 (100%)	101 (100%)	56 (100%)	4 100%	582 (100%)

**p-valor: 0.9**

Tabla 117. Análisis ESR1- BMP 15905A

RAFC_DM	ESR1_BMP 15 905A									Total
	CCCC	CCTC	CCTT	TCCC	TCTC	TCTT	TTCC	TTTC	TTTT	
RB	5 (50%)	23 (53%)	30 (40%)	7 (32%)	52 (47%)	64 (40%)	3 (30%)	26 (37%)	31 (39%)	241 (41%)
RN	3 (30%)	10 (23%)	20 (27%)	8 (36%)	34 (31%)	47 (29%)	4 (40%)	23 (32%)	27 (34%)	176 (30%)
RA	2 (20%)	10 (23%)	25 (33%)	7 (32%)	24 (22%)	50 (31%)	3 (30%)	22 (31%)	22 (28%)	165 (28%)
<b>Total</b>	10 (100%)	43 (100%)	75 (100%)	22 (100%)	110 (100%)	161 (100%)	10 (100%)	71 (100%)	80 (100%)	582 (100%)

**p-valor: 0.8**

Tabla 118. Análisis ESR1- BMP15 N103

RAFC_D MO	ESR1- BMP 15 N103								Total
	CCAA	CCAG	CCGG	TCAA	TCAG	TTAA	TTAG	TTGG	
RB	55 (45%)	3 (75%)	0 (0%)	111 (42%)	12 (43%)	56 (39%)	4 (24%)	0 (0%)	241 (41%)
RN	31 (25%)	1 (25%)	1 (100%)	78 (29%)	11 (39%)	47 (33%)	7 (41%)	0 (0%)	176 (30%)
RA	37 (30%)	0 (0%)	0 (0%)	76 (29%)	5 (18%)	40 (28%)	6 (35%)	1 (100%)	165 (28%)
<b>Total</b>	123 (100%)	4 (100%)	1 (100%)	265 (100%)	28 (100%)	143 (100%)	17 (100%)	1 (100%)	582 (100%)

**p-valor: 0.5**

#### 4.8.1.2.3. Análisis de las relaciones digénicas gen ESR2 con el resto para riesgo de fractura de cadera estimado con DMO

A continuación se muestran las tablas de contingencia de las combinaciones digénicas con su p-valor del estadístico Chi-cuadrado correspondiente (tablas 119-125).

No hallamos diferencias estadísticamente significativas, pero cabe destacar que:

- El 57% de las mujeres AAGG en ESR2 y CYP 19 3'UTR fueron catalogadas de bajo riesgo de fractura (tabla 120).
- El 67% de las mujeres con el genotipo AATT en ESR2 y BMP 15 673C respectivamente son de bajo riesgo de fractura (tabla 122).
- Entre las mujeres con AAGG para ESR2 y BMP 15 9C>G el 67% son de bajo riesgo y sólo el 17% de alto riesgo de fractura; y entre las AAGC el 52% de bajo riesgo y el 19% de alto riesgo (tabla 123).
- Y entre las AAAG en ESR2 y BMP 15 N103, sólo el 8% fueron catalogadas de alto riesgo de fractura (tabla 125).

Tabla 119. Análisis ESR2- RIP 140

RAFC_ DM	ESR2_RIP140									Total
	AAAA	AAGA	AAGG	GAAA	GAGA	GAGG	GGAA	GGGA	GGGG	
RB	10 (38%)	23 (48%)	14 (48%)	16 (36%)	47 (38%)	45 (46%)	15 (38%)	51 (40%)	20 (43%)	241 (41%)
RN	10 (38%)	15 (31%)	9 (31%)	12 (27%)	38 (31%)	24 (24%)	12 (31%)	42 (33%)	14 (30%)	176 (30%)
RA	6 (23%)	10 (21%)	6 (21%)	16 (36%)	39 (31%)	29 (30%)	12 (31%)	35 (27%)	12 (26%)	165 (28%)
<b>Total</b>	26 (100%)	48 (100%)	29 (100%)	44 (100%)	124 (100%)	98 (100%)	39 (100%)	128 (100%)	46 (100%)	582 (100%)

**p-valor: 0.9**

Tabla 120. Análisis ESR2- CYP 19 3'UTR

RAF C	ESR2_CYP19 3UTR									Total
	AAAA	AAGA	AAGG	GAAA	GAGA	GAGG	GGAA	GGGA	GGGG	
RB	11 (38%)	23 (45%)	13 (57%)	21 (35%)	60 (44%)	27 (39%)	21 (45%)	43 (42%)	22 (35%)	241 (41%)
RN	14 (48%)	17 (33%)	3 (13%)	24 (40%)	30 (22%)	20 (29%)	13 (28%)	33 (32%)	22 (35%)	176 (30%)
RA	4 (14%)	11 (22%)	7 (30%)	15 (25%)	46 (34%)	23 (33%)	13 (28%)	27 (26%)	19 (30%)	165 (28%)
<b>Total</b>	29 (100%)	51 (100%)	23 (100%)	60 (100%)	136 (100%)	70 (100%)	47 (100%)	103 (100%)	63 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.2

Tabla 121. Análisis ESR2- CYP 19 3'IVS4

RAFC_ DM	ESR2_IVS4									Total
	AA11	AA12	AA22	GA11	GA12	GA22	GG11	GG12	GG22	
RB	19 (46%)	21 (43%)	7 (54%)	35 (35%)	57 (45%)	16 (39%)	33 (43%)	42 (40%)	11 (34%)	241 (41%)
RN	15 (37%)	18 (37%)	1 (08%)	35 (35%)	26 (21%)	13 (32%)	22 (29%)	36 (34%)	10 (31%)	176 (30%)
RA	7 (17%)	10 (20%)	5 (38%)	29 (29%)	43 (34%)	12 (29%)	21 (28%)	27 (26%)	11 (34%)	165 (28%)
<b>Total</b>	41 (100%)	49 (100%)	13 (100%)	99 (100%)	126 (100%)	41 (100%)	76 (100%)	105 (100%)	32 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.3

Tabla 122. Análisis ESR2- BMP 15 673C

RAFC_ DM	ESR2_BMP15 673C									Total
	AACC	AATC	AATT	GACC	GATC	GATT	GGCC	GGTC	GGTT	
RB	27 (41%)	16 (52%)	4 (67%)	72 (43%)	33 (39%)	3 (25%)	57 (39%)	27 (46%)	2 (25%)	241 (41%)
RN	24 (36%)	9 (29%)	1 (17%)	48 (28%)	22 (26%)	4 (33%)	43 (29%)	21 (36%)	4 (50%)	176 (30%)
RA	15 (23%)	6 (19%)	1 (17%)	49 (29%)	30 (35%)	5 (42%)	46 (32%)	11 (19%)	2 (25%)	165 (28%)
<b>Total</b>	66 (100%)	31 (100%)	6 (100%)	169 (100%)	85 (100%)	12 (100%)	146 (100%)	59 (100%)	8 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.6

Tabla 123. Análisis ESR2- BMP 15 9C>G

RAFC	ESR2 - BMP15 9C>G									Total
	AACC	AAGC	AAGG	GACC	GAGC	GAGG	GGCC	GGGC	GGGG	
RB	27 (41%)	16 (52%)	4 (67%)	72 (43%)	33 (39%)	3 (25%)	57 (39%)	27 (46%)	2 (25%)	241 (41%)
RN	24 (36%)	9 (29%)	1 (17%)	48 (28%)	22 (26%)	4 (33%)	43 (29%)	21 (36%)	4 (50%)	176 (30%)
RA	15 (23%)	6 (19%)	1 (17%)	49 (29%)	30 (35%)	5 (42%)	46 (32%)	11 (19%)	2 (25%)	165 (28%)
<b>Total</b>	66 (100%)	31 (100%)	6 (100%)	169 (100%)	85 (100%)	12 (100%)	146 (100%)	59 (100%)	8 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.6

Tabla 124. Análisis ESR2- BMP 15 905A

RAFC_DM	ESR2 - BMP15 905A									Total
	AACC	AATC	AATT	GACC	GATC	GATT	GGCC	GGTC	GGTT	
RB	4 (44%)	19 (48%)	24 (44%)	6 (30%)	46 (43%)	56 (40%)	5 (38%)	36 (47%)	45 (37%)	241 (41%)
RN	3 (33%)	13 (33%)	18 (33%)	6 (30%)	26 (24%)	42 (30%)	6 (46%)	28 (36%)	34 (28%)	176 (30%)
RA	2 (22%)	8 (20%)	12 (22%)	8 (40%)	35 (33%)	41 (29%)	2 (15%)	13 (17%)	44 (36%)	165 (28%)
<b>Total</b>	9 (100%)	40 (100%)	54 (100%)	20 (100%)	107 (100%)	139 (100%)	13 (100%)	77 (100%)	123 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.4

Tabla 125. Análisis ESR2- BMP 15 N103

RAFC_D M	ESR2 - BMP15 N103							Total
	AAAA	AAAG	GAAA	GAAG	GGAA	GGAG	GGGG	
RB	42 (46%)	5 (42%)	99 (40%)	9 (43%)	81 (42%)	5 (31%)	0 (0%)	241 (41%)
RN	28 (31%)	6 (50%)	69 (28%)	5 (24%)	59 (30%)	8 (50%)	1 (50%)	176 (30%)
RA	21 (23%)	1 (8%)	77 (31%)	7 (33%)	55 (28%)	3 (19%)	1 (50%)	165 (28%)
<b>Total</b>	91 (100%)	12 (100%)	245 (100%)	21 (100%)	195 (100%)	16 (100%)	2 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.5

#### 4.8.1.2.4. Análisis de las relaciones digénicas gen RIP 140 con el resto para riesgo de fractura de cadera estimado con DMO

A continuación se muestran las tablas de contingencia de las combinaciones digénicas con su p-valor del estadístico Chi-cuadrado correspondiente (tablas 126 -131).

No encontramos diferencias estadísticamente significativas pero las tendencias halladas son:

- El 52 % de las mujeres GGGA de los genes RIP 140 - CYP19 3'UTR (tabla126).
- El 50% portadoras de los polimorfismos GG12 en los genes RIP140 – CYP 19 IVS4 eran bajo riesgo (tabla 127).
- El 51% de las mujeres GGTC eran catalogadas en el grupo de bajo riesgo (tabla 130).

Tabla 126. Análisis RIP 140-CYP 19 3'UTR

RAFC_ DM	RIP140 - CYP19 3UTR									Total
	AAAA	AAGA	AAGG	GAAA	GAGA	GAGG	GGAA	GGGA	GGGG	
RB	7 (28%)	21 (40%)	13 (42%)	30 (43%)	57 (40%)	34 (39%)	16 (38%)	48 (52%)	15 (39%)	241 (41%)
RN	12 (48%)	12 (23%)	10 (32%)	23 (33%)	46 (32%)	26 (30%)	16 (38%)	22 (24%)	9 (24%)	176 (30%)
RA	6 (24%)	20 (38%)	8 (26%)	16 (23%)	41 (28%)	27 (31%)	10 (24%)	23 (25%)	14 (37%)	165 (28%)
<b>Total</b>	25 (100%)	53 (100%)	31 (100%)	69 (100%)	144 (100%)	87 (100%)	42 (100%)	93 (100%)	38 (100%)	582 (100%)

**p-valor: 0.5**

Tabla 127. Análisis RIP 140-CYP IVS4

RAFC_ DM	RIP140 - IVS4									Total
	AA11	AA12	AA22	GA11	GA12	GA22	GG11	GG12	GG22	
RB	12 (30%)	23 (41%)	6 (46%)	51 (45%)	54 (39%)	16 (33%)	24 (39%)	43 (50%)	12 (48%)	241 (41%)
RN	16 (40%)	13 (23%)	5 (38%)	33 (29%)	48 (35%)	14 (29%)	23 (37%)	19 (22%)	5 (20%)	176 (30%)
RA	12 (30%)	20 (36%)	2 (15%)	30 (26%)	36 (26%)	18 (38%)	15 (24%)	24 (28%)	8 (32%)	165 (28%)
<b>Total</b>	40 (100%)	56 (100%)	13 (100%)	114 (100%)	138 (100%)	48 (100%)	62 (100%)	86 (100%)	25 (100%)	582 (100%)

**p-valor: 0.4**

Tabla 128. Análisis RIP 140-BMP15 673C

RAFC_DM	RIP140 - BMP15 673C									Total
	AACC	AATC	AATT	GACC	GATC	GATT	GGCC	GGTC	GGTT	
RB	28 (38%)	11 (38%)	2 (29%)	78 (40%)	38 (43%)	5 (33%)	50 (45%)	27 (47%)	2 (50%)	241 (41%)
RN	24 (33%)	9 (31%)	1 (14%)	62 (32%)	26 (29%)	7 (47%)	29 (26%)	17 (30%)	1 (25%)	176 (30%)
RA	21 (29%)	9 (31%)	4 (57%)	56 (29%)	25 (28%)	3 (20%)	33 (29%)	13 (23%)	1 (25%)	165 (28%)
<b>Total</b>	73 (100%)	29 (100%)	7 (100%)	196 (100%)	89 (100%)	15 (100%)	112 (100%)	57 (100%)	4 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.9

Tabla 129. Análisis RIP 140- BMP15 9C>G

RAFC_DM	RIP140 - BMP15 9C>G									Total
	AACC	AAGC	AAGG	GACC	GAGC	GAGG	GGCC	GGGC	GGGG	
RB	28 (38%)	11 (38%)	2 (29%)	78 (40%)	38 (43%)	5 (33%)	50 (45%)	27 (47%)	2 (50%)	241 (41%)
RN	24 (33%)	9 (31%)	1 (14%)	62 (32%)	26 (29%)	7 (47%)	29 (26%)	17 (30%)	1 (25%)	176 (30%)
RA	21 (29%)	9 (31%)	4 (57%)	56 (29%)	25 (28%)	3 (20%)	33 (29%)	13 (23%)	1 (25%)	165 (28%)
<b>Total</b>	73 (100%)	29 (100%)	7 (100%)	196 (100%)	89 (100%)	15 (100%)	112 (100%)	57 (100%)	4 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.9

Tabla 130. Análisis RIP 140- BMP 15 905A

RAFC_DM	RIP140 - BMP 15 905A									Total
	AACC	AATC	AATT	GACC	GATC	GATT	GGCC	GGTC	GGTT	
RB	3 (33%)	17 (41%)	21 (36%)	10 (40%)	48 (43%)	63 (39%)	2 (25%)	36 (51%)	41 (44%)	241 (41%)
RN	2 (22%)	11 (27%)	21 (36%)	11 (44%)	35 (31%)	49 (30%)	2 (25%)	21 (30%)	24 (26%)	176 (30%)
RA	4 (44%)	13 (32%)	17 (29%)	4 (16%)	29 (26%)	51 (31%)	4 (50%)	14 (20%)	29 (31%)	165 (28%)
<b>Total</b>	9 (100%)	41 (100%)	59 (100%)	25 (100%)	112 (100%)	163 (100%)	8 (100%)	71 (100%)	94 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.6

Tabla 131. Análisis RIP 140-BMP N103

RAFC_D MO	RIP140 - BMP15 N103								Total
	AAAA	AAAG	AAGG	GAAA	GAAG	GAGG	GGAA	GGAG	
RB	40 (39%)	1 (17%)	0 (0%)	111 (41%)	10 (36%)	0 (0%)	71 (45%)	8 (53%)	241 (41%)
RN	30 (29%)	4 (67%)	0 (0%)	83 (31%)	11 (39%)	1 (100%)	43 (27%)	4 (27%)	176 (30%)
RA	32 (31%)	1 (17%)	1 (100%)	77 (28%)	7 (25%)	0 (0%)	44 (28%)	3 (20%)	165 (28%)
<b>Total</b>	102 (100%)	6 (100%)	1 (100%)	271 (100%)	28 (100%)	1 (100%)	158 (100%)	15 (100%)	582 (100%)

p-valor: 0.2

#### 4.8.1.2.5. Análisis de las relaciones digénicas gen CYP 19 marcador UTR con el resto para riesgo de fractura de cadera con DMO.

A continuación se muestran las tablas de contingencia de las combinaciones digénicas con su p-valor del estadístico Chi-cuadrado correspondiente (tablas 132-135).

No encontramos diferencias estadísticamente significativas pero las tendencias halladas son:

- El 52.9% de las mujeres GG11 en CYP 19 3'UTR y IVS4 estaban entre las de bajo riesgo y sólo el 11.8% entre las de alto riesgo (tabla 132).
- El 57.1% de las AATT para los locus CYP 19 3'UTR y BMP 15 673C eran de bajo riesgo y sólo el 14.3% de alto riesgo; y el 48.6% de las GGTC eran de bajo riesgo (tabla 133).
- El 57.1% de las AAGG en CYP 19 3'UTR y BMP 15 9C>G eran de bajo riesgo y sólo el 14.3% de alto riesgo (tabla 134). Y hallamos exactamente las mismas cifras para el polimorfismo AACC de CYP 19 3'UTR- BMP 15 905 (tabla 135).

Tabla 132. Análisis CYP 19 3'UTR- IVS4

RAFC		CYP19 3UTR - IVS4								Total	
		AA11	AA12	AA22	GA11	GA12	GA22	GG11	GG12		GG22
RB	N	79	3	1	48	134	3	9	35	42	354
	%	37,6%	27,3%	50,0%	42,1%	41,7%	37,5%	52,9%	37,2%	38,5%	40,0%
RN	N	82	5	0	29	99	0	6	28	30	279
	%	39,0%	45,5%	0,0%	25,4%	30,8%	0,0%	35,3%	29,8%	27,5%	31,5%
RA	N	49	3	1	37	88	5	2	31	37	253
	%	23,3%	27,3%	50,0%	32,5%	27,4%	62,5%	11,8%	33,0%	33,9%	28,6%
Total	N	210	11	2	114	321	8	17	94	109	886
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.1

Tabla 133. Análisis CYP 19 3'UTR- BMP 15 673C

RAFC	CYP 19 3'UTR – BMP 15 673C									Total	
	AACC	AATC	AATT	GACC	GATC	GATT	GGCC	GGTC	GGTT		
RB	N	53	25	4	128	52	5	47	34	5	354
	%	36,6%	35,7%	57,1%	44,1%	38,8%	26,3%	34,1%	48,6%	41,7%	40,0%
RN	N	58	27	2	80	42	6	45	16	3	279
	%	40,0%	38,6%	28,6%	27,6%	31,3%	31,6%	32,6%	22,9%	25,0%	31,5%
RA	N	34	18	1	82	40	8	46	20	4	253
	%	23,4%	25,7%	14,3%	28,3%	29,9%	42,1%	33,3%	28,6%	33,3%	28,6%
Total	N	145	70	7	290	134	19	138	70	12	886
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.3

Tabla 134. Análisis CYP 19 3'UTR- BMP 15 9C>G

RAFC	CYP 19 3'UTR- BMP 15 9C>G									Total	
	AACC	AAGC	AAGG	GACC	GAGC	GAGG	GGCC	GGGC	GGGG		
RB	N	53	25	4	128	52	5	47	34	5	354
	%	36,6%	35,7%	57,1%	44,1%	38,8%	26,3%	34,1%	48,6%	41,7%	40,0%
RN	N	58	27	2	80	42	6	45	16	3	279
	%	40,0%	38,6%	28,6%	27,6%	31,3%	31,6%	32,6%	22,9%	25,0%	31,5%
RA	N	34	18	1	82	40	8	46	20	4	253
	%	23,4%	25,7%	14,3%	28,3%	29,9%	42,1%	33,3%	28,6%	33,3%	28,6%
Total	N	145	70	7	290	134	19	138	70	12	886
	%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

p-valor: 0.3

Tabla 135. Análisis CYP 19 3'UTR- BMP 15 905

RAF	CYP 19 3'UTR - BMP15 905A									Total	
	AACC	AATC	AATT	GACC	GATC	GATT	GGCC	GGTC	GGTT		
RB	N	8	35	40	9	75	101	6	40	40	354
	%	57,1%	36,1%	35,7%	29,0%	42,1%	43,2%	31,6%	49,4%	33,3%	40,0%
RN	N	4	36	47	9	55	64	6	19	39	279
	%	28,6%	37,1%	42,0%	29,0%	30,9%	27,4%	31,6%	23,5%	32,5%	31,5%
RA	N	2	26	25	13	48	69	7	22	41	253
	%	14,3%	26,8%	22,3%	41,9%	27,0%	29,5%	36,8%	27,2%	34,2%	28,6%
Total	N	14	97	112	31	178	234	19	81	120	886
	%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

p-valor: 0.1

#### 4.8.1.2.6. Análisis de las relaciones digénicas gen CYP 19 marcador IVS4 con el resto para riesgo de fractura de cadera con DMO.

A continuación se muestran las tablas de contingencia de las combinaciones digénicas con su p-valor del estadístico Chi-cuadrado correspondiente (tablas 136-138).

No encontramos diferencias significativas pero destaca que:

- Las mujeres con polimorfismo 22AG del par de locus CYP 19 IVS4 - BMP 15 N103 un 62.5% eran de bajo riesgo (tabla 136).
- Un 56.4% de las mujeres con 22GC en CYP 19 IVS4- BMP 15 9C>G y las portadoras de 22TC en CYP 19 IVS4- BMP 15 673C eran en de bajo riesgo (tablas 137-138).

Tabla 136. Análisis CYP 19 IVS4- BMP 15 N103

RAFC_DMOC	IVS4 - BMP15 N103									Total
	11AA	11AG	11GG	12AA	12AG	12GG	22AA	22AG		
RB	N	126	10	0	161	11	0	41	5	354
	%	41,0%	30,3%	0,0%	41,3%	32,4%	0,0%	36,9%	62,5%	40,0%
RN	N	105	12	0	115	16	1	29	1	279
	%	34,2%	36,4%	0,0%	29,5%	47,1%	100,0%	26,1%	12,5%	31,5%
RA	N	76	11	1	114	7	0	41	2	253
	%	24,8%	33,3%	100,0%	29,2%	20,6%	0,0%	36,9%	25,0%	28,6%
Total	N	307	33	1	390	34	1	111	8	886
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.2

Tabla 137. Análisis CYP 19 IVS4- BMP 15 9C>G

RAFC_DM	CYP 19 IVS4- BMP 15 9C>G									Total	
	11CC	11GC	11GG	12CC	12GC	12GG	22CC	22GC	22GG		
RB	N	91	36	8	114	53	5	23	22	1	354
	%	41,9%	34,0%	47,1%	40,7%	41,1%	29,4%	30,3%	56,4%	25,0%	40,0%
RN	N	78	35	4	84	42	6	21	8	1	279
	%	35,9%	33,0%	23,5%	30,0%	32,6%	35,3%	27,6%	20,5%	25,0%	31,5%
RA	N	48	35	5	82	34	6	32	9	2	253
	%	22,1%	33,0%	29,4%	29,3%	26,4%	35,3%	42,1%	23,1%	50,0%	28,6%
Total	N	217	106	17	280	129	17	76	39	4	886
	%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

p-valor: 0.1

Tabla 138. Análisis CYP 19 IVS4- BMP 15 673C

RAFC_DM	IVS4 - BMP15 673C									Total	
	11CC	11TC	11TT	12CC	12TC	12TT	22CC	22TC	22TT		
RB	N	91	36	8	114	53	5	23	22	1	354
	%	41,9%	34,0%	47,1%	40,7%	41,1%	29,4%	30,3%	56,4%	25,0%	40,0%
RN	N	78	35	4	84	42	6	21	8	1	279
	%	35,9%	33,0%	23,5%	30,0%	32,6%	35,3%	27,6%	20,5%	25,0%	31,5%
RA	N	48	35	5	82	34	6	32	9	2	253
	%	22,1%	33,0%	29,4%	29,3%	26,4%	35,3%	42,1%	23,1%	50,0%	28,6%
Total	N	217	106	17	280	129	17	76	39	4	886
	%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100,0%

p-valor: 0.2

#### 4.8.1.2.7. Análisis de las relaciones digénicas gen BMP15 N103 con el resto para riesgo de fractura de cadera con DMO

A continuación se muestran las tablas de contingencia de las combinaciones digénicas con su p-valor del estadístico Chi-cuadrado correspondiente (tablas 139-141).

No encontramos diferencias significativas ni tendencias relevantes.

Tabla 139. Análisis BMP 15 N103 – BMP 15 905A

RAFC_DMOC	BMP15 N103 - BMP15 905A							Total	
	AACC	AATC	AATT	AGCC	AGTC	AGTT	GGCC		
RB	N	19	128	181	4	22	0	0	354
	%	39,6%	43,2%	39,0%	28,6%	36,7%	0,0%	0,0%	40,0%
RN	N	14	86	149	4	24	1	1	279
	%	29,2%	29,1%	32,1%	28,6%	40,0%	100,0%	50,0%	31,5%
RA	N	15	82	134	6	14	0	1	253
	%	31,2%	27,7%	28,9%	42,9%	23,3%	0,0%	50,0%	28,6%
Total	N	48	296	464	14	60	1	2	886
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.6

Tabla 140. Análisis BMP 15 N103 – BMP 15 9C>G

RAFC_DMOC		BMP 15 N103 – BMP 15 9C>G							Total
		AACC	AAGC	AAGG	AGCC	AGGC	AGGG	GGGG	
RB	N	228	87	12	0	24	2	0	354
	%	40,0%	41,4%	44,4%	0,0%	37,5%	22,2%	0,0%	40,0%
RN	N	181	61	7	2	24	3	1	279
	%	31,8%	29,0%	25,9%	100,0%	37,5%	33,3%	50,0%	31,5%
RA	N	161	62	8	0	16	4	1	253
	%	28,2%	29,5%	29,6%	0,0%	25,0%	44,4%	50,0%	28,6%
Total	N	570	210	27	2	64	9	2	886
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.6

Tabla 141. Análisis BMP 15 N103 – BMP15 673C

RAFC_DMOC		BMP15 N103 – BMP 15 673C							Total
		AACC	AATC	AATT	AGCC	AGTC	AGTT	GGTT	
RB	N	228	87	12	0	24	2	0	354
	%	40,0%	41,4%	44,4%	0,0%	37,5%	22,2%	0,0%	40,0%
RN	N	181	61	7	2	24	3	1	279
	%	31,8%	29,0%	25,9%	100,0%	37,5%	33,3%	50,0%	31,5%
RA	N	161	62	8	0	16	4	1	253
	%	28,2%	29,5%	29,6%	0,0%	25,0%	44,4%	50,0%	28,6%
Total	N	570	210	27	2	64	9	2	886
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.6

#### 4.8.1.2.8. Análisis de las relaciones digénicas gen BMP 15 905 A con el resto para riesgo de fractura de cadera con DMO

A continuación se muestran las tablas de contingencia de las combinaciones digénicas con su p-valor del estadístico Chi-cuadrado correspondiente (tablas 142-143).

No hallamos diferencias ni tendencias destacables.

Tabla 142. Análisis BMP 15 905A – BMP15 9C>G

RAFC_DMOC	BMP 15 905A – BMP15 9C>G							Total	
	CCCC	CCGC	CCGG	TCCC	TCGC	TCGG	TTCC		
RB	N	1	9	13	47	102	1	180	354
	%	25,0%	39,1%	35,1%	45,2%	40,6%	100,0%	38,7%	40,0%
RN	N	3	5	11	30	80	0	150	279
	%	75,0%	21,7%	29,7%	28,8%	31,9%	0,0%	32,3%	31,5%
RA	N	0	9	13	27	69	0	135	253
	%	0,0%	39,1%	35,1%	26,0%	27,5%	0,0%	29,0%	28,6%
Total	N	4	23	37	104	251	1	465	886
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.7

Tabla 143. Análisis BMP 15 905A – BMP15 673C

RAFC_DMOC	BMP15 905 A – BMP 15 673C								Total	
	CCCC	CCTC	CCTT	TCCC	TCTC	TCTT	TT	TTCC		
RA	N	1	9	13	47	102	1	1	180	354
	%	25,0%	39,1%	35,1%	45,2%	40,6%	100,0%	100,0%	38,7%	40,0%
RN	N	3	5	11	30	80	0	0	150	279
	%	75,0%	21,7%	29,7%	28,8%	31,9%	0,0%	0,0%	32,3%	31,5%
RB	N	0	9	13	27	69	0	0	135	253
	%	0,0%	39,1%	35,1%	26,0%	27,5%	0,0%	0,0%	29,0%	28,6%
Total	N	4	23	37	104	251	1	1	465	886
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

p-valor: 0.7

**4.8.1.2.9. Análisis de las relaciones digénicas gen BMP 15 C>G con el resto para riesgo de fractura de cadera con DMO**

A continuación se muestran las tablas de contingencia de las combinaciones digénicas con su p-valor del estadístico Chi-cuadrado correspondiente (tabla 144), sin encontrar diferencias.

*Tabla 144. Análisis BMP 15 9C>G – BMP15 673C*

RAFC_DMOC		BMP 15 9C>G BMP 15 673C			Total
		CCCC	GCTC	GGTT	
RB	N	228	111	14	354
	%	39,8%	40,5%	36,8%	40,0%
RN	N	183	85	11	279
	%	31,9%	31,0%	28,9%	31,5%
RA	N	162	78	13	253
	%	28,3%	28,5%	34,2%	28,6%
Total	N	573	274	38	886
	%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**p-valor: 0.9**

#### 4.8.2. Análisis de las relaciones de los genes CYP 19 marcador IVS 4 y el gen BMP 15 905A para el riesgo ajustado de fractura de cadera con densitometría estimado por FRAX

En este apartado se adjunta la tabla de contingencia con los porcentajes de pacientes en cada casilla para la asociación de los genes CYP marcador IVS4 y el gen BMP 905 A (tabla 145).

En este análisis hemos detectado diferencias estadísticamente significativas.

La asociación de ambos genes contiene 9 combinaciones posibles cuya distribución entre los tres grupos de nivel de riesgo de fractura se muestra a continuación:

Tabla 145. Análisis gen CYP 19 IVS4 - BMP15 905A

RAFC_DM	IVS4 – BMP 15 905A									Total	
	11CC	11TC	11TT	12CC	12TC	12TT	22CC	22TC	22TT		
RB	N	12	50	74	9	74	89	2	26	18	354
	%	44,4%	36,2%	42,0%	32,1%	42,0%	40,1%	22,2%	61,9%	26,5%	40,0%
RN	N	7	47	63	10	56	66	2	7	21	279
	%	25,9%	34,1%	35,8%	35,7%	31,8%	29,7%	22,2%	16,7%	30,9%	31,5%
RA	N	8	41	39	9	46	67	5	9	29	253
	%	29,6%	29,7%	22,2%	32,1%	26,1%	30,2%	55,6%	21,4%	42,6%	28,6%
Total	N	27	138	176	28	176	222	9	42	68	886
	%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

**p-valor: 0.047**

En la tabla superior se muestran los descriptivos para la combinación de ambos genes y el riesgo ajustado de fractura de cadera con densitometría, así como el resultado para la prueba chi-cuadrado que muestra un p-valor: 0.047, lo que indica la existencia de asociación entre ciertos polimorfismos de ambos genes y el riesgo estimado de fractura.

En el análisis digénico de CYP 19 IVS4 - BMP15 905A hemos encontrado que los polimorfismos 22CC y 22TT se asociaron con un 55.6 y 42.6% de portadoras con riesgo alto de fractura. E inversamente, que el 61.9% de las de 22TC eran de bajo riesgo.

La prevalencia del 22CC en nuestro grupo de estudio fue del 1% y la de 22TT de un 7.7%, y en ambos casos, nuestro hallazgo sugiere que estos polimorfismos se relacionan con mayor frecuencia de alto riesgo de fractura.

Y también que el 22TC se relaciona con menor riesgo de fractura y presenta una prevalencia del 4.7%.

Dicha asociación digénica también muestra una distribución no homogénea con una diferencia también estadísticamente significativa en el riesgo de fractura de cadera

estimado por FRAX con densitometría sin ajustar por la edad (p-valor:0.02) (tabla 146).

*Tabla 146. Distribución del promedio de riesgo de fractura de cadera estimado incluyendo DMO en función del polimorfismo digénico presente De los genes CYP 19 IVS4-BMP15 905A*

<b>Combinación</b>	<b>Media ± DS%</b>	<b>N</b>
<b>11CC</b>	<b>0.54 ±0.7</b>	27
<b>12CC</b>	0.77 ±0.9	28
<b>22CC</b>	<b>1.2 ±2</b>	9
<b>11TC</b>	0.81 ±1.4	138
<b>12TC</b>	0.71 ±1.6	176
<b>22TC</b>	0.88 ±2.7	42
<b>11TT</b>	0.53 ±0.8	176
<b>12TT</b>	0.75 ±1.4	222
<b>22TT</b>	0.88 ±1.5	68
<b>Total</b>	0.72 ±1.4	885

*Estadístico Kruskal-Wallis: p-valor: 0.02*

En esta distribución del riesgo sin ajustar por la edad (Tabla 146) se observa un promedio de riesgo de fractura de cadera de  $0.72 \pm 1.4\%$  y se identifica como polimorfismo de riesgo el 22CC con  $1.2 \pm 2.0\%$  (OR: 1.66 respecto al promedio), y como protector o de bajo riesgo el 11CC con un  $0,54 \pm 0.7\%$  (OR:0.75 respecto al promedio).

Pero mayor interés parece tener lo expuesto en la tabla 145 al ajustar el riesgo estimado de fractura por edad.

La tendencia de los polimorfismos que sugieren protección, es que las mujeres que los presentan tienen más probabilidad de tener menos riesgo óseo que la media (62% frente a 25%), aunque casi la misma probabilidad de tener alto riesgo (21% frente a 25%).

Entre las combinaciones digénicas que presentan un riesgo de fractura mayor que la media, destaca la combinación 22CC, que, aunque poco frecuente,  $n=9$  (1% del total de pacientes), presenta un riesgo de 1.2% (casi el doble que la media) y un 55% de las mujeres con este patrón genético eran catalogadas de alto riesgo (frente al 25% en población general), aunque el 22% eran de bajo riesgo.

Es decir, se trata de una combinación que se relaciona con mayor riesgo de fractura, aunque es poco frecuente.

El polimorfismo BMP 15 905A TT CYP19 IVS4 22 (22TT) parece relacionarse también con un incremento en el riesgo de fractura, con un 42% (n=29) de estas mujeres en el grupo de alto riesgo de fractura (frente al 25% esperable), aunque de nuevo sólo el 26% son del grupo de bajo riesgo.

Para confirmar en qué grupos de riesgo se encuentran las diferencias estadísticamente significativas, realizamos las tablas de contingencia cruzando ambos genes y los grupos de riesgo, segmentando cada combinación para el cálculo estadístico chi-cuadrado.

El resultado obtenido es una diferencia estadísticamente significativa para el grupo de alto riesgo (tabla 147), p-valor: 0.044.

*Tabla 147. Estadístico chi-cuadrado para grupo de riesgo y combinación genética CYP 19 IVS4- BMP 15 90 A*

**Pruebas de chi-cuadrado<sup>e</sup>**

RAC3DO		Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. de Monte Carlo (bilateral)		Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)	
					Sig.	Intervalo de confianza al 99%			
						Límite inferior			Límite superior
	Chi-cuadrado de Pearson	2,000 <sup>c</sup>	1	,157			1,000	,500	
	Corrección por continuidad <sup>d</sup>	,000	1	1,000					
	Razón de verosimilitudes	2,773	1	,096			1,000	,500	
	Estadístico exacto de Fisher						1,000	,500	
	N de casos válidos	2							
bajo riesgo	Chi-cuadrado de Pearson	6,678 <sup>f</sup>	4	,154	,157 <sup>b</sup>	,147	,166		
	Razón de verosimilitudes	6,585	4	,159	,184 <sup>b</sup>	,174	,194		
	Estadístico exacto de Fisher	6,367			,171 <sup>b</sup>	,161	,181		
	N de casos válidos	354							
normal	Chi-cuadrado de Pearson	4,339 <sup>g</sup>	4	,362	,355 <sup>b</sup>	,343	,367		
	Razón de verosimilitudes	4,553	4	,336	,375 <sup>b</sup>	,362	,387		
	Estadístico exacto de Fisher	4,417			,340 <sup>b</sup>	,328	,353		
	N de casos válidos	279							
alto riesgo	Chi-cuadrado de Pearson	9,801 <sup>h</sup>	4	,044	,046 <sup>b</sup>	,040	,051		
	Razón de verosimilitudes	10,433	4	,034	,041 <sup>b</sup>	,036	,046		
	Estadístico exacto de Fisher	10,330			,033 <sup>b</sup>	,029	,038		
	N de casos válidos	252							

Para esclarecer qué alelos están implicados en la diferencia estadística, se han realizado las tablas de contingencia segmentadas para ambos genes implicados, las cuales, se muestran a continuación (tablas 148-149) y, todas ellas han mostrado resultados significativos.

Para la relación con el gen CYP IVS4 el alelo 22 muestra una diferencia estadísticamente significativa (p:0.006) con respecto a los otros alelos al estratificar los análisis con el gen BPM 15 905A y el riesgo de fractura de cadera con DMO (tabla 148).

Tabla 148. Estadístico chi-cuadrado para combinación gen CYP 19 IVS4 y gen BMP 15 905A

Pruebas de chi-cuadrado

IVS4	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. de Monte Carlo (bilateral)		
				Sig.	Intervalo de confianza al 99%	
					Límite inferior	Límite superior
Chi-cuadrado de Pearson N de casos válidos	. <sup>c</sup> 1					
11 Chi-cuadrado de Pearson	3,352 <sup>d</sup>	4	,501	,512 <sup>b</sup>	,499	,525
Razón de verosimilitudes	3,409	4	,492	,507 <sup>b</sup>	,494	,519
Estadístico exacto de Fisher	3,422			,498 <sup>b</sup>	,485	,511
N de casos válidos	341					
12 Chi-cuadrado de Pearson	1,640 <sup>e</sup>	4	,802	,806 <sup>b</sup>	,796	,816
Razón de verosimilitudes	1,669	4	,796	,802 <sup>b</sup>	,791	,812
Estadístico exacto de Fisher	1,737			,792 <sup>b</sup>	,782	,802
N de casos válidos	426					
22 Chi-cuadrado de Pearson	18,292 <sup>f</sup>	6	,006	,017 <sup>b</sup>	,013	,020
Razón de verosimilitudes	18,594	6	,005	,004 <sup>b</sup>	,002	,005
Estadístico exacto de Fisher	18,565			,002 <sup>b</sup>	,001	,003
N de casos válidos	119					

Para la relación con el gen BMP 15 905A los alelos TC y TT muestran una diferencia estadísticamente significativa (p:0.009 y 0,02 respectivamente) al estratificar los análisis con el gen BPM 905A y el riesgo de fractura de cadera con DMO (tabla 149).

Tabla 149. Estadístico chi-cuadrado para combinación gen BMP 15 905 A y Gen CYP 19 IVS4

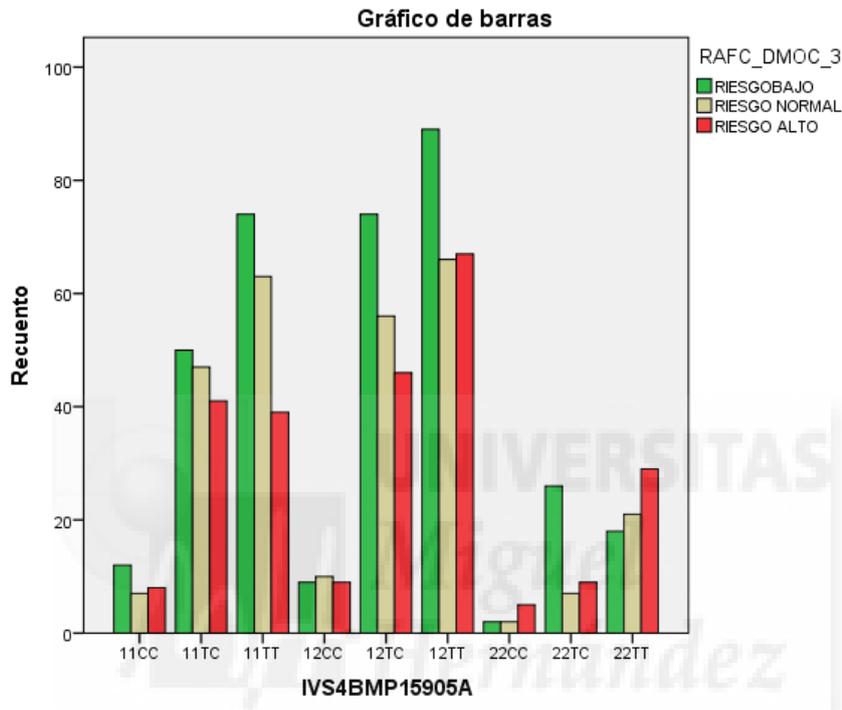
Pruebas de chi-cuadrado

BMP15-905A	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. de Monte Carlo (bilateral)		
				Sig.	Intervalo de confianza al 99%	
					Límite inferior	Límite superior
Chi-cuadrado de Pearson N de casos válidos	. <sup>c</sup> 1					
CC Chi-cuadrado de Pearson	3,159 <sup>d</sup>	4	,532	,546 <sup>b</sup>	,534	,559
Razón de verosimilitudes	3,024	4	,554	,597 <sup>b</sup>	,584	,609
Estadístico exacto de Fisher	2,927			,600 <sup>b</sup>	,588	,613
N de casos válidos	64					
TC Chi-cuadrado de Pearson	17,172 <sup>e</sup>	6	,009	,009 <sup>b</sup>	,006	,011
Razón de verosimilitudes	14,161	6	,028	,019 <sup>b</sup>	,016	,023
Estadístico exacto de Fisher	13,826			,022 <sup>b</sup>	,018	,025
N de casos válidos	356					
TT Chi-cuadrado de Pearson	11,719 <sup>f</sup>	4	,020	,020 <sup>b</sup>	,016	,023
Razón de verosimilitudes	11,720	4	,020	,020 <sup>b</sup>	,017	,024
Estadístico exacto de Fisher	11,624			,020 <sup>b</sup>	,016	,023
N de casos válidos	466					

La asociación de alelos que ha mostrado tener una relación de dependencia en el riesgo estimado de fractura de cadera es: CYP IVS4 (22) y BMP 15 905A (TC y TT).

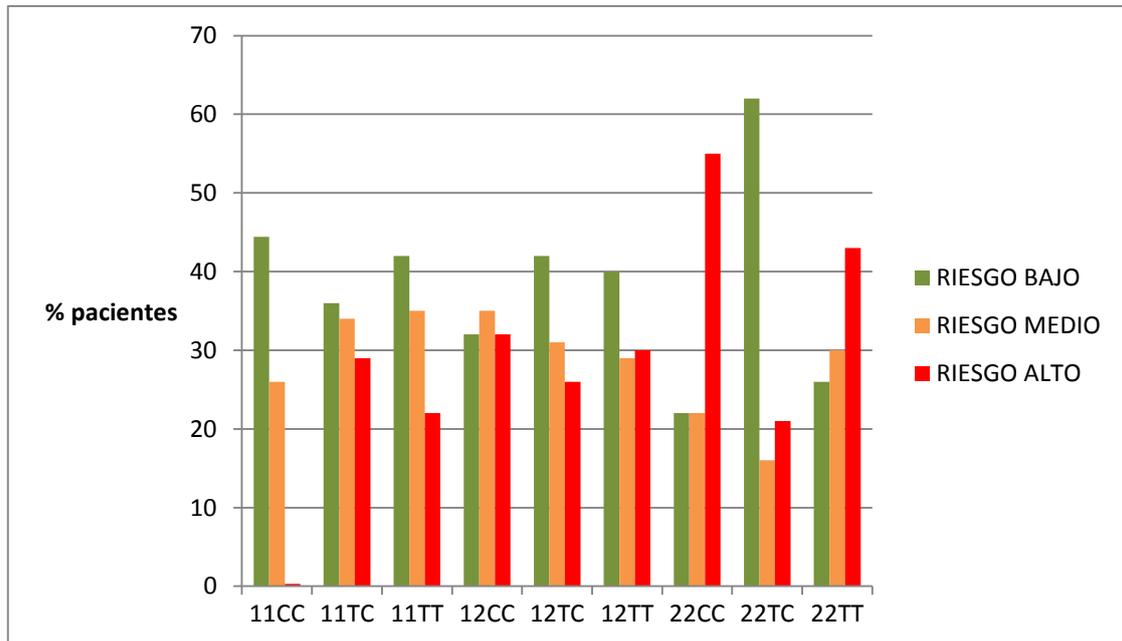
Pero todo esto se aprecia mucho mejor en la siguiente figura de distribución de riesgos según polimorfismo digénico de estos genes candidatos (Figura 13).

Figura 13. Distribución de pacientes según grupo de riesgo para la combinación digénica: CYP 19 IVS4- BMP 15 905 A



Y mucho mejor se aprecia si vemos la misma distribución por porcentajes (Figura 14), en la que se distingue claramente el comportamiento diferente del riesgo de fractura en las mujeres portadoras de los polimorfismo identificados como de alto y bajo riesgo de fractura estimado por FRAX.

Figura 14. Distribución porcentual de las mujeres por grado de riesgo de fractura según el polimorfismo digénico presente para CYP 19 IVS4- BMP 15 905 A





## ***5. Discusión***

---



A continuación procederemos a la discusión de los diferentes aspectos de interés de la presente investigación, lo que haremos de un modo ordenado para mejor comprensión.

## **5.1. Consideraciones sobre la pertinencia del estudio.**

Como ya expusimos en la introducción, en los últimos años se ha incrementado el número de estudios dedicados al conocimiento de la fisiopatología de la osteoporosis así como al descubrimiento de nuevos genes involucrados en su desarrollo.

Con ello, la información disponible está en constante aumento, pero los nuevos hallazgos son complejos de interpretar debido al carácter multifactorial y poligénico de la patología, así como a la probable influencia importante de la epigenética en la osteoporosis. Pero no por ello ha cesado el interés de su investigación, ya que se trata de una patología de prevalencia muy elevada y en aumento exponencial <sup>65</sup>.

En este tipo de patologías uno de los problemas es la identificación precoz de la población en riesgo para la aplicación incluso de medidas de prevención primaria, y existe la necesidad de identificar nuevos marcadores de riesgo de fractura.

Dado que múltiples estudios, ya descritos en la introducción, han corroborado el impacto de la genética en la resistencia ósea, y a que disponíamos de la determinación de genes candidatos de osteoporosis en una gran cohorte de mujeres postmenopáusicas, aunque estudios previos con esta muestra no habían encontrado correlación con densidad mineral ósea, parecía oportuno agotar el análisis investigando posibles correlaciones con el riesgo estimado de fractura.

## 5.2. Consideraciones sobre la muestra poblacional

En el presente estudio hemos trabajado con una muestra poblacional importante, alrededor de 900 mujeres postmenopáusicas, que, por diversos motivos habían acudido a las consultas de ginecología. Dado el carácter multicéntrico del estudio, se incluye población de distintos lugares de la geografía española enriqueciendo de este modo la muestra.

En los estudios genéticos, una prueba habitual para comprobar que se estudia una muestra que representa a la población general consiste en comprobar si se cumple el equilibrio de Hardy-Weinberg. Y en nuestra cohorte de mujeres postmenopáusicas hemos confirmado que así es, por lo que no existe a priori una selección genética en la composición de la cohorte y sustenta la validez de la misma para la búsqueda de asociaciones entre patrón genético y grado de riesgo de fractura.

Otra prueba de lo anterior es que los patrones genéticos más frecuentes en nuestra cohorte, fueron los más frecuentes entre las mujeres con el riesgo de fractura estimado como normal, hecho que además resulta esperable ya que la población española se encuentra clasificada como población de riesgo moderado según la IOF (International Osteoporosis Foundation).

Es notoria la alta frecuencia en nuestra muestra del hábito tabáquico, presentando un valor del 30% y una media de 15 cigarrillos al día. Al interrogar sobre la persistencia del tabaquismo en el momento de la encuesta el % desciende al 15%. Suponen cifras no despreciables que instan al clínico al fomento de los hábitos saludables, primer eslabón en la medicina preventiva en general, y en el ámbito de la osteoporosis en particular, conociendo además que el tabaco es un factor de riesgo para la aparición de la osteoporosis.

De igual manera ocurre con el consumo de bebidas alcohólicas, en nuestra población la media de consumo semanal de algún tipo de bebida con alcohol (cerveza, copa de vino, etc) es de 4 semanales.

Con respecto a la actividad física la mitad de nuestras pacientes afirmaron realizar algún tipo de gimnasia apropiada para su edad. En la caracterización de la muestra vemos reflejada la mujer postmenopáusica promedio en nuestro país.

### 5.3. Consideraciones sobre el FRAX® como método de estimación del riesgo absoluto de fractura osteoporótica

Una cuestión relevante para nuestro estudio es la fiabilidad que presenta el índice FRAX para cumplir con su objetivo, estimar el riesgo absoluto de fractura osteoporótica.

Desde que en el año 2008 Kanis et al. publicaran la herramienta FRAX®, han sido numerosas las publicaciones que estudian la validación de dicho cálculo en su población.

Y a nivel nacional el Ministerio de Ciencia e innovación junto al de Sanidad, Política Social e Igualdad ha publicado diversos artículos que investigan la aplicabilidad de la herramienta.

Una de las primeras publicaciones fue en el año 2009 cuyas conclusiones fueron que, en nuestra población, la capacidad predictiva de la herramienta FRAX® es aceptable para la estimación del riesgo de fractura de cadera en mujeres menores de 65 años y también para el riesgo de fractura total pero en las mujeres mayores de 65 años<sup>82</sup>.

Un año más tarde se publicaron nuevos datos que concluían que la capacidad predictiva era correcta para el riesgo de cadera pero infraestimaba el riesgo de fractura total, sobre todo en el grupo de pacientes de bajo riesgo<sup>115</sup>.

Por tanto, existen múltiples publicaciones con respecto al FRAX® en distintas muestras poblacionales, y la mayoría concluyen que se trata de una herramienta útil para la orientación de la indicación de la densitometría o para la identificación de pacientes con alto riesgo de fractura e indicación de tratamiento, lo que fue en su momento el objetivo principal del desarrollo de la herramienta.

Esto avala la adecuación del empleo del FRAX para diferenciar a las mujeres con mayor o menor riesgo de la muestra y justifica su empleo para nuestro objetivo.

De hecho, numerosas sociedades científicas tanto ginecológicas como reumatológicas incluyen en sus guías de recomendaciones el uso del FRAX® para identificar las mujeres con alto riesgo de fractura (por ejemplo The American College of Rheumatology<sup>116</sup>).

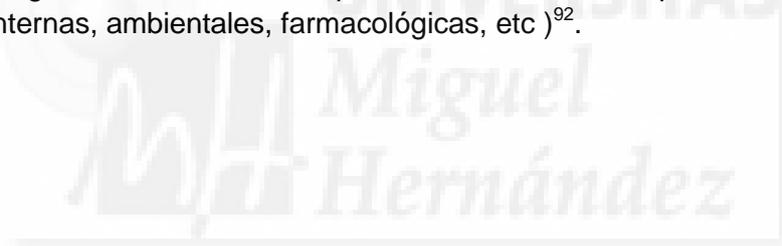
Uno de nuestros objetivos secundarios era poner a prueba el impacto de disponer de la densitometría o no en la identificación del grado de riesgo de fractura estimado por el FRAX. Por eso, en nuestra muestra hemos calculado el índice FRAX con todas las posibilidades:

- Sin datos de la densitometría
  - a) Riesgo de fractura mayor y riesgo de fractura de cadera
- Con datos de densitometria de cadera
  - a) Riesgo de fractura mayor y riesgo de fractura de cadera

Una de las limitaciones importantes de la herramienta FRAX® es que sólo está validada para hacer el cálculo de riesgo de fractura con los datos densitométricos de cadera y no tiene en cuenta los de columna lumbar, de esta manera algunos autores critican que se obvia el alto riesgo de fractura vertebral entre los pacientes que han presentado fractura vertebral recientemente<sup>117</sup> y se pierde información útil del riesgo de una mujer. Igual sucede con la no consideración de factores de riesgo tan relevantes como la edad de la menopausia (especialmente en edades jóvenes) o protectores como el uso de terapia hormonal sustitutiva.

Todo ello puede haber influido en nuestro estudio enmascarando posibles influencias genéticas al quedar mujeres clasificadas de modo inexacto en cuanto al nivel de su riesgo de fractura. Este es un problema común en los estudios genéticos sobre enfermedades multifactoriales y este es el caso de la osteoporosis.

Hemos realizado esfuerzos para reducir esa “contaminación”, como el ajuste del riesgo estimado por edad, o los subanálisis por grupos de edad. Seguramente ello habrá contribuido a depurar algo la muestra y mejorar la capacidad de identificar relaciones entre genética y riesgo, pero siempre es un problema para estudios genéticos de patologías que son el resultado de la influencia de tan alta diversidad de factores, y más complejo todavía, si consideramos que recientemente se reconoce que, probablemente, el impacto genético en osteoporosis tiene mucho que ver con la epigenética. Más o menos podemos considerarlo como el resultado de la interacción de un patrón genético con las múltiples influencias a las que se ve sometido el organismo (internas, ambientales, farmacológicas, etc)<sup>92</sup>.



## 5.4. Consideraciones sobre el riesgo estimado de fractura en nuestra cohorte de estudio

Al analizar nuestra muestra poblacional, es de interés, que la estimación del riesgo de fractura sin ajustar por edad, muestra un riesgo medio de fractura mayor a 10 años con y sin densitometría ósea respectivamente,  $3.2 \pm 2.6\%$  y  $3.1 \pm 2.5\%$ , no hallándose diferencias significativas entre ellos.

De igual modo ocurre en la estimación para la fractura de cadera,  $0.8 \pm 1.3\%$  y  $0.8 \pm 0.4\%$ , no hallándose diferencias significativas entre ellos.

Según estas estimaciones el conocimiento del valor de la densidad mineral ósea no parece aportar mayor información en el uso del FRAX.

Sin embargo, cuando se realiza la estimación del riesgo ajustado por edad los porcentajes varían en función de conocer o no el valor de la densidad mineral ósea de la paciente. Y este hecho es significativo en nuestra muestra poblacional para la estimación del riesgo de fractura de cadera ajustado por edad y con el fin de identificar las mujeres de alto y/o bajo riesgo.

En el intento de detectar patrones genéticos relacionados con riesgo o protección ósea, nos preocupaba especialmente el impacto que otras variables con influencia en el riesgo podrían tener enmascarando o sesgando los resultados del análisis. De todos ellos uno de los más importantes es la edad de la mujer.

Es bien conocido que la edad es uno de los factores de mayor impacto. En este sentido, una mujer con un riesgo estimado por FRAX® de un 3.2% tiene el mismo riesgo absoluto si tiene 50 años que si tiene 70, pero, lógicamente, el impacto genético sobre el riesgo sería mucho más significativo entre las mujeres de 50 con ese riesgo (alto riesgo), que entre las mujeres de 70 (riesgo normal).

Para soslayar este impacto decidimos calificar a todas las mujeres en función de su riesgo respecto a las mujeres de su misma edad.

Al no disponer de curvas de riesgo para cada edad, decidimos construir nuestra propia curva percentilar y formular un modelo matemático ajustado a dicha distribución percentilar, y ello se convirtió en una de las tareas de esta tesis que ha proporcionado un resultado útil, una curva de distribución teórica de percentiles de riesgo por edad, que permite, y nos permitió, identificar en que rango de riesgo se encuentra cada mujer para su edad. Con ello, pudimos catalogar a todas las mujeres de nuestro grupo de estudio como de alto riesgo, bajo o normal, de un modo independiente de la edad.

Para investigaciones como la presente, en nuestra opinión esto permite reducir la contaminación del análisis por un factor de alto impacto que sería un importante factor de confusión.

Tras tipificar de este modo el riesgo de fractura de cada mujer, nuestra muestra poblacional presenta el mayor porcentaje (se aproxima al 50%) en el grupo de riesgo normal y el resto de población se distribuye de igual manera en el grupo de alto y bajo riesgo (se aproximan al 25% cada uno).

Esta ha sido la distribución aproximada de la estimación de riesgo de fractura mayor con y sin densitometría y para la estimación de riesgo de caídas sin densitometría. Sin embargo, al estimar el riesgo de fractura de cadera con densitometría, el mayor porcentaje se incluía en el grupo de bajo riesgo (40%) y quedaron catalogadas como alto riesgo y riesgo normal un 30% para ambos grupos (tabla 31). Este hallazgo prueba que, de no haberlo hecho, así habríamos considerado como de riesgo normal a mujeres que no lo son.

En nuestra muestra, la introducción del dato de la densitometría para el cálculo en el FRAX® parece aumentar el poder discriminativo para la estimación del riesgo de fractura de cadera aumentando las mujeres catalogadas como grupo de bajo riesgo, aunque realmente hemos visto escasas diferencias con su introducción, lo que pone de relieve que es una herramienta que otorga un gran peso a los factores de riesgo, y que en nuestra opinión debe ser perfeccionada al no incluirlos todos.

Muchos autores remarcan la necesidad de añadir nuevos factores a la herramienta FRAX así como perfeccionar los ya existentes, por ejemplo, los factores de riesgo dosis-dependiente para los cuales el FRAX calcula una exposición media<sup>117</sup>.

En población española, los estudios mencionados en el apartado de consideraciones sobre el FRAX como método de estimación del riesgo de fractura, resaltan la capacidad predictiva de dicha herramienta para la estimación del riesgo de fractura de cadera en mujeres menores de 65 años<sup>82</sup>.

Dado que la edad media de nuestra muestra es de  $59 \pm 7$  años resultaría interesante estudiar la capacidad predictiva del FRAX® en España y en edades más jóvenes, como nuestro grupo de estudio; y quizás, para estimar a qué nivel de riesgo pertenece una mujer concreta, podría resultar de ayuda el modelo diseñado en nuestra investigación de curvas percentilares por edad. Que nosotros sepamos, no ha sido comunicado en la literatura un enfoque similar para el empleo del FRAX, que puede permitir clasificar a la mujer en función del riesgo calculado de modo independiente de la edad. Aunque sí se han intentado determinar umbrales de nivel de riesgo que justifiquen tratamientos en función del riesgo-beneficio y/o coste-efectividad<sup>49</sup>. Pero no es exactamente lo mismo.

Nuestra estrategia permite determinar que una mujer es de mayor riesgo en relación a su edad de modo similar a como se realiza con la Z para la interpretación del resultado de la densitometría respecto a las mujeres de la misma edad, pero por percentiles en lugar de por desviaciones estándar.

## 5.5. Consideraciones sobre nuestros resultados

En la presente tesis hemos manejado una base de datos con distintas variables y múltiples combinaciones entre sí. Ha sido necesaria la elaboración de numerosas tablas de contingencia y cálculos estadísticos para la búsqueda de relaciones entre los polimorfismos candidatos y el riesgo estimado de fractura.

Se obtuvo colaboración estadística por parte de una empresa profesional (Quality as Business Strategy consultora, S.L.), que nos asesoró sobre los métodos y estadísticos a utilizar, y una vez comprendieron lo que solicitamos desarrolló el modelo basado en los percentiles que nos permitió clasificar el riesgo de las mujeres en función de la curva percentilar teórica diseñada por ajuste de nuestros propios resultados.

En nuestra opinión, ello mejora la calidad de la muestra para el análisis estadístico, de modo que probablemente reduce el número de mujeres mal clasificadas en su grupo de riesgo por fenómenos aleatorios de cualquier medición o estimación, mejorándolo respecto a haber utilizado directamente la curva percentilar real. Esto es especialmente importante para estudios como el nuestro, porque pequeños números de mujeres erróneamente clasificadas en función de su riesgo, pueden enmascarar posibles correlaciones. Es por ello que en la actualidad, se recomienda utilizar estudios de muy grandes números de mujeres incluidas, posibilidad totalmente fuera de nuestro alcance<sup>118</sup>.

### 5.5.1. Valoración de los hallazgos significativos.

Nuestro hallazgo principal constituye la asociación estadísticamente significativa de la combinación digénica: CYP 19 IVS4 - BMP 15 905 A con el riesgo estimado de fractura de cadera a los 10 años estimado mediante la herramienta FRAX incluyendo los datos de la densitometría ósea.

Dicha asociación involucra a los alelos 22 del gen de la aromatasa marcador IVS4 y el alelo TC y TT del gen de la proteína morfogenética del hueso BMP 15 905 A.

Según nuestros resultados el polimorfismo 22TC en la combinación de dichos genes presentaría un papel protector con respecto al riesgo de fractura y los polimorfismos 22CC y 22TT representarían combinaciones de alto riesgo de fractura.

Los porcentajes observados superaron a los esperados, con una diferencia estadísticamente significativa ( $p$ -valor= 0.047), para:

- CYP 19 IVS4 - BMP 15 905 A (22TC) un 62% de pacientes catalogadas con bajo riesgo de fractura.
- CYP 19 IVS4 - BMP 15 905 A (22CC) alrededor del 56% fueron catalogadas en el grupo de alto riesgo.
- CYP 19 IVS4 - BMP 15 905 A (22TT) cerca del 43% de las mujeres fueron catalogadas en el grupo de alto riesgo.

Tras la segmentación en las tablas de contingencia manteniendo como cálculo estadístico la prueba Chi-cuadrado, hallamos que las diferencias significativas se

mantienen en el grupo de alto riesgo y para los alelos 22 del gen de la aromatasa y los alelos TT y TC del gen de la BMP 15 905 A.

La aportación de estas nuevas combinaciones asociadas al riesgo estimado de fractura abre el camino a nuevas investigaciones que busquen más allá de la relación monogénica de la enfermedad sino que en la relación causa – efecto se encuentran involucrados múltiples factores.

### **5.5.2. Valoración de las tendencias no significativas identificadas.**

Si bien es verdad que hemos hallado resultados estadísticamente significativos en una combinación digénica (CYP 19 IVS4 - BMP 15 905A), y lógicamente ello constituye nuestro hallazgo principal, en nuestra opinión no debemos infravalorar toda la información del resto de datos de los análisis realizados. En muchas ocasiones hallazgos clínicamente relevantes no confirmados estadísticamente pueden no haberlo sido por tamaños muestrales insuficientes, y este podría ser nuestro caso. Por tanto, aunque lógicamente no constituyen nuestras conclusiones principales, sí consideramos que debemos destacar las tendencias identificadas aunque sea por resultar sugerentes para ulteriores investigaciones con mayor potencia que la nuestra para descartar correlación.

Por tanto pasamos a comentar los más relevante del análisis de tendencias identificadas.

1. En el análisis unilocus:

- En este apartado destaca la presencia de los alelos GG del gen RIP 140, (Tabla 47) que se relaciona con una proporción del 45% de mujeres con bajo riesgo estimado de fractura mayor. Dicho porcentaje dobla el esperado (25%), y aunque no hemos descartado que nuestro hallazgo se deba al azar, resulta sugerente. Y cabe destacar también que, sin embargo, cuando la estimación del riesgo se realizaba sin densitometría dicha proporción disminuye a 13.6% (tabla 45). Esto es coherente con la sugerencia de una relación genética, más identificable por densitometría junto a factores de riesgo, que sólo por factores de riesgo.

Por tanto, podemos afirmar que hemos identificado un posible genotipo en gen candidato asociado con menor riesgo óseo, pero no podemos afirmar que nuestro hallazgo no haya sido debido al azar y queda pues para investigaciones posteriores.

2. En el análisis de combinación digénica para la estimación de riesgo de fractura mayor sin densitometría hemos encontrado también algunos datos destacables:

- En la relación de polimorfismos FSHR-RIP 140, la combinación : AAAA, presenta un 44% de mujeres en el grupo de alto riesgo de fractura (Tabla 74).
- Para ESR1- RIP140, la combinación TTAA presenta un 48% de mujeres en el grupo de alto riesgo de fractura (Tabla 82).
- En el caso de la combinación CCCC en genes ESR1- BMP 15 905 A, el 40%

de estas mujeres resultaron incluidas en el grupo de alto riesgo de fractura, (Tabla 87).

Existen otros hallazgos que sugieren tendencias hacia la protección o hacia el mayor riesgo óseo, pero aunque puedan ser de interés para nuevas investigaciones, la baja prevalencia de dichos polimorfismo hace que las mismas aunque sugerentes no merezcan ser destacadas en esta discusión.

3. En el análisis digénico para la estimación de riesgo de fractura de cadera con densitometría se observan también tendencias o diferencias que aunque no significativas merecen ser comentadas:

- Existen diversas combinaciones que presentan un porcentaje de mujeres superior al esperado y cercano al 60% en el grupo de bajo riesgo, las cuales se detallan a continuación:

- En la interacción FSHR-ESR2, la combinación AAAA (Tabla 103).
- En la interacción FSHR - BMP 15 673C, la combinación SSTT (Tabla 107).
- En la interacción FSHR-BMP 15 9C>G, la combinación SSGG (Tabla 108).
- En la interacción FSHR - BMP 15 905A , la combinación ASTC (Tabla 109).
- En la interacción ESR1- ESR2, la combinación CCAA (Tabla 111).
- En la interacción ESR1- BMP 15 673C, la combinación CCTC (Tabla 115).
- En la interacción ESR1- BMP 15 9C>G, la combinación CCGG (Tabla 116).
- En la interacción ESR2 - CYP 19 3'UTR, la combinación AAGG (Tabla 120).
- En la interacción CYP 19 3'UTR - BMP 15 673C, la combinación AATT (Tabla 133).
- En la interacción CYP 19 3'UTR - BMP 15 905A, la combinación: AACC (Tabla 135).
- En la interacción CYP 19 IVS4 - BMP 15 N103, la combinación 22AG (Tabla 136).
- En la interacción CYP 19 IVS 4 - BMP 15 9C>G, la combinación 22GG (Tabla 137).
- En la interacción CYP 19 IVS4 - BMP 15 673C, la combinación 22TC (Tabla 138).

- Hemos hallado otras combinaciones de polimorfismos que presentan un porcentaje cercano al 50% en el grupo de bajo riesgo doblando el valor esperado:

- En la interacción FSHR-ESR1, la combinación AACC (Tabla 102).
- En la interacción FSHR- CYP 19 3'UTR, el polimorfismo SSGA (Tabla 105).
- En la interacción FSHR- CYP IVS 4, el genotipo SS12 (Tabla 106).
- En la interacción FSHR-BMP N103, la combinación : AAAG (Tabla 110).
- En la interacción ESR1- CYP 19 3'UTR, la combinación : CCAA, (Tabla 113).

- En la interacción ESR1- CYP 19 IVS4, la combinación CC11 (Tabla 114).
  - En la interacción ESR1- CYP 19 IVS4, la combinación CC12 (Tabla 114).
  - En la interacción ESR1- BMP 15 905A, la combinación CCTC (Tabla 117).
  - En la interacción ESR1- BMP 15 9C>G, la combinación AAGC (Tabla 123).
  - En la interacción ESR2- BMP 15 673C, la combinación AATC (Tabla 122).
  - En la interacción ESR2- BMP 15 905A, la combinación AATC (Tabla 124).
  - En la interacción RIP 140-CYP 19 3'UTR, la combinación GGGA (Tabla 126).
  - En la interacción RIP 140-CYP 19 IVS4, la combinación GG12 (Tabla 127).
  - En la interacción RIP 140- BMP 15 905 A, la combinación GGTC (Tabla 130).
  - En la interacción CYP 19 3'UTR- CYP 19 IVS 4, la combinación GG11 (Tabla 132).
  - En la interacción CYP 19 3'UTR- BMP 15673C, la combinación GGTC (Tabla 133).
- Únicamente una asociación ha presentado un porcentaje llamativo con respecto al grupo de alto riesgo estimado de fractura de cadera:
    - La interacción ESR1- CYP 19 IVS4, la combinación CC22, presenta un 45% en el grupo de alto riesgo de fractura (Tabla 114).

Haber encontrado tantos polimorfismos en las interacciones de diferentes genes candidatos sugiere que es altamente probable que algún tipo de relación de alguno de ellos con protección o riesgo óseo puede existir, pero hemos de ser rigurosos y admitir que no hemos conseguido demostrarlo. En nuestra opinión, estos hallazgos podrían emplearse para dirigir futuros estudios de los grupos que puedan realizarlos con grandes tamaños muestrales, especialmente dirigidos a los polimorfismos más sugerentes y más prevalentes en nuestro estudio. Como decimos, desde el rigor científico que debe presidir nuestra valoración de los resultados, no damos más valor a todo este apartado que el que en las últimas frases exponemos.

En nuestro estudio, cuando se añade el valor de la densitometría a la herramienta FRAX hemos encontrado un incremento en el subgrupo de mujeres con bajo riesgo de fractura, sugiriendo que la densitometría ayuda a precisar y por tanto quizás a mejorar la especificidad, pero nuestra investigación no permitía dilucidar este aspecto.

Este fue también el comportamiento de la estimación de riesgo con el FRAX al analizar el riesgo ajustado por edad en toda la muestra (tabla 31) donde observamos que la mitad de la población del estudio queda catalogada dentro del grupo de riesgo normal y, el resto, queda distribuido en un 30 % dentro del grupo de alto riesgo y alrededor de un 15% en el grupo de bajo riesgo. Y al introducir en la estimación los datos obtenidos de la densidad mineral ósea no se apreciaron diferencias para la estimación del riesgo de fractura mayor pero sí para el riesgo de cadera. De tal modo, que, el porcentaje mayoritario se encuentra en el grupo de bajo riesgo (40%) y el resto de la población se distribuye de manera similar en alto y riesgo normal (30%).

Esto sugiere que a pesar de que nuestro grupo tiene una dmo no muy baja, tiene cierto riesgo de fractura mayor algo superior de lo esperado según la curva teórica, y algo menor para el de cadera.

## 5.6. Consideraciones sobre los estudios genéticos en osteoporosis y lo que aporta nuestra investigación

El desarrollo de la genética en los últimos años ha abierto a la sociedad científica un nuevo campo alentador. El conocimiento de nuevos genes y su repercusión en el desarrollo de enfermedades crean un atractivo campo de investigación.

La asociación genética a una patología nos permitirá en un futuro desarrollar tests de identificación de personas con riesgo, programas de prevención individualizados y crear así lo que se ha denominado una Medicina Predictiva.

Por otra parte, el conocimiento exhaustivo de la patogénesis de la enfermedad y sus implicaciones genéticas nos facilitará la orientación terapéutica en cada paciente facilitando una Medicina Personalizada. . De hecho, incluso la farmacogenómica es un campo de interés, que pretende entre otras cosas llegar a predecir el resultado del empleo de determinado fármaco en una paciente concreta.

Con respecto a la osteoporosis, es conocido que alrededor del 70% de la densidad mineral ósea tiene un componente genético-hereditario. Este porcentaje desciende al estudiar el recambio óseo (a través de marcadores bioquímicos) así como la microestructura ósea acercándose al 50%. Las fracturas también tienen un componente de heredabilidad cuyo porcentaje se sitúa alrededor del 30% hecho que sugiere que, no solo es la densidad mineral ósea el factor predominante en el riesgo, sino que, también existen otros factores que van a condicionar que se produzca una fractura por debilidad ósea.

La naturaleza poligénica y la involucración de factores medioambientales crean una dificultad para establecer las asociaciones de manera estadísticamente significativa, al actuar como factores de confusión.

Pero es objetivo de estudios científicos la búsqueda insaciable de modificaciones genéticas que se relacionen con el desarrollo de la enfermedad.

Como se ha comentado en la introducción, los estudios sobre la relación genética con la osteoporosis se iniciaron en los años noventa con el estudio de tres variantes polimórficas del gen del receptor de la vitamina D (VDR).

Posteriormente se publicaron otros estudios de asociación de polimorfismos identificados previamente y para los que era conocida su implicación biológica en el metabolismo óseo. Se estudiaba la relación entre el fenotipo y el polimorfismo, son los llamados estudios de asociación directa. De esta manera se establecieron los genes candidatos clásicos de la osteoporosis: VDR, ESR1, ESR2 y COL1A1. La limitación de dichos estudios era la necesidad del conocimiento previo de la implicación del gen a estudio en el metabolismo óseo. Otros genes fueron también añadiéndose a la lista inicial como el LRP5, OPG, o RUNX2<sup>119</sup>.

Tras la finalización del Proyecto Genoma Humano en el año 2003 y gracias al desarrollo de las técnicas de secuenciación fue posible la identificación de múltiples variantes genómicas del genoma.

En esa época es también cuando nace el proyecto “HapMap” de carácter internacional en el cual un grupo de investigadores publica los SNP (polimorfismos de nucleótido único) que produce cada alelo en al menos el 1% de la población.

Se iniciaron entonces los estudios de asociación indirecta en los cuales no era necesario conocer la relación entre fenotipo y gen a estudio, lo que supuso un avance extraordinario y la aparición de gran cantidad de polimorfismos candidatos a ser las variantes funcionales responsables de asociaciones con la patología.

Muchos autores critican entonces la necesidad de ser estrictos en los cálculos estadísticos y la necesidad de hacer correcciones de test múltiples como la de Bonferroni o el False Discovery Rate<sup>120</sup>.

El siguiente paso en el estudio genético ha sido el desarrollo de los GWAs (GenomeWide Association Analysis) posibilitando la identificación de variantes tanto en regiones genómicas o en genes candidatos como en genes o posiciones intergenómicas desconocidas hasta la fecha. Es trabajo de investigación científica posterior establecer la asociación entre dichas regiones y la patología o el fenotipo o incluso la respuesta a un tratamiento.

En la actualidad se han descubierto 66 loci relacionados con la densidad mineral ósea, confirmando su naturaleza poligénica, pero solo 7 (LRP5, SOST, ESR1, TNFRSF11b, TNFRSF11A, TNFSF11, PTH) han sido confirmados con estudios de asociación del genoma completo (GWAs)<sup>121</sup>.

Está publicándose continuamente nuevas asociaciones en polimorfismos genéticos y son de interés especial, las investigaciones recientes en el gen LRP5 y su relación con RUNX2<sup>4</sup>, incluso estudios más actuales abren horizontes con la aparición de nuevos genes relacionados con la densidad mineral ósea. Xing Bo-Mo<sup>122</sup> et al describen en dicho artículo 63 nuevos genes candidatos para futuras investigaciones.

Otro estudio interesante publicado por Estrada et al en el año 2012<sup>123</sup> localiza en una primera fase 56 loci asociados con la masa mineral ósea e identifica 14 loci asociados a alto riesgo de fractura en un metaanálisis con más de 130.000 sujetos entre casos y controles. Entre los genes relacionados con la densidad mineral ósea se encuentran los involucrados en la triada RANK-RANKL-OPG, los de la diferenciación de las células mesenquimales, la osificación endocondral y los de la vía del Wnt.

Entre los loci relacionados con el riesgo de fractura tras la corrección de Bonferroni describen: 18p11.21(C18orf19), 7q21.3(SLC25A13),11q13.2(LRP5), 4q22.1(MEPE), 2p16.2 (SPTBN1) y el 10q21.1 (DKK1).

Es importante destacar que se identificaron loci relacionados con un aumento del riesgo de fractura pero, sin embargo, tenían un impacto mínimo sobre la densidad mineral ósea, como es el caso del 18p11.21 (C18orf19), cuya proteína codificada todavía no se conoce con exactitud su función. De modo inverso, los loci involucrados en la vía RANK-RANKL-OPG demostraron asociación con la densidad pero no con el riesgo de fractura. Estos hallazgos reflejan la naturaleza compleja y la heterogenicidad de la fisiología ósea. Añaden a los genes relacionados con el metabolismo óseo otros loci que, sin establecer dicha relación, justifican un cambio en el riesgo de fractura.

Y esto es base precisamente de la realización de nuestro estudio. Previamente, nuestro grupo había investigado sobre la posible relación entre nuestros genes candidatos y la densidad mineral ósea, pero no realmente con el riesgo de fractura, y como hemos visto, los resultados pueden ser diferentes.

Efectivamente, la necesidad de la presente tesis surge a partir de los estudios publicados por diversos investigadores de nuestro grupo colaborativo, que relacionaron genes involucrados en el metabolismo estrogénico con la densidad mineral ósea - entre ellos a destacar los artículos de Mendoza et al<sup>86,105,110,111,112</sup> – pero no con el riesgo de fractura, que realmente es lo verdaderamente importante. Y existe la posibilidad de la existencia de relación entre genotipo y riesgo de fractura en cierto modo independientemente de la propia densidad mineral ósea.

Recientemente, los investigadores mencionados, publicaron nuevas asociaciones entre osteoporosis y combinaciones de los genes involucrados en la ruta de los estrógenos y los genes BMP<sup>124</sup>. Se halló una relación estadísticamente significativa entre el gen FSHR (AA, AS) con el marcador 3'UTR del gen CYP19A1 (CC), entre FSHR (AS) y el marcador 905 A>G (AG) del gen BMP15 y entre la variante SS del gen FSHR con el gen BMP15 marcador 905A>G variante AA. También se obtuvo relación significativa entre el gen de la aromatasa marcador 3'UTR variante TT con el gen NRIP1 variantes AG y GG y el gen de la aromatasa marcador 3'UTR variante TC con el gen BMP 15 marcador -9C>G (CC).

Del mismo modo el marcador del gen de la aromatasa (IVS4) (variantes II y DD) presentó relación significativa respecto a la osteoporosis en asociación con el gen BMP15 (-9>G) variantes CC y GG respectivamente.

Se definieron además combinaciones multilocus consideradas de riesgo para osteoporosis en cadera: ESR2 (GA) – NRIP (AA) – BMP15 marcadores (-9C>G) y (905A>G) GG y CC respectivamente.

Basándonos en estos resultados y en los mostrados por Santalla<sup>114</sup> en su tesis doctoral “Importancia del gen Bone Morphogenetic Protein 15 y otros genes pertenecientes a la ruta estrogénica en la osteoporosis postmenopáusica” establecimos nuestra hipótesis para la actual tesis doctoral.

El análisis unilocus en dicha tesis no identificó relación estadísticamente significativa de los genes estudiados (ESR1, ESR2, FSHR, CYP19A, NRIP y BMP15) con el grupo catalogado como osteoporosis, pero sí la halló en el análisis digénico en los genes de la aromatasa, el NRIP1 y el BMP15. Las interacciones estadísticamente significativas fueron:

- Gen NRIP1 (variante GA,GG) con gen CYP19 UTR3 (GA)
- Gen BMP15 marcador -9C>G (CC,CG) con gen CYP19 IVS4 (11 y 22)
- Gen BMP15 +905A>G (CC,TC) con FSHR (AS, SS)

Es por ello que adquiere relevancia nuestra investigación, como se ha hecho referencia, pues existen numerosos estudios que analizan la relación entre patrones genéticos y densidad mineral ósea<sup>125</sup>, pero muy pocos que relacionen dichos patrones con el riesgo de fractura y, en concreto, ninguno con el calculado con la herramienta FRAX®.

En nuestro estudio queremos identificar si existe una correlación entre alto o bajo riesgo de fractura y la carga genética, posibles marcadores de riesgo o de protección.

La estrategia que seguimos para la clasificación de las mujeres por subgrupos en función del riesgo de fractura, requirió complejos cálculos estadísticos pero pensamos que puede resultar muy útil conseguir la clasificación independiente de la edad cuando se pretende investigar correlaciones de carga genética con riesgo de patología multifactoriales muy dependientes de la edad además de otros múltiples factores. Esta estrategia permite seguramente reducir el número de mujeres incorrectamente clasificadas que se habría producido de otro modo, y ello puede ser de especial interés para investigaciones genéticas. Resulta imposible hacer algo parecido para otros factores, y de hecho, la estrategia más utilizada para este último aspecto es utilizar cohortes de tamaño muestral 100 o más veces superior a la nuestra, lo que resulta inalcanzable para la mayoría de grupos investigadores.

Destacar por tanto, que en el presente estudio hemos creado un algoritmo basado en nuestra población que nos permite clasificar a futuras pacientes según su riesgo de fractura, calculado mediante FRAX, extrapolando sus resultados a nuestras gráficas de percentiles y estableciendo con ello unos nuevos límites basados en población española. Es decir, nos permite clasificar las pacientes en función de su nivel de riesgo respecto a las mujeres de su misma edad, y que sepamos ello no había sido comunicado previamente, por lo que es un resultado potencialmente útil de la presente investigación.

Respecto al **análisis unilocus**, en nuestro trabajo no hemos podido confirmar una relación unilocus del riesgo de fractura con los genes estudiados por lo que nuestros datos concuerdan con las distintas publicaciones del grupo de investigadores españoles<sup>87,106,111,112,113</sup> y corrobora el carácter multifactorial de la osteoporosis. Aunque es cierto que hemos identificado algunas tendencias sugerentes que quedará para otras investigaciones más potentes corroborar o rechazar.

Pero cabe mencionar que el hecho de estudiar una variable dependiente, como es el riesgo, que en realidad depende de múltiples factores hace que el estudio de relaciones directas se complique más y se deban de tener muy presentes, los posibles sesgos que pudieran participar. Por ello, hay que ser muy riguroso y cauto en la interpretación de los hallazgos, y hemos repetido hasta la saciedad al describir los resultados que apenas hemos encontrado relaciones o diferencias estadísticamente significativas. Pero no es menos cierto, que la tarea del investigador es analizar, destacar y discutir todo lo que pudiera ser relevante de los hallazgos de su investigación. Y en ese sentido, un estudio como el nuestro debe destacar las tendencias identificadas para sugerir su posterior investigación específica si fuera el caso. Y hemos de destacar la labor del análisis estadístico que se ha realizado para la elaboración del presente trabajo, resumido en la metodología, con complejidad de los cálculos estadísticos y un número muy elevado de tablas de contingencia para cada grupo de pacientes, de las que lógicamente sólo hemos expuesto las más relevantes.

Con respecto al **estudio de asociaciones digénicas**, es relevante destacar la relación identificada entre el marcador del gen de la aromatasa IVS4 y el gen BMP 15 marcador IVS1+905 A>G con el riesgo de fractura, que es el hallazgo principal de nuestra investigación. Previamente había sido mencionada en publicaciones previas

como una relación que se asociaba a osteoporosis<sup>107,124</sup>, pero nuestro estudio la prueba con claridad

El gen que codifica la proteína BMP15 marcador 905A ha sido destacado también por publicaciones en el marco de patología ginecológica, como involucrado en la infertilidad<sup>110</sup> y relacionado con anovulación en mujeres con síndrome de ovario poliquístico.

Estos hallazgos realzan la importancia de las proteínas BMP 15 en el campo de la osteoporosis, en concreto el marcador 905A >G cuya relación con el riesgo de fractura ha sido constatada en nuestro estudio. En los análisis previos de Santalla también se establecían relaciones entre dicho locus y otros genes para osteoporosis.

En la línea de lo expuesto sobre la necesidad de destacar también las tendencias identificadas, como posibles áreas de estudio futuro para confirmarlo o descartarlo, de nuestro estudio cabe destacar también la combinación genética del locus CYP 19 marcador IVS4 (22) y el gen BMP 15 marcador 905 A (TC) como probable asociación “protectora” del riesgo de fractura. El porcentaje de mujeres que se distribuyen en el grupo de bajo riesgo triplica al porcentaje de mujeres del grupo de alto riesgo. Dicha relación no se había hallado en los estudios preliminares.

Este hecho remarca el camino hacia la investigación de los genes implicados en la ruta estrogénica en el contexto de la patología ósea. Además los resultados confirman la complejidad de la fisiopatología ósea y la necesidad de investigaciones multidisciplinarias que abarquen aspectos tanto metabólicos como genéticos.

Es necesaria la realización de nuevos trabajos incluyendo una muestra poblacional mucho mayor y análisis más amplios (de polimorfismos poligénicos de alto número y de secuenciación múltiple), que escapen a nuestras posibilidades actuales. Nuestro estudio sin embargo sustenta esta necesidad.

Por otro lado, la combinación alélica entre los dos genes que ha mostrado relación estadísticamente significativa con el riesgo de fractura presenta una prevalencia del 7.7%, que parece apropiada para la potencial utilidad del hallazgo.

Y de hecho, en nuestra opinión, la importancia de nuestros resultados es que identifica dos genes y polimorfismos implicados en el riesgo de fractura, así como otras tendencias para cuya confirmación quizás un análisis de secuenciación centrado en combinaciones genéticas de todos los genes candidatos podría aportar más información. Es posible que estos y otros polimorfismos presenten también una relación con el riesgo estimado de fractura, pero se hace imprescindible aumentar la población a estudio para poder establecer o descartar dichas relaciones con poder estadístico. De hecho, todos los estudios han ido en esa dirección, pues la cohorte que constituyó el universo del que extrajimos nuestra muestra fue una de las más numerosas y potente en su momento con 2.000 pacientes, pero en la actualidad se plantea la investigación sobre muestras de decenas o incluso centenas de miles de mujeres.

Consideramos pues nuestros hallazgos, como una confirmación de la relación de algunos polimorfismos genéticos con el riesgo de fractura osteoporótica, y como un pequeño sustento de la necesidad de la realización de estos macroestudios para identificar otros y poner a prueba las tendencias que hemos hallado.

Si bien, es cierto que el conocimiento sobre la genética de la osteoporosis avanza con rapidez y genera una ingente cantidad de información, pero todavía no resulta explicable y manejable. En este sentido nuestro hallazgo puede interpretarse como una pequeña punta del iceberg hacia la utilidad clínica de los hallazgos genéticos en osteoporosis, porque la identificación de un polimorfismo concreto en dos genes candidatos en la mujer (el 22CC en los genes IVS4 y BMP 15 marcador IVS1+905 A>G respectivamente), podría permitir catalogarla como mujer con alto riesgo de fractura.





## **6. Conclusiones**

---



## 6.1. Conclusiones principales

1. El polimorfismo digénico constituido por TT o CC de BMP15 905A>G y 22 de CYP 19 IVS4 se asocia con mayor probabilidad de alto riesgo de fractura de cadera ajustado por edad estimado mediante el índice FRAX® incluyendo densitometría ósea. Podría constituir pues un polimorfismo que confiere mayor riesgo de fractura por fragilidad ósea.
2. El polimorfismo digénico constituido por TC de BMP15 905A>G y 22 de CYP 19 IVS4 se asocia con mayor probabilidad de bajo riesgo de fractura de cadera ajustado por edad estimado mediante el índice FRAX® incluyendo densitometría ósea. Podría constituir por tanto un polimorfismo que confiere menor riesgo de fractura por fragilidad ósea.
3. No hemos encontrado ninguna otra asociación estadísticamente significativa entre los polimorfismos unilocus o digénicos analizados, aunque sí algunas tendencias sugerentes de relación genética no confirmada por nuestra investigación, que requerirían estudios de mayor tamaño muestral para confirmarse o descartarse definitivamente.

## 6.2. Otras conclusiones

1. En nuestra población, la herramienta FRAX® parece más discriminativa para la estimación del riesgo de fractura de cadera al incluir el resultado de la densitometría en la estimación.
2. No queda claro, o es menos relevante, que la introducción del valor de la densitometría de cadera mejore la estimación del riesgo de fractura mayor mediante FRAX.
3. Hemos descrito un modelo ajustado por edad de percentiles de riesgo de fractura estimada por FRAX, que permite utilizar el riesgo estimado para catalogar a la mujer como con bajo, normal o alto riesgo de fractura, con o sin densitometría.





## ***7. Bibliografía***

---



1. Fernández-Tresguerres Hernández-Gil I, Alobera Gracia MA, Del Canto Pingarrón, Blanco Jerez L. Histology and physiology of bone tissue. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006;11:E47-51.
2. Friedenstein AJ. Precursor cells of mechanocytes. *Int Rev Cytol* 1976;47:327-55.
3. Cano A, García Pérez, M.A. Aspectos fundamentales de la calidad ósea. En: Ferrer J, coordinador. *Calidad ósea en la menopausia. Guía clínica de la AEEM*. 1ª ed. Barcelona :Doctoractive S.L. ; 2009.p.9-20.
4. Agueda,L et al. Functional relevance of the BMD-associated polymorphism rs3112009: novel involvement of RUNX2 in LRP5 transcriptional regulation. *J Bone Miner Res* 2011(26);5:1133-1144.
5. Civitelli R, Beyer EC, Warlow PM, Robertson AJ, Geist ST, Steinberg TH. Connexin 43 mediates direct intercellular communication in human osteoblastic cells networks. *J Clin Invest* 1993; 91:1888-96.
6. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang M-S, Luethy R et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997;89:309-19.
7. Aubin JE, Liu F. The osteoblasts lineage. En: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA, eds. *Principles of Bone Biology*. San Diego, California: Academic Press;1996.p. 51-67.
8. Lanyon L. Osteocytes, strain detection, bone remodeling and remodeling. *Calcified Tissue Int* 1993;53:102-7.
9. Mundy GR. Cytokines and growth factors in the regulation of bone remodeling. *J Bone Miner Res* 1993;8:505-10.
10. Burgess TL, Quian Y, Kaufman S, Ring BD, Van G, Capparelli C et al. The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. *J Cell Biol* 1999;145:527-38.
11. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess TL et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclasts differentiation and activation. *Cell* 1998;93:165-76.
12. Young MF. Bone matrix proteins: more than markers. *Calcif Tissue Int* 2003;72:2-4.
13. Schonau E, Rauch F. Markers of bone and collagen metabolism. Problems and perspectives in Pediatrics. *Horm Res* 1997;48:50-9.
14. Canalis E, Economides AN, Gazzerro E. Bone morphogenetic proteins, their antagonists, and the skeleton. *Endocr Rev* 2003;24:218-35.

15. Reyes Garcia R, P Rozas Moreno, Muñoz Torres M. Regulation of bone remodeling processes. REEMO. 2008;17(1):10-4
16. Lafita, J. Fisiología y fisiopatología ósea. Anales Sis San Navarra. 2003, vol.26, suppl.3, pp.7-17.
17. Khosla S. The OPG/RANKL/RANK system. Endocrinology 2001; 142: 5050-5055.
18. Lawrence G, Raisz MD, Gideon A, Roldan. Pathogenesis of osteoporosis. Endocrinol Metab Clin N Am 2003; 32: 15-24.
19. Riggs BL, Sundeep K, Melton III J. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. Endocr Rev 2002; 23: 279-302.
20. Cummings SR, Karpf DB, Harris F, Genant HK, Ensrud K, Lacroix AZ et al. Improvement in spine bone density and reduction in risk of vertebral fractures during treatment with antiresorptive drugs. Am J Med 2002; 112: 281-289.
21. Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM. Stimulation of adipogenesis in fibroblast by PPAR $\gamma$  2, a lipid activated transcription factor. Cell 1994; 79: 1147-1156.
22. Langlois JA, Rosen CJ, Visser M, Hannan MT, Harris T, Wilson PW et al. Association between insulin-like growth factor I and bone mineral density in older women and men: the Framingham Heart Study. J Clin Endocrinol Metab 1998; 83: 4257-4262.
23. Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanism and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. Endocr Rev 2000; 21: 115-137.
24. Frost HM. Perspective on the estrogen-bone relationship and postmenopausal bone loss. J Bone Miner Res 1999; 14: 1473-1477.
25. Guañabens Gay, N. Importancia de los marcadores bioquímicos del recambio óseo. En: Ferrer J, coordinador. Calidad ósea en la menopausia. Guía clínica de la AEEM. 1ª ed. Barcelona :Doctoractive S.L. ; 2009.p.27-33.
26. Seibel MJ. Biochemical markers of bone remodeling. Endocrinol Metab Clin N Am 2003; 32: 83-113.
27. Romero Barco C, Manrique Arijá S, Rodríguez Pérez. Marcadores bioquímicos en osteoporosis.Utilidad en la práctica clínica. Reumatol Clin. 2012;08:149-52.
28. Riggs BL, Melton LJ, Ófallon WM. Drug therapy for vertebral fractures in osteoporosis: evidence that decreases in bone turnover and increases in bone mass both determine antifracture efficacy. Bone. 1996; 18:197-201.

29. Garnero P. Biomarkers for osteoporosis management: utility in diagnosis, fracture risk prediction and therapy monitoring. *Molecular Diagnosis & Therapy*. 2008; 12:157-70.
30. Robbins JA, Schott AM, Garnero P, Delmas PD, Hans D, Meunier PJ. Risk factors for hip fracture in women with high BMD: EPIDOS study. *Osteoporosis Int*. 2005; 16:149-54.
31. Mora S, Gilsanz V. Establishment of peak bone mass. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2003; 32: 39-63.
32. Katzman DK, Bachrach LK, Carter DR, Marcus R. Clinical and anthropometric correlates of bone mineral acquisition in healthy adolescent girls. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73: 1332-1339.
33. Peacock M, Turner ChH, Econs MJ, Foroud T. Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev* 2002; 23: 303-326.
34. Huncharek M, Muscat J, Kupelnick B. Impact of dairy products and dietary calcium on bone-mineral content in children: results of a meta-analysis. *Bone*. 2008 Aug;43(2):312-21.
35. Feskanich D, Willett W, Colditz G. Walking and leisure-time activity and risk of hip fracture in postmenopausal women. *JAMA* 2002;288:2300-6.
36. Gómez Alonso C, Díaz López JB. Métodos de determinación de la densidad mineral ósea. *Rev Clin Esp*. 2009;209 Supl 1:15-22.
37. Lachman E, Whelan M. The Roentgen diagnosis of osteoporosis and its limitations. *Radiology* 1937; 26: 165-77.
38. The European Prospective Osteoporosis Study (EOPS) Group. The relationship between bone density and incident vertebral fracture in men and women. *J Bone Miner Res*. 2002;17:2214-21.
39. Rodríguez Bueno E. Radiografía convencional en la osteoporosis. En: Palacio,S, editor jefe. *Guía práctica de la Osteoporosis en Ginecología*. 1ª ed. Barcelona: Elviesier Doyma; 2010.p.79-97.
40. Cameron JR, Sorenson J. Measurement of Bone Mineral in Vivo: An Improved Method. *Science* 1963;142: 230-2.
41. Vázquez Fernández F, Barea Azcón I. Densitometría ósea. En: Palacio,S, editor jefe. *Guía práctica de la Osteoporosis en Ginecología*. 1ª ed. Barcelona: Elviesier Doyma; 2010.p.53-67.

42. Grampp S, Genant HK, Mathur A, Lang P, Jergas M, Takada M, et al. Comparisons of noninvasive bone mineral measurements in assessing age-related loss, fracture discrimination, and diagnostic classification. *J Bone Miner Res.* 1997; 12: 697-711.
- 43 Marshall D, Johnell O, Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ: British Medical Journal.* 1996;312 (7041):1254-1259.
44. Genant HK, Grampp S, Gluer CC, Faulkner KG, Jergas M, Engelke K, et al. Universal standardization for dual x-ray absorptiometry: patient and phantom cross-calibration results. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 1503-14.
45. Díaz Curiel M, Carrasco de la Peña JL, Honorato Pérez J, Pérez Cano R, Rapado A, Ruiz Martínez I. Study of bone mineral density in lumbar spine and femoral neck in a Spanish population. Multicentre Research Project on Osteoporosis. *Osteoporos Int* 1997; 7: 59-64.
46. Gómez Alonso C. Valores de la densidad mineral ósea (BMD) en columna lumbar y cadera de la población sana española. En: Díaz Curiel M, Díez Pérez A, Gómez Alonso C, FHOEMO, SEIOMM, RPR, editores. *Nuevas Fronteras en el Estudio de la Densidad Ósea en la Población Española.* Alcorcón, Madrid: Edimsa 1996; 73-94.
47. Kanis JA, Gluer CC. An update on the diagnosis and assessment of osteoporosis with densitometry. Committee of Scientific Advisors, International Osteoporosis Foundation. *Osteoporos Int* 2000; 11: 192-202.
48. WHO Study Group. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Geneva, Switzerland: WHO 1994.
49. Osteoporosis: review of the evidence for prevention, diagnosis and treatment and cost-effectiveness analysis. *Osteoporosis Int* 1998;8 (supl4).
50. Kaufman JJ, Einhorn TA. Ultrasound assesmentof bone. *J Bone Miner Res* 1993; 8:517-525.
51. Grampp S, Genant HK, Mathur A, Lang P, Jergas M, Takada M, et al. Comparasions of noninvasive bone mineral measurements in assessing age-related loss, fracture discrimination, and diagnostic classification. *J Bone Miner res.*1997;12:697-711.
52. Sosa M, Saavedra P, Muñoz-Torres M, Alegre J, Gómez C, González- Macías J, et al. GIUMO Study Group. Quantitative ultrasound calcaneus measurements: normative data and precision in the spanish population. *Osteoporos Int* 2002; 13: 487-92.
53. Frost ML, Blake GM, Fogelman I. Can the WHO criteria for diagnosing osteoporosis be applied to calcaneal quantitative ultrasound? *Osteoporos Int* 2000; 11: 321-30.

54. López-Rodríguez F, Mezquita-Raya P, de Dios Luna J, Escobar-Jiménez F, Muñoz-Torres M. Performance of quantitative ultrasound in the discrimination of prevalent osteoporotic fractures in a bone metabolic unit. *Bone*. 2003; 32: 571-8.
55. Siris ES, Miller PD, Barrett-Connor E, Faulkner KG, Wehren LE, Abbott TA, et al. Identification and fracture outcomes of undiagnosed low bone mineral density in postmenopausal women: results from the National Osteoporosis Risk Assessment. *JAMA* 2001; 286: 2815-22.
56. Caeiro Rey J, Robleda D. Calidad del hueso como elemento mecánico. En: Ferrer J, coordinador. *Calidad ósea en la menopausia. Guía clínica de la AEEM*. 1ª ed. Barcelona :Doctoractive S.L. ; 2009.p.43-53.
57. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *American Journal of Medicine*; 1991,90: 107-110.
58. World Health Organization. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. WHO. Technical report series. Ginebra. Suiza 1994.
59. Autores varios. El documento canario sobre la osteoporosis. En: Sosa Henríquez, editor. *Ilustre Colegio Oficial de Médicos de Las Palmas, Servicio Canario de Salud*, 1997.
60. National Center for Health Statistics 1994 Plan and Operation of the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988 –94. *Vital Health Stat1(32):DHHS Publ. No. (PHS) 94 –1308*. NCHS, Hyattsville, MD, U.S.A
61. Lewiecki EM, Watts N, Mc Klung M, Petak S, Bachrak L, Sheperd J, et al. Official Positions of the International Society for Clinical Densitometry. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:3651-5.
62. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis and Therapy. *JAMA* 2001; 285:785-95.
63. Melton LJ, 3rd. How many women have osteoporosis now? *J Bone Miner Res* 1995;10:175-7.
64. Rosen CJ. Postmenopausal osteoporosis. *N Eng J Med* 2005;353:595-603.
65. Looker AC, Orwoll ES, Johnston CC, Jr, et al. Prevalence of low femoral bone density in older U.S. adults from NHANES III. *J Bone Miner Res* 1997;12:1761-8.
66. Muñoz-Torres M, Varsavsky M, Avilés Pérez MD. Osteoporosis. Definición. *Epidemiología. Rev Osteoporos Metab Miner* 2010;2 (Supl 3): S5-S7

67. Díaz Curiel M, García JJ, Carrasco JL, et al. Prevalencia de la osteoporosis determinada por densitometría en la población femenina española. *Med Clin (Barc)* 2001;116:86-8.
68. Naves M, Díaz-López JB, Gómez C, Rodríguez-Rebollar A, Serrano-Arias M, Cannata-Andía JB. Prevalence of osteoporosis in men and determinants of changes in bone mass in a non-selected Spanish population. *Osteoporos Int* 2005;16:603-9.
69. Ioannidis G, Papaioannou A, Hopman WM, et al. Relation between fractures and mortality: results from the Canadian Multicentre Osteoporosis Study. *CMAJ* 2009; 181:265-71.
70. Marín F, González-Macías J, Díez-Pérez A, Palma S, Delgado-Rodríguez M. Relationship between bone quantitative ultrasound and fractures: a meta-analysis. See comment in PubMed Commons below *J Bone Miner Res.* 2006 Jul;21(7):1126-35.
71. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Dawson A, De Laet C, Jonsson B. Ten year probabilities of osteoporotic fractures according to BMD and diagnostic thresholds. *Osteoporos Int.* 2001 Dec;12(12):989-95.
72. Johnell O, Kanis JA, Oden A, Johansson H, De Laet C, Delmas P, Eisman JA, Fujiwara S, Kroger H, Mellstrom D, Meunier PJ, Melton LJ 3rd, O'Neill T, Pols H, Reeve J, Silman A, Tenenhouse A. Predictive value of BMD for hip and other fractures. *J Bone Miner Res.* 2005 Jul;20(7):1185-94.
73. González Rodríguez, S. Guía de prevención y manejo de la osteoporosis. Capítulo 2. Diagnóstico de la osteoporosis. Anamnesis, exploración clínica, analítica, radiología, densitometría. Valoración del riesgo de osteoporosis y fractura: escalas. 2015
74. Siris ES, Chen YT, Abbott TA, Barrett-Connor E, Miller PD, Wehren LE, et al. Bone mineral density thresholds for pharmacological intervention to prevent fractures. *Arch Intern Med.* 2004;164(10):1108-12.
75. Díez A, Puig J, Nogués X, Knobel H, Mínguez S, Supervia A, et al. Cribado de riesgo óseo mediante factores clínicos en mujeres tras menopausia fisiológica. *Med Clin (Barc)* 1998;110:121-4.
76. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, McCloskey E. FRAX and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporos Int.* 2008;19:385–97.
77. O'Neill TW, Marsden D, Matthis C, Raspe H, Silman AJ. Survey response rates: national and regional differences in a European multicentre study of vertebral osteoporosis. *J Epidemiol Community Health.* 1995;49:87–93.
78. Keerthi Gadam R, Schlauch K, PhD2, Izuora K. FRAX Prediction Without BMD for Assessment of Osteoporotic Fracture Risk. *Endocr Pract.* 2013 ; 19(5): 780–784.

79. Estébanez Seco S, Yakovyshyna L, Borja Hernández Moreno F, Magallán Muñoz A, Tena Rubio J, Hernández Sanz A, Santos Rey J, Villarín Castro A. Aplicabilidad de la herramienta FRAX® en pacientes con Osteoporosis. *Rev Clín Med Fam* 2010; 3 (2): 83-87.
80. Azagra et al. FRAX® tool, the WHO algorithm to predict osteoporotic fractures: the first analysis of its discriminative and predictive ability in the Spanish FRIDEX cohort. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2012, 13:204
81. Azagra Ledesma et al. Utilidad de la herramienta FRAX en el tratamiento de la osteoporosis en población femenina española. *Med Clin (Barc)*. 2011;136 (14):613–619.
82. Tebé C, Espallargues M, Estrada MD, Casas L, Del Río LM, Di Gregorio S. Análisis de los factores de riesgo y la probabilidad de fractura por fragilidad en una cohorte de mujeres con indicación de densitometría ósea. Barcelona: Agència d'Informació, Avaluació i Qualitat en Salut, 2010. 64 p; 24 cm. Informes, estudios e investigación. Informes de evaluación de tecnologías sanitarias. AATRM; 2009/04.
83. Olmo Fernández-Delgado JA. ¿Podría el índice FRAX modificar el tratamiento de la osteoporosis? *Rev Osteoporos Metab Miner* 2012 ;4;1:23-26.
84. Gómez Navarro Rafael. Aplicación de la herramienta FRAX® para la determinación del riesgo de fractura en mujeres de un ámbito rural. *Rev. Esp. Salud Pública [revista en la Internet]*. 2010 Jun [citado 2015 Abr 04] ; 84(3): 321-330.
85. Nayak, S., Edwards, D. L., Saleh, A. A., & Greenspan, S. L. Performance of risk assessment instruments for predicting osteoporotic fracture risk: a systematic review. *Osteoporosis International*. 2014;25(1), 23-49.
86. Santiago et al. Aplicabilidad de la herramienta FRAX® en pacientes con Osteoporosis. *Rev Clin Med Fam* . 2010, vol.3, n.2,83-87 .
87. Mendoza N, Moron F, Santalla A. Understanding and new concepts of its relationship with gen polymorphisms in the estrogen pathway. *REEMO*. 2008;17(5): 106-11.
88. Peacock M, Turner CH, Econs MJ, Foroud T. Genetics of osteoporosis. *Endocrine Reviews* 2002; 23: 303–326.
89. Ralston SH. Genetic control of susceptibility to osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 87(6):2460–2466
90. Pocock N, Eisman J, Hopper J, Yeates M, Sambrook P, Ebert S. Genetic determinants of bone mass in adults. *J. Clin. Invest.* 1987 vol 80, 706-710.
91. Huang QY, Kung AW. Genetics of osteoporosis. *Mol Genet Metab*. 2006;88:295-306.

92. Valdés-Flores M, et al. Aspectos genéticos de la osteoporosis. *Rev Invest Clin* 2012; 64 (3): 294-307.
93. Nogués Solán X. Guía Clínica de la AEEM. Capítulo 3: Influencia genética en la calidad ósea. Abril 2009.
94. Gennari L, Merlotti D, De Paola V, Calabrò A, Becherini L, Martini G, et al. Estrogen receptor gene polymorphisms and the genetics of osteoporosis: a HuGE review. *Am J Epidemiol*. 2005;161:307-20.
95. Yamada Y, Ando F, Niino N, Ohta S, Shimokata H. Association of polymorphisms of the estrogen receptor alpha gene with bone mineral density of the femoral neck in elderly Japanese women. *J Mol Med*. 2002;80:452-60.
96. Zhao LJ, Liu PY, Long JR, Lu Y, Xu FH, Zhang YY, et al. Test of linkage and/or association between the estrogen receptor alpha gene with bone mineral density in caucasian nuclear families. *Bone*. 2004;35:395-402.
97. Van Meurs JB, Schuit SC, Weel AE, van der Klift M, Bergink AP, Arp PP, et al. Association of 5' estrogen receptor alpha gene polymorphisms with bone mineral density, vertebral bone area and fracture risk. *Hum Mol Genet*. 2003;12:1745-54.
98. Ioannidis JP, Ralston SH, Bennett ST, Brandi ML, Grinberg D, Karassa FB, et al; GENOMOS Study. Differential genetic effects of ESR1 gene polymorphisms on osteoporosis outcomes. *JAMA*. 2004;292:2105-14.
99. Kiel DP, Demissie S, Dupuis J, Lunetta KL, Murabito JM, Karasik D. Genome-wide association with bone mass and geometry in the Framingham Heart Study. *BMC Med Genet*. 2007;8 Suppl 1:S14.
100. Tsukamoto K, Inoue S, Hosoi T, Orimo H, Emi M. Isolation and radiation hybrid mapping of dinucleotide repeat polymorphism at the human estrogen receptor beta locus. *J Hum Genet*. 1998;43:73-4.
101. Scariano JK, Simplicio SG, Montoya GD, Garry PJ, Baumgartner RN. Estrogen receptor beta dinucleotide (CA) repeat polymorphism is significantly associated with bone mineral density in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int*. 2004;74:501-8.
102. Aittomäki K, Lucena JL, Pakarinen P, Sistonen P, Tapanainen J, Gromoll J, et al. Mutation in the follicle-stimulating hormone receptor gene causes hereditary hypergonadotropic ovarian failure. *Cell*. 1995;82:959-68.
103. Sun L, Peng Y, Sharrow AC, Iqbal J, Zhang Z, Papachristou DJ, et al. FSH directly regulates bone mass. *Cell*. 2006;125:247-60.

104. Salmen T, Heikkinen AM, Mahonen A, Kröger H, Komulainen M, Pallonen H, et al. Relation of aromatase gene polymorphism and hormone replacement therapy to serum estradiol levels, bone mineral density, and fracture risk in early postmenopausal women. *Ann Med*. 2003;35: 282-8.2.
105. Riancho et al. Aromatasa gene and osteoporosis: relationship of ten polymorphic loci with bone mineral density. *Bone* 2005; 36:917-25.
106. Mendoza N, Morón F, Sáez M, Gonzalez-Pérez A, Ruiz A, Vázquez F, Quereda F et al. Weighting the effect of CYP 19<sup>a</sup> gene in bone mineral density of postmenopausal women. Letters to the editor. *Bone* 2006; 38:951-953.
107. González A, Ramírez-Lorca R, Calatayud C, Mendoza N, Ruiz A, Sáez ME, et al. Association of genetic markers within the BMP15 gene with anovulation and infertility in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2007.
108. Di Pasquale E, Rossetti R, Marozzi A, Bodega B, Borgato S, Cavallo L, et al. Identification of new variants of human BMP15 gene in a large cohort of women with premature ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:1976-9.
109. Laissue P, Christin-Maitre S, Touraine P, Kuttann F, Ritvos O, Aittomaki K, et al. Mutations and sequence variants in GDF9 and BMP15 in patients with premature ovarian failure. *Eur J Endocrinol*. 2006;154:739-44.
110. González A, Ramírez-Lorca R, Calatayud C, Mendoza N, Ruiz A, Sáez ME, Morón FJ. Association of genetic markers within the BMP15 gene with anovulation and infertility in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2008 Aug;90(2):447-9.
111. Morón FJ, Mendoza N, Vázquez F, Molero E, Quereda F, Salinas A, et al. Multilocus analysis of estrogen-related genes in Spanish postmenopausal women suggests an interactive role of ESR1, ESR2 and NRIP1 genes in the pathogenesis of osteoporosis. *Bone*. 2006;39:213-2.
112. Mendoza N, Morón FJ, Quereda F, Vázquez F, Rivero MC, Martínez-Astorquiza T, et al. A digenic combination of polymorphisms within ESR1 and ESR2 genes are associated with age at menarche in the Spanish population. *Reprod Sci*. 2008;15:305-11.
113. Morón FJ, Mendoza N, Quereda F, Vázquez F, Ramírez-Lorca R, Velasco J, et al. Pyrosequencing technology for automated detection of the BMP15 A180T variant in Spanish postmenopausal women. *Clin Chem*. 2007;53:1162-4.
114. Santalla Hernández A. Importancia del gen Bone Morphogenetic Protein 15 y otros genes pertenecientes a la ruta estrogenética en la osteoporosis postmenopáusica [ tesis doctoral] . Universidad de Granada. 2008.

115. Tebé C et al. Validación del modelo predictivo de fractura osteoporótica FRAX. Ministerio de ciencia y e innovación. Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. Barcelona: Agència d'Informació, Avaluació i Qualitat en Salut de Catalunya, 2011. 64 p; 24 cm. Informes, estudios e investigación. Informes de evaluación de tecnologías sanitarias. AATRM; 2010/01.
116. Grossman J et al. American College of Rheumatology 2010 recommendations for the prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Arthritis Care and Research* 15, Nov 2010, 62(11) :151-526.
117. Gómez Vaquero C, Roig Vilaseca D. ¿Qué es el FRAX? Pros y contras. *Semin Fund Esp Reumatol.*2010;11(3):100-106.
118. Ferrari S. Human Genetics of Osteoporosis. *Best Practise and Research Clinical and Metabolism.* 2008;22(5):723-735.
119. Agueda Calpena, L. Bases genéticas de la osteoporosis: estudio del gen LRP5 [tesis doctoral].Universidad de Barcelona. 2010
120. Rodriguez Esparragón F, Rodriguez Pérez JC, García Bello, MA. Guía práctica a los estudios de asociación genética. Consideraciones sobre su utilidad clínica. *Nefrología.* 2009;29(6):582-588.
121. Hsu Y and Kiel P. Genome –Wide Association Studies of skeletal Phenotypes: what we have learned and where we are headed. *J Clin Endocrinol Metab,* October 2012, 97(10):E1958-E1977.
122. Xing-Bo Mo et al. Gene-Based Association Analysis Identified Novel Genes Associated with Bone Mineral Density. *PLoS One.* 2015 Mar 26;10(3):e0121811.
123. Estrada et al. Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture. *Nat Genet.*;44(5): 491-501.
124. N. Mendoza, F. Quereda, J. Presa, A. Salamanca, R. Sánchez-Borrego, F. Vázquez, and T. Martínez Astorquiza. Estrogen-related genes and postmenopausal osteoporosis risk. *Climateric.* 2012 Dec 15(6):587-593.
125. Zofková I. Role of genetics in prediction of osteoporosis risk. *Vnitr Lek.* 2011 Jan;57(1): 78-84.



## **8. Anexo 1**

---





## MODELO DE CONSENTIMIENTO DEL PACIENTE PARA ESTUDIOS GENÉTICOS

**Título del estudio:** Osteoporosis en mujeres posmenopáusicas. Identificación de alelos de baja penetrancia en genes de reparación involucrados en procesos moleculares de envejecimiento y cáncer (BRCA 1, WRN, ABL y TP53)

**Promotor del estudio:** Neocodex SL

**Investigador responsable del estudio:** Francisco Quereda

1. Yo ..... declaro bajo mi responsabilidad que he leído la Hoja de Información sobre el estudio y acepto participar en este estudio genético.
2. Se me ha entregado una copia de la Hoja de Información al paciente. Se me han explicado las características y el objetivo del estudio genético y los posibles beneficios y riesgos que puedo esperar. Se me ha dado tiempo y oportunidad para realizar preguntas. Todas las preguntas fueron respondidas a mi entera satisfacción.
3. Sé que se mantendrá en secreto mi identidad y que se identificará mi sangre y mis muestras de ADN con un número codificado.
4. Soy libre de retirarme del estudio genético en cualquier momento por cualquier motivo, sin tener que dar explicación y sin que repercuta negativamente sobre mi tratamiento médico futuro. Tras ello se procederá a la destrucción de la muestra codificada. Si se hubiera retirado previamente el vínculo de identificación de la muestra, no se podrá relacionar conmigo, de forma que no se podrá destruir.
5. Entiendo que el objetivo del estudio genético es evaluar la población objeto del estudio y que los resultados del mismo no se comunicarán ni a mí ni a mi médico, excepto en el caso de que dichos hallazgos tengan una implicación significativa para la salud de los participantes y que exista una posibilidad real de mejorar esa condición de salud.

**Punto 1.-** Yo DOY  / No DOY  mi consentimiento voluntariamente para que se pueda realizar el estudio genético especificado en mi muestra de ADN

**Punto 2.-** Yo DOY  / No DOY  mi consentimiento voluntariamente para que se guarde mi muestra de ADN, con desvinculación de la identidad. Esto permitirá la realización de nuevas pruebas en el futuro cuando se tengan más conocimientos sobre los genes relacionados con la enfermedad "Osteoporosis".

**Punto 3.-** Yo DOY  / No DOY  mi consentimiento voluntariamente para que en mi muestra de ADN desvinculada se puedan realizar futuros estudios en otras enfermedades.

Consiento en participar voluntariamente en el apartado marcado de este estudio genético

Fecha ..... y Firma del paciente:.....

Constato que he explicado las características y el objetivo del estudio genético y sus 3 apartados y los riesgos y beneficios potenciales al sujeto cuyo nombre aparece escrito más arriba. El sujeto consiente en participar por medio de su firma fechada en persona.

Fecha ..... y Firma .....  
(médico/ investigador).

Nombre del Investigador o la persona designada de proporcionar la información

Versión: 2  
Fecha: 20 de enero de 2004

1(1)

## HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE PARA ESTUDIOS GENÉTICOS

---

**Proyecto de Investigación titulado:** *Osteoporosis en mujeres posmenopáusicas. Identificación de alelos de baja penetrancia en genes de reparación involucrados en procesos moleculares de envejecimiento y cáncer (BRCA 1, WRN, ABL y TP53)*

**Investigador principal** Dr. Francisco Quereda **Servicio** Ginecología y Obstetricia

**Promotor:** neoCodex SL

---

Se solicita su participación en este Proyecto de Investigación, cuyo objetivo principal pretende profundizar en el conocimiento de factores genéticos que puedan predisponer al desarrollo de "Osteoporosis", que repercuten en una disminución de la calidad de vida de las personas afectadas.

En este estudio participan los Servicios de Ginecología y Obstetricia del Hospital "Universitario San Juan de Alicante" y neoCodex S.L. Se estima que participen un total de 2.000 pacientes entre todos los Hospitales.

Es posible que de su participación en este estudio no obtenga un beneficio directo. Sin embargo la identificación de posibles factores genéticos relacionados con "Osteoporosis" podría beneficiar en un futuro a otros pacientes que la padecen y contribuir a un mejor conocimiento y tratamiento de esta enfermedad.

Su participación en el estudio es totalmente voluntaria y si usted decide no participar recibirá todos los cuidados médicos que Ud. precise y la relación con el Equipo Médico que le atiende no va a verse afectada.

Si usted decide participar, se le realizará una historia clínica y una exploración física detallada y se le extraerá una cantidad adicional de sangre de 15cc para obtener las muestras de ADN. El ADN es un elemento que está presente en todas sus células porque lo ha recibido de sus padres y lleva un código en forma de "genes" que determina sus características físicas personales como el color de ojos, de piel, etc. Las diferencias entre unas personas y otras nos pueden ayudar a explicar por qué algunas personas desarrollan unas enfermedades y otras no.

La toma de muestras de sangre puede provocar una sensación de ardor en el punto en el que se introduce la aguja en la piel y le puede ocasionar un pequeño hematoma o una leve infección, que desaparecen en pocos días. Más raramente mareo en el momento de la extracción de sangre.

Se le pedirá su consentimiento para que con su sangre se hagan 3 cosas:

- 1.- Que acepte que en el ADN de su sangre se estudien los genes especificados en el estudio de Osteoporosis que pueden estar involucrados en la enfermedad que Ud. padece.
- 2.- Es probable que en un futuro se descubran nuevos genes relacionados con "Osteoporosis" Por ello se le solicita que autorice al Investigador a almacenar su muestra para el estudio de otros genes que se puedan descubrir en el futuro. Si Ud. acepta autorizar este almacenamiento, se eliminarán de la muestra todos los vínculos con su identidad, antes de guardarla, y no será posible llegar a conocer su identidad a partir de ella. Esta muestra sólo se utilizará para estudiar genes importantes implicados en "Osteoporosis" No se realizarán otros estudios con ella.
- 3.- Usted puede también aceptar que en dicha muestra descodificada se realicen otros estudios genéticos de otras patologías diferentes.

---

Versión: 2  
Fecha: 20 de enero de 2004

1(2)

Ud. puede aceptar que sólo se estudien en su muestra de sangre los genes expresados en el punto 1.

Ud. puede aceptar las propuestas de los puntos 1 y 2.

Ud. puede aceptar todas las propuestas

Ud. puede decidir no aceptar ninguna

Si Ud. acepta sólo los estudios genéticos descritos en el punto 1, su muestra se destruirá después de completar la prueba.

Si Ud. acepta que se guarde esa muestra para futuros estudios como se describe en el punto 2, el Investigador garantizará que guardará y utilizará la muestra hasta que ya no quede más ADN. Una vez desvinculada la muestra no podrá ser destruida, pero no se podrá relacionar con usted.

Ud. debe otorgar su consentimiento informado por escrito, indicando qué parte del estudio genético acepta y firmando este documento, antes de extraerle la muestra de sangre para la obtención del ADN.

Si cambia de opinión después de dar sangre para el estudio genético, Ud. puede pedir que se destruya su muestra de ADN. No obstante, si ha aceptado que se guarde su muestra de ADN (punto 2), debe pedir que se destruya su muestra de sangre antes de que termine el estudio. Cuando finalice el estudio, se retirará el vínculo que liga a su muestra de ADN con su identificación personal. Una vez se haya destruido este vínculo, no será posible encontrar su muestra y por tanto no podrá ser destruida.

Al tratarse de un estudio genético, los datos que se obtengan del estudio no le serán comunicados ni a Ud. ni a su médico, excepto en el caso de que dichos hallazgos tengan una implicación significativa para la salud de los participantes y que exista una posibilidad real de mejorar esa condición de salud. Los resultados serán analizados por grupos de investigadores o de expertos. Se le garantiza la absoluta confidencialidad de los datos genéticos obtenidos del estudio.

Toda la información relacionada con el estudio es estrictamente confidencial. Cada una de las muestras del estudio recibirá un número y nunca el equipo investigador que lleve a cabo el análisis genético conocerá su identidad. Se le ha dicho a su médico que guarde esta Hoja de Información y la Hoja de su Consentimiento otorgado con su firma en un archivo especial seguro que no forma parte de su historia clínica. Su historia clínica no contiene ninguno de sus resultados genéticos. Con objeto de controlar y garantizar la correcta realización del estudio, de acuerdo con la normativa vigente, representantes del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital, de las Autoridades Sanitarias Españolas y del promotor del proyecto podrán tener acceso a sus registros médicos.

Con la firma del Consentimiento Informado usted da su aprobación para que estas personas puedan acceder a sus registros médicos, cumpliendo de forma estricta la normativa vigente para la protección de sus datos personales (Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal).

Los resultados del estudio podrán ser comunicados en reuniones científicas, Congresos Médicos o publicaciones científicas, pero siempre se mantendrá una estricta confidencialidad sobre la identidad de los pacientes.

Si Ud. precisa mayor información sobre este estudio puede contactar con el Investigador responsable, el Dr. Agustín Ruiz Laza, del Departamento de Genómica Estructural de neoCodex SL. Tel.: 955047618.



**Hoja de recogida de datos clínicos  
Osteoporosis**

**¡ATENCIÓN!**

1. Obtenga el consentimiento informado del entrevistado antes de proceder con este cuestionario
2. El investigador clínico debe firmar la última página de este documento

**Datos Generales**

1. Año de Nacimiento \_\_\_\_\_ 2. Género  varón  mujer  
 3. Talla \_\_\_\_\_ cm. 4. Peso \_\_\_\_\_ Kg.

**Hábitos**

**5. Dietéticos:**

¿En un día típico en cuántas comidas ingiere?:

Verduras: \_\_\_\_\_ Fruta: \_\_\_\_\_ Cereales: \_\_\_\_\_ Conservas: \_\_\_\_\_ Lácteos: \_\_\_\_\_

En una semana típica, cuántas veces come:

Carne Roja: \_\_\_\_\_ Pescado: \_\_\_\_\_

**6. ¿Ha fumado o FUMA?**

- Si  
 No (salte a 7)

6 a. Cigarrillos por día: \_\_\_\_\_/día  Cigarrillos  Pipa  
 Puros  Mascado  
 Otros (especif.) \_\_\_\_\_

6 b. Total de años de fumador/ a: \_\_\_\_\_

6 c. ¿Fuma actualmente?  Si  No 6 d. Desde hace cuántos años: \_\_\_\_\_

**7. ¿Consume alcohol?**

- Si  
 No

Promedio de Bebidas/ semana \_\_\_\_\_/semana

**8. Actividad física:**

- Sedentarismo
- Sólo el ejercicio propio de sus tareas domésticas
- Practica ejercicio físico (deporte) regularmente

8a. Nº días de la semana que practica deporte: \_\_\_\_\_ días

8b. Tipo de ejercicio físico que practica: \_\_\_\_\_



9. Cual es su ocupación actual: \_\_\_\_\_

**10. Lugar de nacimiento**

Ciudad/ Pueblo: \_\_\_\_\_ Provincia: \_\_\_\_\_ País: \_\_\_\_\_

**11. Dónde vive**

Ciudad/ Pueblo: \_\_\_\_\_ Provincia: \_\_\_\_\_ País: \_\_\_\_\_

¿Cuánto tiempo hace que vive aquí?: \_\_\_\_\_ años  menos de un año

**12. Lugar de nacimiento del padre**

Ciudad/ Pueblo: \_\_\_\_\_ Provincia: \_\_\_\_\_ País: \_\_\_\_\_

**13. Lugar de nacimiento de la madre**

Ciudad/ Pueblo: \_\_\_\_\_ Provincia: \_\_\_\_\_ País: \_\_\_\_\_

**Antecedentes personales y familiares**

**14. Fondo genético y étnico (ponga un cruz donde corresponda)**

Fondo genético	Paciente incluido	Padre	Madre	Abuelo Paterno	Abuela Paterna	Abuelo Materno	Abuela Materna
Blanco							
Raza negra							
Raza gitana							
Asiático							
Sudamericano							
Magreb							
No sabe							
Otra (especificar)*							



**Antecedentes personales y familiares**

**15. Cáncer**

15 a. ¿Has padecido tú o alguien de tu familia un cáncer (incluyendo hermanos, padres o abuelos)?

Si   
No

15b. Indique qué tipo de tumores aparecieron en su familia (marcar una cruz donde corresponda)

Tumor	Paciente incluido	Padre	Madre	Hermano	Hermana	Abuelo paterno	Abuela paterna	Abuelo materno	Abuela materna
Mama									
Próstata									
Pulmón									
Colon									
Ovario									
Melanoma									
SNC									
Linfomas									
Leucemias									
Cab/ Cuello									
Riñón									
Cervical									
Otros GI									
Otros *									

\*especificar otros tumores en las celdas vacías  
Otros antecedentes



**Antecedentes personales y familiares**

**16. Indique otras enfermedades que se diagnosticaron en el paciente o en su familia**  
(marcar una cruz donde corresponda)

Enfermedad	Paciente incluido	Padre	Madre	Hermano	Hermana	Abuelo paterno	Abuela paterna	Abuelo materno	Abuela materna
Corazón									
Colesterol elevado									
HTA									
ACV									
Diabetes I									
Diabetes II									
Artritis									
Obesidad									
Asma									
Enfisema									
Osteoporosis									
Alcoholismo									
Demencia Senil									
Otras neurológicas									
Esquizofrenia									
Trastornos bipolares									
Otras enf. psiquiátricas									

\*especificar otras enfermedades en las celdas vacías

**17. Medicación que recibe el paciente**

- |                   |                        |
|-------------------|------------------------|
| a. Fármaco: _____ | Año de comienzo: _____ |
| b. Fármaco: _____ | Año de comienzo: _____ |
| c. Fármaco: _____ | Año de comienzo: _____ |
| d. Fármaco: _____ | Año de comienzo: _____ |
| e. Fármaco: _____ | Año de comienzo: _____ |
| f. Fármaco: _____ | Año de comienzo: _____ |
| g. Fármaco: _____ | Año de comienzo: _____ |
| h. Fármaco: _____ | Año de comienzo: _____ |
| i. Fármaco: _____ | Año de comienzo: _____ |

**18. Datos sobre automedicación (aspirina, ibuprofeno, tylenol, etc.)**



**19. Datos sobre suplementos dietéticos (DEA, vitaminas, condroitina, ginseng, etc.)**

Empty box for recording dietary supplement data.

**20. Reacciones adversas en el paciente**

¿Aparecieron reacciones adversas para algún medicamento que obligaran a la interrupción del tratamiento?

Si   
No

Especificar fármaco y reacción: \_\_\_\_\_

**21. Antecedentes Quirúrgicos:**

No

Si  (especificar): \_\_\_\_\_

**22. Antecedentes ginecológicos**

22a. Edad de la menarquia: \_\_\_\_\_ años

22b. Paridad (embarazos/ abortos/ pre-término/ fetos vivos): \_\_\_\_\_

22c. Edad de la menopausia: \_\_\_\_\_ años

22d. Causa de la menopausia:

- Natural.....
- Provocada por patología benigna...
- Provocada por patología maligna...

22e. Sintomatología menopáusica pasada:

No

Si

- Vasomotora.....
- Sexual.....
- Psíquica.....
- Dolor osteoarticular.....

22f. Patología ginecológica o mamaria benigna previa:

No

Si  (especificar): \_\_\_\_\_

**23. Examen ginecológico**

Normal

Anormal  (especificar) \_\_\_\_\_

**24. Tipo de distribución grasa:**

- Ninguna en especial.....
- Ginecoide.....
- Androide.....



**25. Sintomatología menopáusica actual:**

- No   
 Si  • Vasomotora.....   
 • Sexual.....   
 • Psíquica.....   
 • Dolores osteoarticulares.....

**26. Estado óseo actual (densitometría y tratamiento)**

- 26a. Fecha: \_\_\_\_\_  
 26b. Modelo de densitómetro: \_\_\_\_\_  
 26c. Hueso esponjoso (vertebral de L2 a L4): DMO total (g/cm2): \_\_\_\_\_ Tscore: \_\_\_\_\_  
 26d. Hueso cortical (Cuello de fémur): DMO total (g/cm2): \_\_\_\_\_ Tscore: \_\_\_\_\_  
 26e. Tratamiento antirresortivo Si  No   
 26f. Tipo de tratamiento: \_\_\_\_\_  
 26g. Tiempo de tratamiento: \_\_\_\_\_  
 26h. Respuesta al tratamiento: Si  No  Moderada   
 26i. Registro de efectos adversos: \_\_\_\_\_

**27. ¿Existen valores densitométricos previos y/o tratamientos antirresortivos previos?**

- Si   
 No

**28. Densitometría anterior 1**

- 28a. Fecha: \_\_\_\_\_  
 28b. Modelo de densitómetro: \_\_\_\_\_  
 28c. Hueso esponjoso (vertebral de L2 a L4): DMO total (g/cm2): \_\_\_\_\_ Tscore: \_\_\_\_\_  
 28d. Hueso cortical (Cuello de fémur): DMO total (g/cm2): \_\_\_\_\_ Tscore: \_\_\_\_\_  
 28e. Tratamiento antirresortivo Si  No   
 28f. Tipo de tratamiento: \_\_\_\_\_  
 28g. Tiempo de tratamiento: \_\_\_\_\_  
 28h. Respuesta al tratamiento: Si  No  Moderada   
 28i. Registro de efectos adversos: \_\_\_\_\_

**29. Densitometría anterior 2**

- 29a. Fecha: \_\_\_\_\_  
 29b. Modelo de densitómetro: \_\_\_\_\_  
 29c. Hueso esponjoso (vertebral de L2 a L4): DMO total (g/cm2): \_\_\_\_\_ Tscore: \_\_\_\_\_  
 29d. Hueso cortical (Cuello de fémur): DMO total (g/cm2): \_\_\_\_\_ Tscore: \_\_\_\_\_  
 29e. Tratamiento antirresortivo Si  No   
 29f. Tipo de tratamiento: \_\_\_\_\_  
 29g. Tiempo de tratamiento: \_\_\_\_\_  
 29h. Respuesta al tratamiento: Si  No  Moderada   
 29i. Registro de efectos adversos: \_\_\_\_\_



**30. Densitometría anterior 3**

- 30a. Fecha: \_\_\_\_\_  
 30b. Modelo de densitómetro: \_\_\_\_\_  
 30c. Hueso esponjoso (vertebral de L2 a L4): DMO total (g/cm<sup>2</sup>): \_\_\_\_\_ Tscore: \_\_\_\_\_  
 30d. Hueso cortical (Cuello de fémur): DMO total (g/cm<sup>2</sup>): \_\_\_\_\_ Tscore: \_\_\_\_\_  
 30e. Tratamiento antirresortivo Si  No   
 30f. Tipo de tratamiento: \_\_\_\_\_  
 30g. Tiempo de tratamiento: \_\_\_\_\_  
 30h. Respuesta al tratamiento: Si  No  Moderada   
 30i. Registro de efectos adversos: \_\_\_\_\_

**31. Fecha de la última visita:** \_\_\_\_\_

**32. Notas adicionales**

- 33. Seguimiento completado:** Si   
 No

Confirmo la veracidad de los datos recogidos en este cuaderno:

Firma del investigador: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

