

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN



**POLIMORFISMOS rs3801387 DEL GEN *WNT16* Y rs7108738 DEL GEN
SOX6 Y SU RELACIÓN CON OSTEOPENIA/OSTEOPOROSIS EN MUJERES
POSTMENOPÁUSICAS DEL NORTE DE MÉXICO**

Por

LN DAMARIS GABRIELA BUSTAMANTE MARTÍNEZ

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

Noviembre, 2020

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN



**POLIMORFISMOS rs3801387 DEL GEN *WNT16* Y rs7108738 DEL GEN
SOX6 Y SU RELACIÓN CON OSTEOPENIA/OSTEOPOROSIS EN MUJERES
POSTMENOPÁUSICAS DEL NORTE DE MÉXICO**

Por

LN DAMARIS GABRIELA BUSTAMANTE MARTÍNEZ

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

N o v i e m b r e, 2 0 2 0

Dra. Blanca Edelia González Martínez
Subdirectora de Investigación, Innovación y Posgrado
Facultad de Salud Pública y Nutrición
Universidad Autónoma de Nuevo León

PRESENTE


Por este conducto le comunicamos que hemos concluido la dirección y codirección de la tesis titulada "POLIMORFISMOS rs3801387 DEL GEN *WNT16* Y rs7108738 DEL GEN *SOX6* Y SU RELACIÓN CON OSTEOPENIA/OSTEOPOROSIS EN MUJERES POSTMENOPÁUSICAS DEL NORTE DE MÉXICO ", presentada por la L. N. Damaris Gabriela Bustamante Martínez con la finalidad de obtener su grado de Maestría en Ciencias en Nutrición.

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo

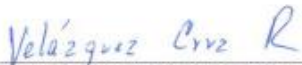
Atentamente

"Alere Flammam Veritatis"

Monterrey, Nuevo León, a 19 de octubre de 2020



Dr. Zacarías Jiménez Salas
Director de tesis



Dr. Rafael Velázquez Cruz
Codirector de tesis

COMITÉ DE EVALUACIÓN DE TESIS

“Polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* y su relación con osteopenia/osteoporosis en mujeres postmenopáusicas del Norte de México”

Aprobación de la tesis

Dra. Esther Alhelí Hernández Tobías

Presidente

Dr. Zacarias Jiménez Salas

Secretario

Dr. Rafael Velázquez Cruz

Vocal

Dra. Blanca Edelia González

Subdirectora de estudios de posgrado

DRA. EN C. BLANCA EDELIA GONZÁLEZ MARTÍNEZ
Subdirectora de Investigación, Innovación y Posgrado
Facultad de Salud Pública y Nutrición
Presente. –

Estimada Dra. González Martínez

Nos permitimos comunicarle que se han atendido las recomendaciones realizadas por el comité evaluador a la tesis titulada **"POLIMORFISMOS rs3801387 DEL GEN WNT16 Y rs7108738 DEL GEN SOX6 Y SU RELACIÓN CON OSTEOPENIA/OSTEOPOROSIS EN MUJERES POSTMENOPÁUSICAS DEL NORTE DE MÉXICO"** presentada por la **LN DAMARIS GABRIELA BUSTAMANTE MARTÍNEZ** como requisito para continuar con el proceso de titulación de la Maestría en Ciencias en Nutrición.

Sin otro asunto por el momento, quedamos a sus órdenes dejándole un afectuoso y cordial saludo.

Atentamente

"Alere Flammam Veritatis"

Monterrey, Nuevo León, 5 de noviembre de 2020


Dr. en C. Zacarías Jiménez Salas
Director de Tesis


Dr. en C. Rafael Velázquez Cruz
Co-director de Tesis

FINANCIAMIENTO

El trabajo realizado en esta tesis contó con financiamiento parcial del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT): INFR-2016-01-270405, del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN): proyecto 399-07/2019/I y del Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica (PAICYT): SA1517-20.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por permitirme cumplir todos los deseos de mi corazón, este logro es uno de ellos.

A mis padres Olga Isabel Martínez Hernández y Jesus Bustamante Martínez, por su apoyo incondicional durante toda mi vida y en este paso tan importante, un reto más como familia, superado.

A mis hermanas Jessica Bustamante y Aurora Mancilla por su paciencia durante este periodo y por seguirme amando.

A mi prometido el Ing. Juan Manuel Jiménez López, por su incondicional amor y apoyo durante toda mi formación profesional.

Al Dr. Zacarías Jiménez Salas por su confianza en mí persona, por su invaluable apoyo como director de tesis y consejero desde siempre.

Al Dr. Rafael Velázquez Cruz por sus atenciones durante la estancia en INMEGEN y aun estando lejos, siempre pendiente de sus estudiantes y por el privilegio de trabajar con él y sus colaboradores en su gran laboratorio.

Al Dr. Eduardo Campos Góngora por siempre ser amigo, maestro y mentor; él culpable de mi amor por la ciencia y quién me dio la oportunidad de adquirir habilidades y el aprendizaje de diversas técnicas en su laboratorio durante 4 años.

Al Dr. Erik Ramírez por sus enseñanzas profesionales y personales, por su gran apoyo y confianza en la realización de la fase de reclutamiento y las tardes de largas pláticas.

A la Dra. Berenice Rivera Paredez, por ser amiga, maestra y acompañante durante todo el proceso de análisis de resultados.

A Jenni Flores del INMEGEN por compartir sus conocimientos y habilidades, hacer amenas las largas tardes de trabajo y por sus atenciones.

Al Dr. Erick Ramírez de INMEGEN por compartirme sus sueños, conocimientos y ayudarme a mejorar mis áreas de oportunidad.

A la Dra. Alexandra por ser mi tutora, amiga y maestra. Gracias por saberme escuchar, comprender y estar en las situaciones difíciles que se presentaron.

A las participantes del reclutamiento, todas y cada una de ellas dejaron una huella en mi vida, un aprendizaje especial que cada día me hacía demostrar lo mejor de mí, mi lado más sensible y el más paciente; sin ustedes este estudio no sería posible, gracias por su invaluable participación, interesarse en su salud y contribuir al avance científico para nuestro país.

A mis compañeras y amigas de laboratorio; Rosy Pizaña y Karla Narce por su apoyo durante la etapa de reclutamiento.

DEDICATORIA

A Dios nuestro Señor

por darme la fuerza, salud y
sabiduría para obtener este grado

A mis padres

Jesus Bustamante Martínez
y Olga Isabel Martínez Hernández

por su infinito amor

Contenido

RESUMEN.....	15
1. INTRODUCCIÓN.....	17
1.2 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....	19
2. ANTECEDENTES.....	22
2.1 Tejido óseo y sus funciones	22
2.1.1 Células óseas.....	23
2.1.2 Células condrogénicas	25
2.1.3 Cartílago hialino	25
2.1.4 Resorción ósea	26
2.1.5 Fases del remodelado óseo:	27
2.2 Densidad mineral ósea.....	28
2.2.1 Postmenopausia en relación con la densidad mineral ósea	28
2.2.2 Osteopenia y osteoporosis	29
2.2.3 Tipos de osteoporosis	29
2.2.4. Epidemiología de la osteoporosis.....	30
2.2.5. Factores de riesgo relacionados a osteoporosis	31
2.2.6. Diagnóstico de osteopenia/osteoporosis.....	32
2.3. Genética y osteoporosis	33
2.3.1. Polimorfismos y su análisis	34
2.3.1. Participación de WNT16 en células óseas	38
2.3.2. Regulación del metabolismo óseo por vía de señalización WNT..	40
2.3.3. Participación del gen SOX6 y DMO.	42
2.3.4. Regulación del metabolismo óseo por vías de señalización SOX.	43
3. JUSTIFICACIÓN.....	45

4.	HIPÓTESIS.....	46
5.	OBJETIVOS.....	46
5.1.	Objetivo general.....	46
5.2.	Objetivos específicos.....	46
6.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	48
6.1.	Diseño del estudio.....	48
6.2.	Estrategia general.....	49
6.3.	Obtención de la información.....	50
6.4.	Instrumentos de medición.....	50
6.5.	Medición de la densidad mineral ósea.....	50
6.6.	Genotipificación de los polimorfismos en genes candidatos.....	55
6.7.	Frecuencias alélicas y genotípicas.....	60
6.8.	Equilibrio de Hardy-Weinberg.....	63
6.9.	Codificación de variables y modelos de herencia.....	63
6.10.	Análisis y pruebas estadísticas.....	63
7.	CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	64
8.	IMPLICACIONES Y MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD.....	65
9.	RESULTADOS.....	66
10.	DISCUSION.....	75
11.	CONCLUSIONES.....	86
12.	REFERENCIAS.....	87
	ANEXOS.....	99
	ANEXO 1.....	100
	ANEXO 2.....	105

No. de tabla	Lista de tablas	Página
I	Clasificación del T-score de la DMO.....	33
II	Polimorfismos genéticos asociados en diferentes regiones óseas en MPP.....	36
III	Información de los SNPs analizados.....	55
IV	Sondas Taqman® para los SNPs.....	57
V	Máster mix para PCR-TR.....	59
VI	Material y equipo necesario para realizar la PCR-TR.....	59
VII	Condiciones de temperatura del termociclador.....	60
VIII	Características generales de la población estudiada	66
IX	Características generales de la población por grupos.....	67
X	Frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos rs3801387 del gen <i>WNT16</i> y rs7108738 del gen <i>SOX6</i>	68
XI	Frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos rs3801387 del gen <i>WNT16</i> y rs7108738 del gen <i>SOX6</i> por grupos.....	69
XII	Asociación del polimorfismo rs3801387 del gen <i>WNT16</i> en MPP del Norte de México.....	71
XIII	Asociación del polimorfismo rs7108738 del gen <i>SOX6</i> en MPP del Norte de México.....	72
XIV	Asociación del rs3801387 del gen <i>WNT16</i> con susceptibilidad a OPE/OP.....	73
XV	Asociación del rs7108738 del gen <i>SOX6</i> con susceptibilidad a OPE/OP.....	74
XVI	Densidad mineral ósea en diferentes poblaciones de MPP.....	79
XVII	Comparación de frecuencias genotípicas del rs3801387 del gen <i>WNT16</i>	81
XVIII	Comparación de frecuencias genotípicas del rs7108738 del gen <i>SOX6</i>	81

No. de figura	Lista de figuras	Página
1	Anatomía del hueso.....	23
2	Remodelado óseo y tipos de células.....	24
3	Fracturas estimadas para hombres y mujeres mexicanos	31
4	Genes candidatos asociados a la DMO en diversas poblaciones.....	38
5	Vía <i>WNT16</i>	41
6	Vía <i>SOX6</i> en condrogénesis.....	44
7	Estrategia general de trabajo.....	49
8	Representación de la técnica PCR-tiempo real con Sondas Taqman®.....	58
9	Grafica de amplificación y discriminación del rs3801387 del <i>WNT16</i>	61
10	Grafica de amplificación y discriminación del 7108738 del <i>SOX6</i>	62

NOMENCLATURA

OPE	Osteopenia
OP	Osteoporosis
BMP	Proteína morfogenética ósea
CBP	proteína de unión a CREB
CINSP	Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública
CMM	Células madre mesenquimales
Col2a1	Colágeno
DE	Desviación estándar
Dlx5	Homebox Distal-less 5
DMO	Densidad mineral ósea
FGF	Factor de crecimiento transformante
IGF I y II	Factor análogo a la insulina
OMS	Organización Mundial de la Salud
Osx	Osterix
PDGF	Factor de crecimiento derivado de las plaquetas
SRX	Sex determinate region of chromosome Y
TGF- β	Factor transformante del crecimiento β
<i>WNT</i>	Wingless type
MPP	Mujeres postmenopáusicas
PCR-RT	Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real
VDR	Receptor de vitamina D
<i>WNT3</i>	Wingless type Member 3
<i>LRP4</i>	Receptor Related Protein 4
<i>LRP6</i>	Receptor Related Protein 6
<i>DKK2</i>	Dickkopf WNT Signaling Pathway Inhibitor 2)
ADN	Ácido desoxirribonucleico

RESUMEN

La osteopenia (OPE) es una afección donde la densidad mineral ósea (DMO) es más baja de lo normal y conlleva a padecer osteoporosis (OP) en la cual, los huesos se vuelven porosos y frágiles incrementando el riesgo de sufrir fracturas.

Objetivo: Evaluar la asociación de los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* con el fenotipo osteopenia/osteoporosis en mujeres postmenopáusicas del Norte de México.

Métodos: A 256 MPP se les realizó una absorciometría dual de rayos X (DXA) para determinar la DMO en dual de fémur (DMOdf). Se extrajo ADN para determinar los genotipos de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs). Los datos obtenidos se analizaron mediante regresión lineal simple y Chi cuadrada.

Resultados: La mediana de la DMOdf para el grupo normal fue de 1.000 g/cm² y para el grupo OPE/OP de 0.820 g/cm². El alelo de menor frecuencia (MAF) para el rs3801387 fue el G (25.0%) para el grupo OPE/OP. El rs7108738 del gen *SOX6* el MAF en grupo OPE/OP fue de 22.0%. Se encontraron asociaciones significativas con las regiones de dual de fémur, triángulo de Wards y columna.

Conclusión: Los SNPs que se analizaron pueden ser marcadores de una DMO baja, pero no de un aumento al riesgo de padecer OPE/OP al tener los alelos de riesgo. Se debe seguir investigando la asociación de los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* en MPP del Norte de México.

ABSTRACT

Osteopenia (OPE) is the condition in which bone mineral density (BMD) is lower than normal and leads to osteoporosis (OP) a condition where the bones become porous and brittle, increasing the risk of fracture.

Objective: To identify the OPE/OP phenotype, genotypic and allelic frequencies and to evaluate the association of the rs3801387 polymorphisms of the *WNT16* gene and rs7108738 of the *SOX6* gene and the mineral density of different bone regions in postmenopausal women (MPP) with and without osteopenia/osteoporosis from Northern Mexico.

Methods: 256 MPP underwent dual X-ray absorptiometry (DXA) to determine BMD in dual of femur (DMOdf). DNA was extracted to determine the genotypes of the SNPs. The data obtained was analyzed using simple linear regression and chi square.

Results: The median BMDdf for the BMD group without OPE/OP was 1.000 g/cm² and for the OPE/OP group it was 0.820000 g/cm². The minor allele of frequencies (MAF) for rs3801387 was G (25.0%) for the OPE/OP group. The rs7108738 of the *SOX6* gene the MAF in the OPE/OP group was 22.0%. Significant associations were found with the dual regions of the femur, Wards triangle and column.

Conclusion: The single nucleotide polymorphisms that were analyzed may be markers of low BMD, but not of an increased risk of OPE / OP by having these risk alleles. The association of polymorphisms rs3801387 of the *WNT16* gene and rs7108738 of the *SOX6* gene in MPP from Northern Mexico should continue to be investigated.

1. INTRODUCCIÓN

La osteopenia (OPE) es la afección por la que la densidad mineral ósea es inferior a una desviación estándar, y que puede conducir a osteoporosis (OP); en esta última, se presenta una reducción en la densidad y calidad del hueso, por lo que se vuelven porosos y frágiles incrementando el riesgo de sufrir una fractura (IOF, 2017). Se estima que para el año 2050 se registren 155,874 casos de fractura de cadera en México (Clark et al., 2013). La OP se considera un importante problema de salud pública por los eventos de fracturas y el deterioro de la calidad de vida (Clark et al., 2019). Después de la menopausia es común la pérdida de la densidad ósea en las mujeres, debido a la disminución de la producción de estrógenos ováricos (17-B-estradiol) (NOM-035-SSA2-2012). La postmenopausia es la etapa iniciada a partir del último periodo menstrual, ya sea por menopausia natural o inducida (NOM-035-SSA2-2012). La prevalencia de OP y fracturas aumenta con la edad: 20% en población de 50-59 años; 46% en población de 60-69 años; 59% en población de 70-79 años y 69% en población >80 años. Las fracturas vertebrales y de cadera ejercen una mayor influencia sobre las tasas de mortalidad y un importante impacto económico al país (Clark et al., 2019).

Las medidas preventivas para alcanzar una densidad mineral ósea (DMO) ideal en la juventud, así como el estudio genético que permita identificar las variantes polimórficas de riesgo, deben ser consideradas como prioridad en la población mexicana (Moreno-Estrada et al., 2014). La evidencia actual ha revelado que la DMO tiene una heredabilidad del 45 al 78%, según la población estudiada, la región anatómica y la edad. Los estudios de asociación se realizan para identificar los principales genes que contribuyen al fenotipo OPE/OP (Hidalgo-Bravo et al., 2019). Así mismo, en un estudio GWAS realizado en población mestizo-mexicana, los SNPs rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* se asociaron con regiones de cuello femoral y espina lumbar (Villalobos-Comparán et al., 2017).

En el presente estudio el objetivo fue analizar la asociación de los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* y el fenotipo OPE/OP en mujeres postmenopáusicas del Norte de México.

1.2 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La osteoporosis es una enfermedad esquelética, que se caracteriza por una baja masa ósea y su pérdida de forma crónica y progresiva; provocando el deterioro micro arquitectónico del hueso y aumento del riesgo de fractura (Clark et al., 2016).

A nivel mundial, la OP se considera un problema de salud pública y una epidemia creciente en mujeres mayores de 50 años, de las cuales 1 de cada 3 sufrirá una fractura ocasionada por el deterioro óseo. Las mujeres que se ubican en esta edad corresponden a mujeres que tienen una última menstruación y se identifica después de transcurridos doce meses de amenorrea. En las mujeres mexicanas la menopausia ocurre en promedio entre los 47 y 49 años, siendo precedida por un periodo de duración variable durante el cual pueden presentarse los síntomas y signos característicos del síndrome climatérico. Las enfermedades crónicas degenerativas inciden con más frecuencia durante las etapas de la perimenopausia y la postmenopausia, originando deterioro de la calidad de vida e incremento de la morbilidad y mortalidad, por lo tanto, la postmenopausia es el periodo comprendido a partir de la menopausia y hasta que ocurra la muerte (NOM-035-SSA2-2012).

Se estima que para el año 2050, en América latina las cifras de los casos de OP serán más del doble de los actuales, mientras que en México el 10% de los casi 100 millones de habitantes son personas mayores de 60 años, lo que predice el aumento en la demanda de atención por OP. Por ende, una de cada 12 mujeres sufrirá fractura de cadera y estará en riesgo de una segunda fractura (Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI], 2017). Además, las personas que tienen OP son quienes tienen mayor probabilidad de sufrir fracturas, pero ocurren más fracturas en pacientes con OPE debido a que hay mayor número de casos en esta categoría (Yu et al., 2018).

Estas alteraciones óseas implican un proceso prevenible y tratable, pero la falta de signos de alerta previos a la aparición de fracturas conlleva a la deficiencia de

un diagnóstico en fases tempranas y un tratamiento de forma efectiva (Muñoz-Torres et al., 2010).

Las fracturas ocasionadas por el fenotipo OPE/OP atraen consecuencias médicas, sociales y económicas que tienen gran impacto en la calidad de vida y dependencia de quien la padece (National Clinical Guideline Centre [NCGC], 2012).

Conforme la densidad ósea disminuye e incrementa la edad, se aumenta el riesgo a sufrir una fractura por fragilidad ósea. Otros factores que promueven el deterioro óseo son: el uso de glucocorticoides orales o sistémicos, género femenino, fracturas previas a la fragilidad, los antecedentes familiares de osteoporosis, una dieta deficiente de alimentos ricos en vitamina D y calcio (Fengbin et al., 2013).

Los genes también juegan un papel primordial en el mantenimiento de la DMO. En estudios del genoma completo (GWAS por sus siglas en inglés) (figura 1) realizados en Estados Unidos, Corea y Europa se han identificado genes candidatos como *WNT16* y *SOX6* que se han asociado con la DMO en adultos. Ya que algunos polimorfismos de estos genes se han podido asociar a una baja DMO, se les considera un factor de riesgo para OPE/OP en poblaciones de Norte América, el norte de Asia, Europa, Australia, población mestizo-mexicana en MPP (Rivadeneira et al., 2009).

Un ejemplo de estas asociaciones son los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* que se han visto asociados en MPP en población de Corea y del norte de Europa, respectivamente. Dichos estudios revelaron que las mujeres tenían mayor riesgo a sufrir fractura de cuello femoral y cadera, debido a la DMO disminuida (Beom et al., 2012).

En México, se han identificado genes como el *VDR*, *WNT3*, *LRP4*, *LRP5* y *LRP6*, *DKK2*, entre otros, que se relacionan con variaciones de la DMO y pudiesen ser considerados marcadores genéticos de riesgo para la ocurrencia de OPE/OP. La identificación de estos marcadores genéticos se considera importante ya que

podrán ser utilizados como predictores de riesgo para la ocurrencia de fracturas. El conocer estos marcadores permitiría prevenir estos eventos a través de la modificación del estilo de vida. Por lo tanto, los datos recolectados en este trabajo serán de utilidad para analizar si los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* en mujeres postmenopáusicas del Norte de México, podrían ser utilizados como marcadores genéticos para predecir y prevenir la OPE/OP.

Por lo anterior cabe preguntarse:

¿Los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* se asocian con el fenotipo de OPE/OP en mujeres postmenopáusicas del Norte de México?

2. ANTECEDENTES

2.1 Tejido óseo y sus funciones

El tejido óseo es un tejido vivo complejo y dinámico que constantemente se encuentra en remodelación; esto significa que el hueso continuamente está en formación y al mismo tiempo en destrucción el ya existente. Es un tejido conectivo especializado, caracterizado por la presencia de una matriz de consistencia dura debido a su estado de calcificación. Sus funciones principales son proporcionar un soporte estructural al cuerpo, proteger a las estructuras vitales, crear un sitio de almacenamiento para el calcio y alojar a la médula ósea (cavidad medular) (Sepúlveda, 2012).

El hueso no es completamente sólido, contiene espacios entre las células y los componentes de la matriz osteoide. Dichos espacios funcionan como conductos para los vasos sanguíneos que proporcionan nutrientes a las células óseas, mientras que otros sirven como sitios de almacenamiento de la médula ósea roja. Además, en función del tamaño y la distribución de los espacios del esqueleto, las regiones del hueso se pueden clasificar como esponjosas o compactas (figura 1), y en función del grado de compactación, aproximadamente el 80% del hueso es compacto y el 20% es esponjoso (Tortora et al., 2013).

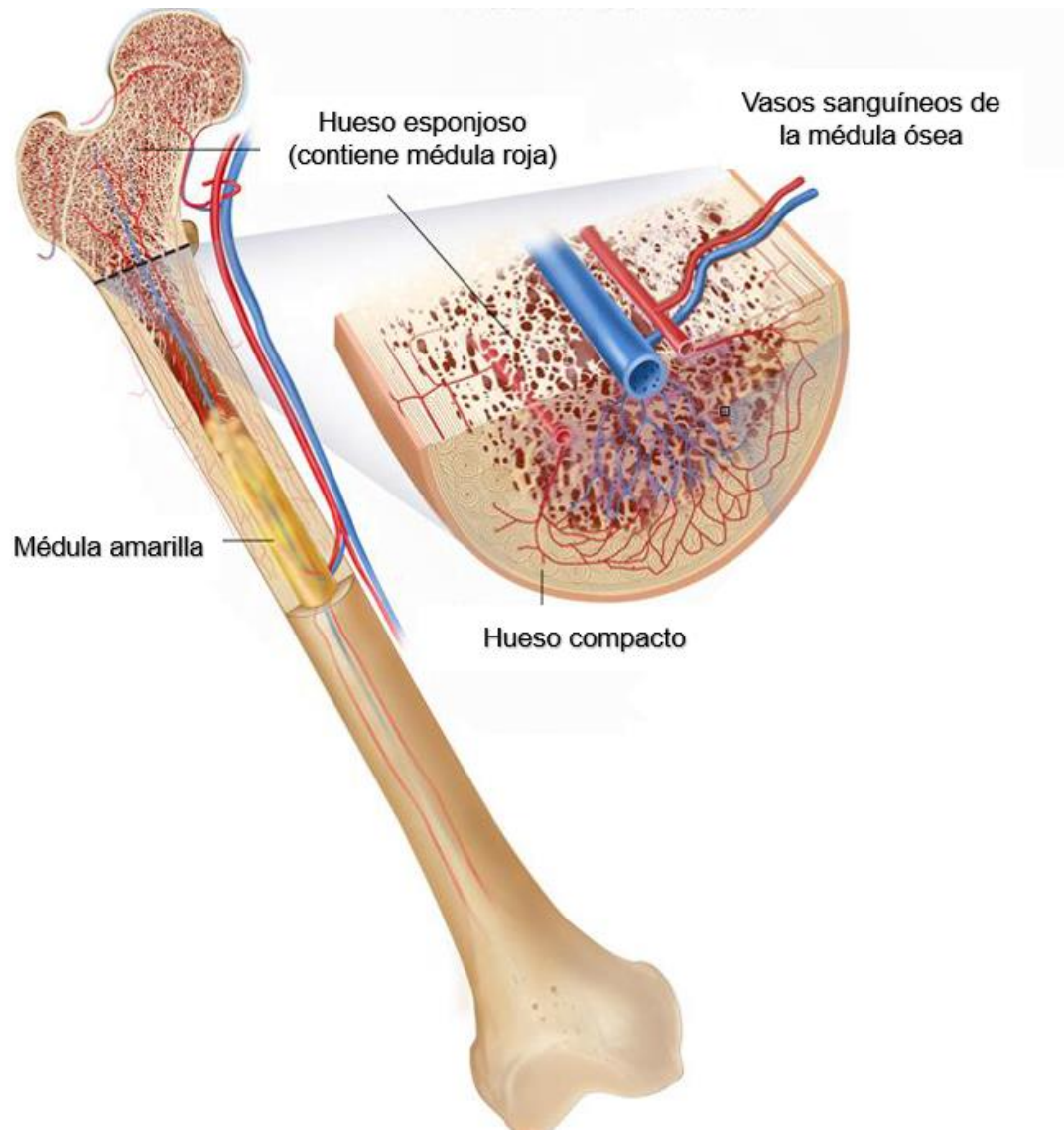


Figura 1. Anatomía del hueso (NIH, 2014)

2.1.1 Células óseas

El tejido óseo comprende distintos tipos de células especializadas, que se hallan dentro del propio tejido óseo o en el estroma conjuntivo de la médula ósea y es rico en células mesenquimales (CM) pluripotenciales indiferenciadas (Fernández, I., Hernández, G., Alobera, G., Canto, M., Blanco, L., 2006). Presenta varios tipos de células denominadas osteogénicas (figura 2). Éstas son las únicas células óseas que experimentan división celular formando “osteoblastos”; son células

formadoras de hueso, que sintetizan y secretan fibras colágenas y otros componentes orgánicos, indispensables para la construcción de matriz osteoide e iniciación de la calcificación; se rodean de matriz osteoide y al quedar atrapadas en sus secreciones se convierten en “osteocitos”, los cuales son células óseas maduras y principales del hueso, para el mantenimiento de su metabolismo, el cual se regula a través del intercambio de nutrientes y productos metabólicos en sangre (Tortora et al., 2013).

Los osteoclastos son células gigantes derivadas de la fusión de por lo menos 50 monocitos, se adhieren a la superficie ósea, reabsorben el hueso y liberan factores de acoplamiento que estimulan la diferenciación de los osteoblastos en la superficie del endostio. En la cara proximal a la superficie ósea, la membrana plasmática del osteoclasto se pliega profundamente y forma un borde indentado. En este sitio, los osteoclastos liberan enzimas lisosómicas y ácidos que digieren los componentes minerales y proteicos de la matriz osteoide subyacente. A dicha descomposición se le denomina resorción, producen factores de acoplamiento que estimulan la remodelación en las superficies trabeculares (Sims et al., 2014).

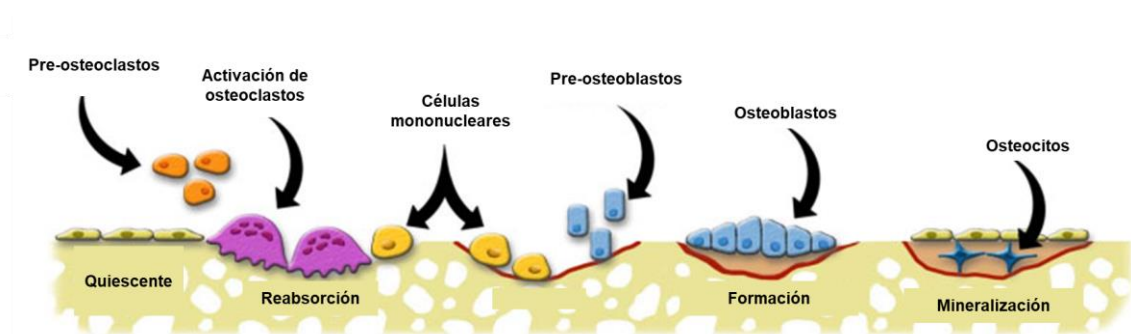


Figura 2. Remodelado óseo y tipos de células (Orthopaedics One, 2011).

2.1.2 Células condrogénicas

El cartílago es un tipo de tejido conectivo especializado de origen mesenquimatoso, carece de vasos sanguíneos y nervios (excepto el cartílago articular). Funciona para absorber el impacto mecánico, permite el movimiento de la articulación, proporcionar soporte estructural y la conexión entre tejidos blandos y duros (Kuo, C., Tuan, R & Li, W., 2013).

Las células condrogénicas se derivan de las células del cartílago que como producto de su diferenciación forman los condroblastos que, a su vez, al diferenciarse se convierten a condrocitos. Los condrocitos sufrirán una o dos divisiones mitóticas para terminar organizados en pequeños grupos atrapados en lagunas denominados grupos isógenos. Posteriormente, se continúa con la producción de una matriz cartilaginosa de glucosaminoglucanos, altamente sulfatados que recibe el nombre de “matriz territorial” encargada del crecimiento intersticial del cartílago (Sepulveda, 2012).

La formación ósea se lleva a cabo por dos procesos, el primero es la osificación intramembranosa, donde las células madre mesenquimales se diferencian directamente a osteoblastos y posteriormente ocurre la osificación endocondral, que comienza con la condensación de las células mesenquimales que pasan a diferenciarse en condrocitos para formar una plantilla de cartílago la cual será remplazada más tarde por minerales óseos (Li et al., 2016).

2.1.3 Cartílago hialino

El cartílago hialino es el más abundante en el adulto, recubre las superficies articulares de los huesos largos y forma el tabique nasal, laringe, tráquea, bronquios, extremos ventrales de las costillas y la placa epifisaria de los huesos en crecimiento en donde forma el cartílago de crecimiento. Su principal función es resistir fuerzas de comprensión y amortiguación, además de proveer una superficie lisa y de baja fricción para las articulaciones, soporte de las vías

respiratorias y ser un molde para la formación del esqueleto fetal. Es el tejido en el cual se lleva la osificación endocondral y el crecimiento de huesos largos (Sepúlveda, 2012).

La unión entre la matriz de las células cartilaginosas se lleva a cabo por medio de la condronectina, que es una glucoproteína de adhesión, similar a la fibronectina. Contiene sitios de unión para la colágena tipo II, sulfato de condroitina, ácido hialurónico e integrinas de la membrana de condroblastos y condrocitos. La matriz se subdivide en dos regiones, la matriz territorial que es una banda que posee gran cantidad de glucosaminoglucanos sulfatados y la matriz interterritorial, la más abundante de las dos, que a diferencia de la matriz territorial posee una mayor cantidad de colágena tipo II y una menor cantidad de proteoglucanos (Garcíadiago-Cázares, 2012).

Los condrocitos inducen la invasión vascular del callo del cartílago y esto corresponde a la mineralización de la matriz del cartílago y la formación del hueso trabecular. El hueso recién formado se remodela en hueso cortical a través de las acciones coordinadas de los osteoblastos y los osteoclastos (Hu et al., 2017).

2.1.4 Resorción ósea

El remodelado óseo es un proceso fisiológico que involucra funciones celulares dirigidas hacia la resorción y formación de hueso nuevo. La osteoporosis, o la disminución del contenido mineral óseo, es el resultado de anomalías en el acoplamiento de las funciones del osteoclasto y del osteoblasto (Anaya, 1993). Implica una serie de pasos que inician a partir de un estímulo del tejido óseo, que puede ser inducido o provocado por una lesión (Gutiérrez, 2008).

La resorción siempre precede a la formación y en el tejido óseo nuevo las cantidades de hueso que estuvo en resorción son similares a las neoformadas. La vida media de cada unidad de remodelado en humanos es de 2 a 8 meses y la mayor parte de este período está ocupado por la formación ósea. En el esqueleto humano existen 35 millones de unidades básicas multicelulares y cada

año se activan de tres a cuatro millones, por lo que el esqueleto se renueva totalmente cada 10 años. El remodelado óseo existe toda la vida, pero el balance es positivo hasta los 30 años, por lo que el tejido óseo se mantiene con pequeñas variaciones hasta los 50 años, a partir de esta edad existe un predominio de la resorción y la masa ósea empieza a disminuir (Fernández et al., 2006).

2.1.5 Fases del remodelado óseo:

Fernández y colaboradores (2006) describieron que el remodelado óseo ocurre en las siguientes fases:

- a) Fase quiescente: se considera que el hueso está en reposo.
- b) Fase de activación: con los osteoblastos maduros en la superficie endóstica y la digestión de la membrana endóstica por la acción de las enzimas colagenasas, cuando se queda expuesta a la superficie mineralizada se produce atracción de osteoclastos circulantes procedentes de los vasos sanguíneos próximos.
- c) Fase de reabsorción: los osteoclastos disuelven la matriz mineral y descomponen la matriz osteoide, este proceso es terminado por los macrófagos, lo que permite la liberación de los factores de crecimiento que se encuentran en la matriz TGF- β , PDGF, IGF-I y II.
- d) Fase de formación: en las zonas donde se realizó la resorción se agrupan los preosteoblastos, estos son atraídos por los factores de crecimiento que se liberaron de la matriz que actúan como quimiotácticos y además estimulan la proliferación.
- e) Los preosteoblastos sintetizan una sustancia que permite la adherencia del nuevo tejido y expresan BMPs (bone morphogenetic proteins), responsables de la diferenciación. A los pocos días, los osteoblastos ya diferenciados van a sintetizar la sustancia osteoide que rellenará las zonas perforadas.

f) Fase de mineralización: a los 30 días del depósito de osteoide comienza la mineralización para finalizar a los 130 días en el hueso cortical y a 90 días en el trabecular para empezar de nuevo la fase quiescente.

2.2 Densidad mineral ósea

Al llegar a la tercera década de la vida se alcanza la máxima DMO; diversos estudios demuestran que la DMO es determinada por factores genéticos, nutricionales, hormonales y mecánicos, entre otros. En la remodelación ósea normal, la resorción ósea se equilibra con la formación de hueso; la pérdida ósea ocurre cuando hay un desequilibrio entre la resorción y la formación de hueso, lo que resulta en una disminución de la masa ósea, afectación de la arquitectura ósea y un aumento en el riesgo de fractura. (NAMS, 2010; Cosman et al., 2014).

En las mujeres postmenopáusicas existen diversos factores que se asocian con la aparición de osteoporosis; el envejecimiento y la carencia de estrógenos en la mujer durante el período climatérico originan una actividad osteoclástica excesiva que repercute en el desarrollo de la OP (Alvarado et al., 2015).

2.2.1 Postmenopausia en relación con la densidad mineral ósea

Después de la menopausia es común la pérdida de la densidad ósea en las mujeres, debido a la disminución de la producción de estrógenos ováricos (17-B-estradiol) (CENETEC, 2018). La postmenopausia es la etapa iniciada a partir del último periodo menstrual, ya sea por menopausia inducida o natural (NOM-035-SSA2-2002).

A partir de los 50 años la pérdida de densidad ósea aumenta un 5% en los siguientes 4 a 6 años después del inicio de la menopausia, para después entrar a una etapa de estabilización. La edad promedio para los casos de fractura de

cadera es a los 80 años. El aumento del riesgo de fractura conforme la edad, aumenta hasta 40 veces durante un lapso de tres décadas (NAMS, 2010). La edad en que se presenta un T-Score por debajo de -2.5 desviaciones estándares define la osteoporosis, ésta podría adelantarse en mujeres que a lo largo de su vida no consiguieron un pico óptimo de DMO (Castelo-Branco & Landa, 2004).

2.2.2 Osteopenia y osteoporosis

La osteopenia (OPE) es la afección por la que la DMO es más baja que la normal; es una forma de pérdida ósea menos grave que la osteoporosis, mientras que la OP es la enfermedad en la cual se presenta una reducción en la densidad y calidad del hueso, por lo que los huesos se vuelven porosos y frágiles incrementando el riesgo de sufrir fracturas; la OP surge de manera silenciosa y progresiva, no se manifiestan signos ni síntomas que permitan detectarla antes del evento de fractura (International Osteoporosis Foundation [IOF], 2016). En todas las edades y en todos los sitios del organismo la mujer tiene menor masa ósea que el hombre, en etapa de la menopausia, se presenta pérdida ósea acelerada y, en consecuencia, mayor vulnerabilidad a la OP y mayor riesgo de fracturas (Rosales-Aujang et al., 2014).

2.2.3 Tipos de osteoporosis

La OP se clasifica en dos grupos según los factores que afectan al metabolismo óseo. La OP primaria se divide en tipo I o postmenopáusica que es causada por la disminución de estrógenos afectando principalmente al hueso trabecular; en cambio, la osteoporosis tipo II, o senil, se relaciona con la pérdida de masa ósea cortical y trabecular debido a la edad (Sözen et al., 2017).

2.2.4. Epidemiología de la osteoporosis

A nivel mundial, la OP se considera un problema de salud pública y una epidemia creciente en mujeres mayores de 50 años de las cuales una de cada tres sufrirá una fractura ocasionada por OP. La pérdida ósea se produce en hombres y mujeres de aproximadamente 0.3 a 0.5% por año a partir de los 35 años y de 2 a 5% en el caso de las mujeres en la postmenopausia (Sociedad Iberoamericana de Osteología y Metabolismo Mineral [SIBOM], 2009). En el estudio realizado por Clark et al., 2013 en 820 hombres y mujeres de 50 años y más, a los cuales se les seleccionó de manera aleatoria después de haber evaluado su DMO por absorciometría dual de rayos X (DEXA), mostraron que el 17% de mujeres y el 9% de hombres presentan OP en columna lumbar y más del 30% de los hombres y 43% de las mujeres del estudio tuvieron diagnóstico de OPE, 16% de las mujeres y 6% de los hombres presentaron OP en cuello femoral, mientras que el 41% de los hombres y 56% de las mujeres presentaron OPE en esta misma región ósea. En mujeres mexicanas mayores de 45 años se ha reportado una prevalencia de OP de 16% y de OPE de 57% (Rosales et al., 2014).

Dos estudios realizados por Clark durante el 2000-2001 en las dos instituciones principales de salud de México, como lo son el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) y la Secretaría de Salud (SS), demostraron que en México el costo de la atención hospitalaria de fracturas de cadera en mujeres posmenopáusicas era de 36,593.271 dólares en un período de dos años (LAVOS, 2012).

La prevalencia de OP y fracturas aumenta con la edad: 20% en población de 50-59 años; 46% en población de 60-69 años; 59% en población de 70-79 años y 69% en población >80 años. Las fracturas vertebrales y de cadera ejercen una mayor influencia sobre las tasas de mortalidad y un importante impacto económico al país (Clark et al, 2019). Se estima que para el año 2050 se registren 155,874 casos de fractura de cadera en México (figura 3) (LAVOS, 2012).

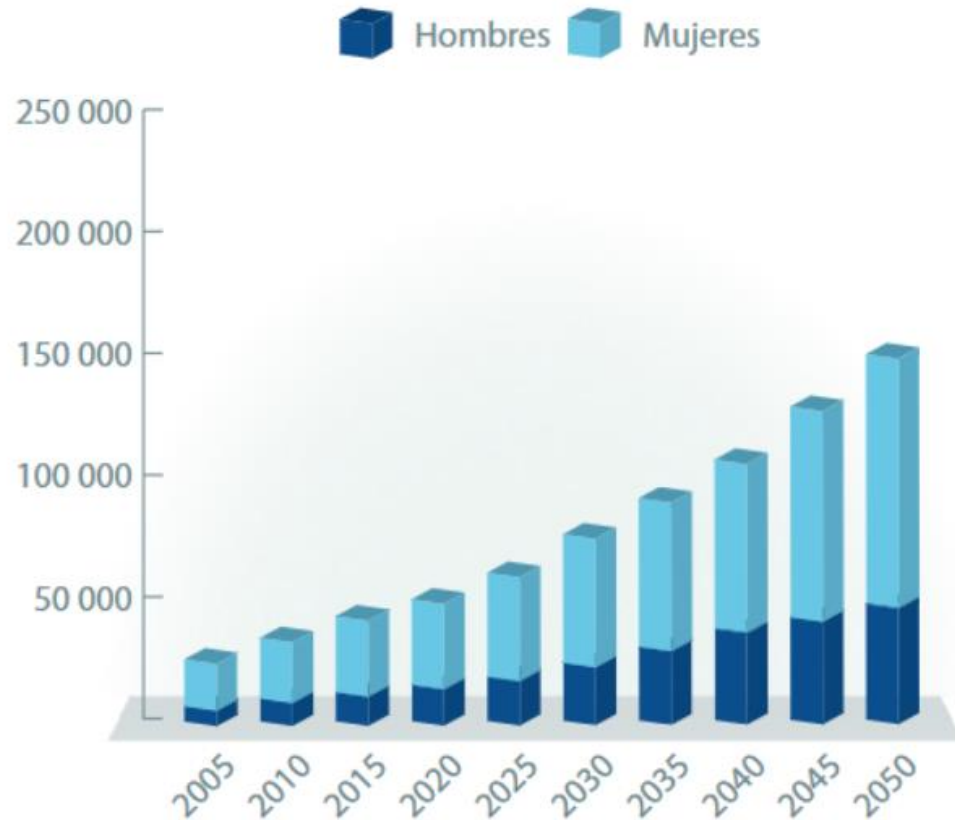


Figura 3. Fracturas estimadas para hombres y mujeres mexicanos (LAVOS, 2012).

Por lo que se busca realizar esfuerzos relacionados con la prevención a la mayor brevedad posible a fin de evitar una epidemia futura de fracturas por fragilidad y el impacto económico que conlleva.

2.2.5. Factores de riesgo relacionados a osteoporosis

Existen factores de riesgo que predisponen a fractura por OP, por ejemplo, las mujeres mayores de 50 años, que han entrado al periodo de menopausia, que tienen antecedentes familiares (fractura de cadera) o personales con fractura, que presentan un IMC <19 kg/m², que tienen un consumo de calcio menor a 1000 mg/día, consumo de alcohol por más de tres dosis por día mayores a 10 g,

tabaquismo, uso crónico de corticoides por más de tres meses, que hayan pasado una inmovilización prolongada o que sean sedentarios (menos de 150 minutos de actividad física por semana), que hayan sufrido caídas o que presenten enfermedades como hiper/hipotiroidismo, diabetes tipo I artritis reumatoide, mujeres que estén bajo tratamiento de inhibidores de recaptura de serotonina, inhibidores bomba de protones, anticonvulsivos, etc. (McCloskey, 2009). El riesgo de fractura osteoporótica se duplica cada 7 u 8 años después de los 50 años. La fractura de cadera ocurre más frecuentemente alrededor de los 82 años, así como la fractura vertebral, con base solo en la DMO se esperaría que el riesgo de fractura de cadera se cuadruplica entre los 55 y 85 años, sin embargo, es el incremento de la edad la que aumenta el riesgo de fractura de cadera hasta 40 veces durante el lapso de tres décadas y no solo la DMO (The North American Menopause Society [NAMS], 2010).

2.2.6. Diagnóstico de osteopenia/osteoporosis

La Sociedad Internacional de Densitometría Clínica (ISCD) recomienda realizar mediciones de DXA en la columna lumbar, el cuello femoral y la cadera total para diagnosticar OP en mujeres y hombres de 50 años o más (Medina-Gomez et al., 2018).

La densitometría ósea es una técnica que compara la densidad ósea del enfermo contra la DMO promedio a la edad de 20 a 25 años que es el periodo en que se tiene la mayor DMO. El cuello del fémur ha sido identificado como el sitio anatómico idóneo para el establecimiento de la osteoporosis y el resultado se obtiene por el T-Score, el cual expresa la desviación de la densidad mineral ósea, evaluada en términos de unidades de desviación estándar (Hernández et al., 2014).

En 1994 la Organización Mundial de la Salud (OMS) definió los criterios de diagnóstico (tabla I) con base a la medición de la DMO y su relación con la de

una mujer adulta joven (T-score). La OPE se definió como un T-score entre -1 y -2.5 DE (desviación estándar) y OP se definió como una DMO menor a 2.5 desviaciones estándar por debajo de la media de la DMO de una mujer adulta joven (Woolf et al., 2003).

Se considera como masa ósea normal una DMO con T-score superior a -1 desviación estándar (DE) con relación a la media de adultos jóvenes (T-score >-1). Osteopenia a los valores de T-score entre -1 y -2.5 DE y OP a los valores de T-score inferiores a -2,5 DE y osteoporosis establecida cuando junto con las condiciones previas se asocia una o más fracturas por fragilidad (Muñoz-Torres et al., 2010).

Tabla I. Clasificación del T-score de la DMO

Valoración	Valor de DMO
Normal	T-score > -1 DE
Osteopenia	T-score entre -1 y -2.5 DE
Osteoporosis	T-score <-2.5

Fuente: OMS, 1994. T (T score): comparación con valor de DMO alcanzado en población adulto joven de referencia. DE= Desviación estándar; DMO=densidad mineral ósea.

2.3. Genética y osteoporosis

Los factores genéticos desempeñan un rol clave en la DMO, tanto en relación a la cantidad máxima de masa ósea en un sujeto, como en la pérdida relacionada con la edad y con diversos fármacos o situaciones que originan una disminución de la de DMO (Escobar-Gómez et al., 2009).

La DMO es un rasgo cuantitativo complejo que está determinado genéticamente, por lo que es un buen marcador biológico para la determinación del estado óseo; diversos estudios sugieren el control genético sobre aspectos cualitativos óseos y establecen una firme conexión entre masa ósea y polimorfismos del correceptor de la vía de señalización WNT; esto ha permitido confirmar la importancia de la

vía de señalización WNT en el metabolismo y enfermedad ósea (Ferrari et al., 2007).

Mediante estudios en mellizos y madres e hijas se ha demostrado la importancia de los genes en la DMO (Zancheta et al., 2001). Se ha descrito que a partir de los 65 años comienza una reducción considerable de DMO y se ha demostrado que se asocia con el factor genético (herencia) en más del 50 al 85%, estas diferencias en la DMO también se observan relacionadas a los grupos étnicos que pertenecen (Villalobos et al., 2017).

Los estudios con genes permiten identificar sujetos en riesgo de padecer OPE/OP; por ejemplo, se ha encontrado la asociación de polimorfismos con alteraciones en la DMO en población de Estados Unidos y en Sudáfrica (Zancheta et al., 2008).

2.3.1. Polimorfismos y su análisis

Los polimorfismos genéticos son variantes del genoma que ocurren debido a mutaciones, estos pueden ser originados por errores en los mecanismos de replicación y reparación del ADN. Las mutaciones pueden tener efectos deletéreos y causar enfermedades, variación alélica entre individuos y diversidad entre la misma especie. Se considera polimorfismo cuando la frecuencia de uno de sus alelos en la población es superior al 1% (Checa et al., 2007).

Se transmiten a la descendencia y adquieren una frecuencia en la población y en sus generaciones. Se sabe que los polimorfismos ocurren alrededor de uno por cada 1000 pares de bases. Los polimorfismos más frecuentes son cambios de un único nucleótido (*single nucleotide polymorphism*) [SNP]. Pueden ocurrir distintos nucleótidos o variantes en una posición concreta del genoma denominada locus. Y a cada posible variante se le denomina "alelo". Las variaciones ubicadas en intrones son capaces de modular el proceso de transcripción (Iniesta et al., 2005).

Si se trata de un SNP la variación será el cambio de un alelo por otro, por ejemplo: T por C (T>C). El alelo principal es llamado “silvestre” o “común” y alelo raro, “mutante” o “de menor frecuencia”, según su frecuencia observada en las poblaciones. La pareja observada en un individuo se denomina “genotipo” y para el locus T>C del ejemplo, las parejas posibles de alelos son: TT, TC y CC. Los individuos que presenten los dos alelos idénticos (TT, CC) se les denomina homocigotos, y los que tienen diferentes alelos (TC), heterocigotos (Checa et al., 2007; Iniesta et al., 2005).

El uso de polimorfismos como marcadores de ciertas enfermedades permiten identificar el riesgo para el desarrollo o progresión a la patología. Los polimorfismos localizados cerca de un gen candidato pueden ser usados como marcadores para esclarecer ciertos patrones o procesos biológicos (Checa et al., 2007).

Los SNPs no se consideran como la causa de la enfermedad, sino que pueden ser factores de riesgo asociados (Hidalgo-Bravo et al., 2020). Un estudio de GWAS en población de Europa y Asia confirmó la asociación del rs3801387 del gen *WNT16* y del rs7108738 del gen *SOX6* con la DMO así como su heredabilidad en poblaciones de MPP de Norte América, el norte de Asia, Europa, Australia y Mexicana (Rivadeneira et al., 2009; Estrada et al., 2012; Villalobos et al., 2017) (figura 4). Así mismo, Koller et al., 2013 señaló asociación en población de europeos-americanos para el rs38017387 del gen *WNT16*, demostrando que este gen es determinante de la masa ósea cuando en su ausencia en osteoblastos y osteocitos maduros, comienza a disminuir el grosor del hueso y la DMO del cuerpo total (Medina-Gómez et al., 2012).

En el estudio de Yang et al., 2012 se observó la asociación del SNP rs7108738 del gen *SOX6* con la DMO de cadera en población del norte de Europa y medio oeste China del cual describen su participación en los valores de DMO a través de la formación endocondral, considerándose como SNPs de riesgo para la osteoporosis (Fengbin et al., 2013).

En los últimos diez años, se han identificado más de 500 loci asociados con la DMO (Christou et al., 2020); esto ha permitido generar más información sobre la arquitectura genética y los mecanismos fisiopatológicos subyacentes a la variación de la DMO, la susceptibilidad a la fractura, factores de la vía de señalización Wnt y de la diferenciación de células mesenquimales (tabla II) (Rivadeneira, et al., 2009).

Tabla II. Polimorfismos genéticos asociados en diferentes regiones óseas en MPP.

Polimorfismo	Gen	Locus	DMO asociada en región:
rs7108738	<i>SOX6</i>	11p15.2	Cuello femoral
rs6904364	<i>RMD1</i>	38p12	
rs9479055	<i>CCDC170</i>	38p12	
rs7584262	<i>PKDCC</i>	2q21	
rs17558396	<i>MEF2C</i>	5q14.3	
rs3020404	<i>ESR1</i>		Dual de fémur y espina lumbar
rs3801387	<i>WNT16</i>	7q31.31	Espina lumbar
rs3790160	<i>JAG1</i>	20p12.2	
rs3736228	<i>LRP5</i>	11q13.2	
rs12407028	<i>ESR1</i>	6q25.1	
rs4233949	<i>WLS</i>	1p31.3	
rs4233949	<i>SPTBN1</i>	2p16.2	
rs1346004	<i>GALNT3</i>	2q24.3	
rs3755955	<i>IDUA</i>	4p16.3	
rs6532023/ rs1463104	<i>MEPE</i>	4q22.1	Espina lumbar/ Cuello femoral
rs4869742	<i>ESR1</i>	6q25.1	
rs849172	<i>COA1</i>	38p12	
rs17413103	<i>SHFM1</i>		

(Rivadeneira, et al., 2009; Villalobos-Comparán et al., 2017; Hidalgo-Bravo et al., 2020).

Gori y colaboradores (2015) reportaron 60 loci que se asocian fuertemente con variaciones severas de la DMO en la vía de señalización de WNT, como: *AXIN1*, *CTNNB1*, *DKK1*, *LRP4*, *LRP5*, *MEF2C*, *RSPO3*, *SFRP4*, *SOST*, *WLS*, *WNT3*, *WNT4*, *WNT5* y *WNT16*.

Varios estudios recientes de GWAS demostraron que las variaciones genéticas en *WNT16* están asociadas con la DMO y el riesgo de fractura en niños y adultos en múltiples poblaciones, lo que sugieren que el gen *WNT16* es crítico para la regulación positiva de la estructura y la masa ósea tanto cortical como trabecular, la resistencia ósea y el riesgo de fractura (Alam et al., 2016).

En un estudio realizado en una cohorte de Corea con un tamaño de muestra de 1269 MPP, se asoció el rs3801387 del gen *WNT16* positivamente con osteoporosis, fracturas no vertebrales y de cuello femoral, siendo A el alelo de riesgo (Beom-Jun et al., 2016). Por su parte, Villalobos-Comparán y colaboradores (2017) confirmaron que los SNPs del rs3801387 del gen *WNT16* y del rs7108738 del gen *SOX6* influyen en la DMO en población mestizo-mexicana en las regiones de cuello femoral y espina lumbar. Más tarde se analizaron sus frecuencias alélicas y genotípicas en poblaciones de MPP del Centro de México, en el estado de Morelos y de la ciudad de México en el cual las MPP del estado de Morelos, mostraron asociación con el rs7108738 del gen *SOX6* y el riesgo aumentado a la susceptibilidad de OPE/OP en MPP con el genotipo GG (Hidalgo-Bravo et al., 2020).

En el estudio de Martínez-Gil, et al. (2018) se identificaron más de 50 loci asociados con la DMO, entre los cuales se encontraba algunos de la vía Wnt/ β catenina, también se han evidenciado loci asociados con DMO con el riesgo de fractura y 6 de ellos pertenecían a la vía WNT: *LRP5*, *SOST*, *DKK1*, *WNT4*, *WNT16* y varios fenotipos óseos monogénicos se sabe que son causados por mutaciones en los genes de la vía Wnt.

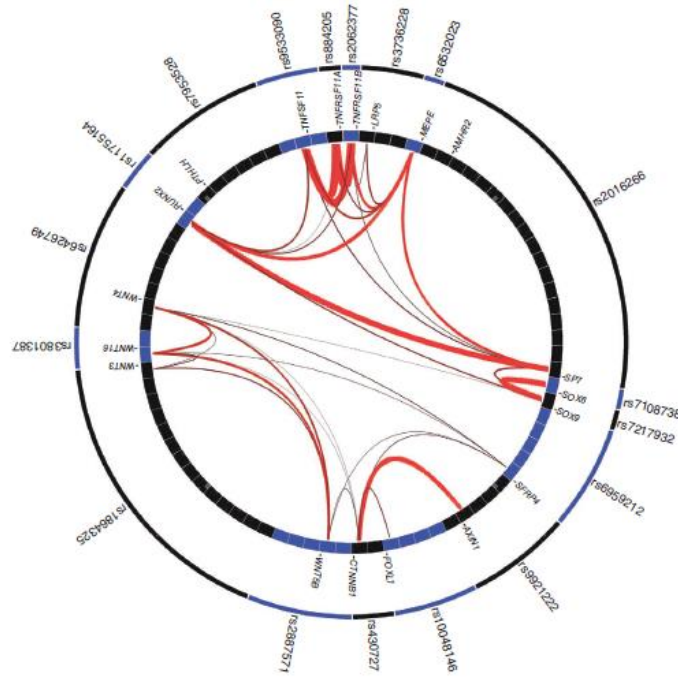


Figura 4. Genes candidatos asociados a la DMO en diversas poblaciones (Estada et al., 2012).

2.3.1. Participación de WNT16 en células óseas

El gen *WNT16* es miembro de una familia de 19 glicoproteínas ricas en cisteína de aproximadamente 350 a 400 aminoácidos. Presentan un péptido señal amino-terminal para la secreción que se transmiten a través de la vía WNT- β -catenina, también denominada vía canónica WNT y vías no canónicas WNT (Todd et al., 2015; Movérare-skrtic, et al., 2015)

La activación de la señalización de β -catenina canónica aumenta la masa ósea, y se han identificado mutaciones que afectan al hueso en los componentes de la maquinaria de señalización WNT canónica (Todd et al., 2015)

La familia *WNT* consiste en varios genes altamente conservados cuyos productos proteicos regulan la expresión de genes, el comportamiento, la adhesión y la polaridad celular. Comprende 19 genes en humanos y ratones, 7 en *Drosophila* y 5 en *C. elegans* (Wang, 2014).

WNT16 es miembro de la familia de genes WNT; contiene dos variantes de transcripción divergentes en el extremo 5'. Estas dos variantes se proponen para ser productos de promotores separados y no para ser variantes de empalme de un solo promotor (Fear et al., 2000).

Las variantes de *WNT16* se expresan diferencialmente en tejidos normales, la variante 2 se expresa en niveles significativos solo en el páncreas, mientras que la variante 1 se expresa con niveles más altos en riñón, placenta, cerebro, corazón y bazo (National Center for Biotechnology Information [NCBI], 2008a).

WNT16 se ubica en el locus 7q31.3 en el intrón 3, sus posibles variaciones alélicas son A/C/G y se ubica río arriba del gen *WNT16*, es capaz de formar 19 transcritos diferentes (Ikeda et al., 2005).

El gen *WNT16* se ha visto asociado con la densidad mineral ósea, el grosor del hueso cortical y con las fracturas no vertebrales, esto sugiere que su producto es un regulador de la masa ósea. No obstante, aún no se conocen con precisión los mecanismos por los cuales ocurre este proceso (Kobayashi et al., 2018; Ohlsoon et al., 2018).

En mamíferos, la mayoría de los elementos que participan en la formación del hueso se presentan en la región endocondral la cual se caracteriza por el desarrollo inicial de cartílago en condensación mesenquimal y su remplazamiento por hueso (Ikeda, et al., 2005).

En el estudio de Movérare-skrtic et al., 2015 se demostró que la inactivación condicional de *WNT16* revela que las células del linaje de los osteoblastos son la principal fuente de *WNT16* y su eliminación dirigida en los osteoblastos aumenta la susceptibilidad a la fractura; por lo tanto, el gen *WNT16* derivado de osteoblastos es un regulador clave no reportado previamente de la osteoclastogénesis y la susceptibilidad a la fractura. Estos hallazgos abren nuevas vías para la prevención o el tratamiento específico de las fracturas no vertebrales, una necesidad médica sustancial aun no resuelta.

Por lo tanto la vía WNT constituye un mecanismo esencial para la regulación del remodelado óseo y es capaz de ejercer control global sobre los osteoblastos, favoreciendo su proliferación, diferenciación o apoptosis (Escobar-Gómez et al., 2009).

2.3.2. Regulación del metabolismo óseo por vía de señalización WNT

La vía de señalización de WNT es indispensable para el desarrollo óseo. Los condrocitos y los osteoblastos son células primarias en el sistema esquelético que se diferencian de las células mesenquimales, cuando la vía de señalización Wnt β -catenina no canónica se activa; promueve la diferenciación de los osteoblastos y al mismo tiempo inhibe la diferenciación de condrocitos de células mesenquimales. La proteína WNT16 (figura 5) participa en la vía WNT de ruta no canónica (Li et al., 2016).

Los osteoblastos se derivan de células madre mesenquimales (CMM); el compromiso de las CMM con el linaje osteoprogenitor requiere la expresión de genes específicos que siguen pasos programados oportunamente, incluida la síntesis de BMP y miembros de las vías WNT. Las expresiones de los factores de transcripción: Runtrelated 2, homebox Distal-less 5 (Dlx5) y osterix (Osx) son cruciales para la diferenciación de osteoblastos (Silva et al., 2015).

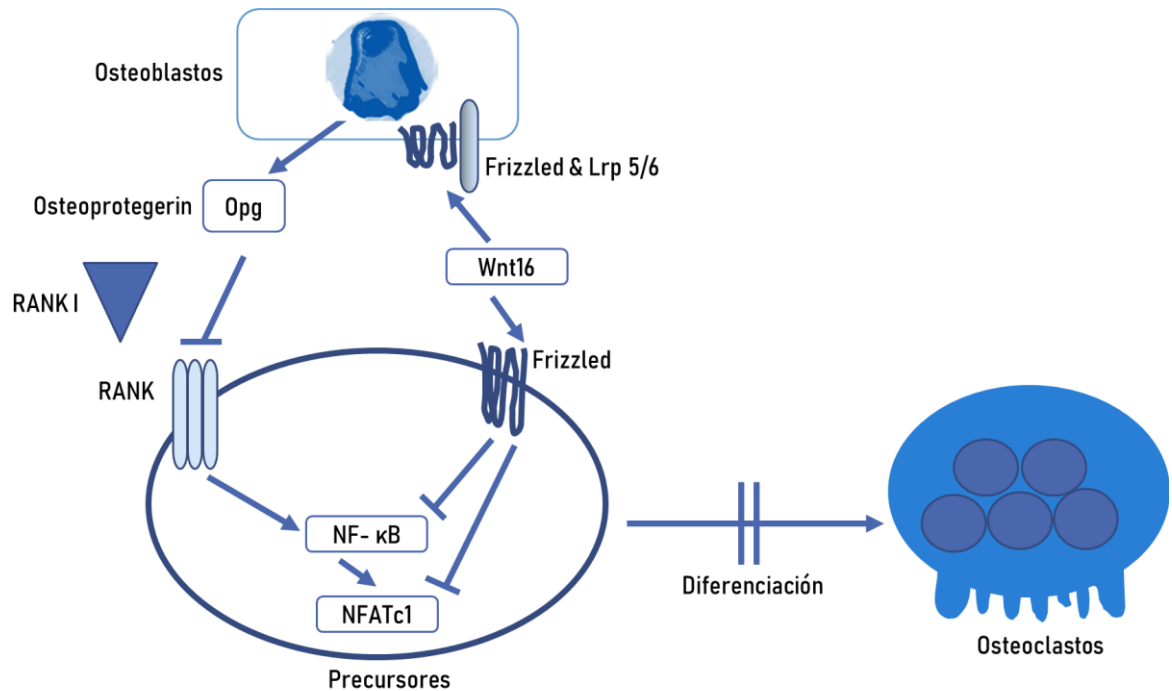


Figura 5. Vía *WNT16* (Kobayashi et al., 2018)

Las señales de Wnt/ β -catenina desempeñan un papel en la resorción ósea. La activación de estas señales en las células de osteoblastos y osteocitos inducen la expresión de la osteoprotegerina para posteriormente inhibir la formación de osteoclastos. Cuando *WNT5* se une a los receptores, Ror2 activa las vías de señalización no canónicas, promoviendo así la diferenciación de osteoclastos y la actividad de resorción ósea. En contraste; *WNT16* activa la vía de señalización WNT no canónica en células precursoras de osteoclastos y suprime la activación inducida por Rankl de Nf- κ B y Nfatc1, inhibiendo la diferenciación de osteoclastos (Kobayashi et al., 2018). Los osteoclastos; producen factores de acoplamiento que estimulan la remodelación en las superficies trabeculares. Actualmente se ha visto que también pueden hacer señales, a través del hueso cortical, para estimular el modelado óseo en el periostio (Sims et al.,2014).

La vía de señalización activada por WNT16 en progenitores de osteoclastos es no canónica, mientras que la vía activada en osteoblastos es tanto canónica como no canónica.

2.3.3. Participación del gen SOX6 y DMO.

El producto proteico del gen SOX6 es un factor de transcripción esencial en la condrogénesis y la formación de cartílago; el gen está ubicado en el locus 11p15.2 con variación T/G en un intrón, río abajo. Cuenta con 18 exones y forma 8 transcritos (National Center for Biotechnology Information, 2008).

Se han identificado muchas moléculas de señalización que guían la condrogénesis, por ejemplo, el factor de crecimiento transformante β , las proteínas morfogenéticas óseas, los factores de crecimiento de fibroblastos y Wnts, así como los reguladores de la transcripción, como la familia SOX (Quintana et al., 2009).

La familia SOX se compone de varios subgrupos basados en homologías de secuencia tanto dentro como fuera del dominio HMG-box. Los elementos esqueléticos se construyen durante la formación de hueso endocondral y de moldes de cartílago a partir de condensaciones mesenquimales y su posterior reemplazo por hueso (Ikeda et al., 2005).

Los genes de la familia SOX potencian las funciones de los condroblastos por lo que son esenciales para la formación del esqueleto endocondral, tienen un papel clave en la formación de huesos largos a través de la secuencia de eventos de osificación endocondral iniciada en la condensación mesenquimal (Quintana et al., 2009; Smits et al., 2001).

Se han reportado GWAS con SNPs de SOX6 asociados a la DMO de cadera (Yang, et al., 2012). La investigación de los SNP en el gen SOX6 puede proporcionar información adicional para comprender la relación entre este gen y la DMO. Además, la replicación de asociaciones genéticas en poblaciones independientes es esencial para evaluar un hallazgo positivo y explorar más a fondo el papel de estas variantes en los rasgos complejos (Ikeda et al., 2005).

2.3.4. Regulación del metabolismo óseo por vías de señalización SOX

La vía de SOX (figura 6) participa en el desarrollo óseo, durante la formación del cartílago proveniente de las células mesenquimales, mediante la condrogénesis para lo cual se necesita la condensación mesenquimática, mediada por factores paracrinos y posteriormente por SOX9, un factor de transcripción que pertenece a la familia SRY (Sex determinate región of chromosome Y) contiene el cuadro de grupo de alta movilidad (HMG) el cual es un dominio de unión al ADN. La expresión de SOX9 es responsable de la expresión de algunos de los genes clave en la condrogénesis: SOX5, SOX6 y colágeno II $\alpha 1$ (Col2a1) (Quintana et al., 2009).

La proteína SOX9 es necesaria para la diferenciación condrogénica antes y después de las condensaciones mesenquimales, mientras que SOX5 y SOX6 son necesarios solo después de las condensaciones mesenquimales. Sin embargo, ningún SOX individual es suficiente para el proceso, ya que ninguno induce individualmente la diferenciación en varios tipos de células. Solo cuando trabajan en conjunto SOX5, SOX6 y SOX9, se induce con éxito la diferenciación en todos los tipos de células por lo que proporcionan señales suficientes para la diferenciación ósea (figura 6) (Ikeda, et al., 2005); este grupo de factores de transcripción son coexpresados en cartílago y contribuyen a la expresión de los genes que participan en la formación de la matriz extracelular del cartílago (Quintana et al., 2009; Smits et al., 2001).

La condrogénesis comienza una vez que las células mesenquimales se convierten en osteo-condroprogenitoras durante la etapa de condensación, SOX9, SOX5 y SOX6 se expresan en mayor cantidad hasta que los condrocitos entran en hipertrofia (Quintana et al., 2009).

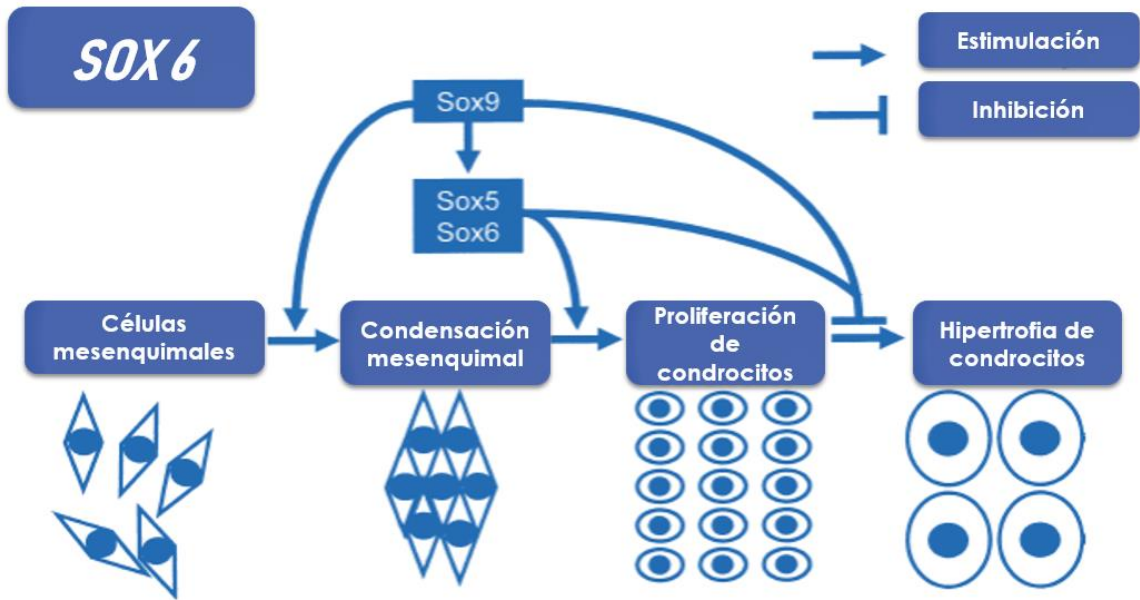


Figura 6. Vía SOX6 en condrogénesis (Ikeda, et al., 2005)

3. JUSTIFICACIÓN

La osteoporosis es un problema de salud que se caracteriza por una baja densidad mineral ósea y el deterioro de la microarquitectura del tejido óseo (Yang, et al., 2012). Los costos estimados para el manejo de la OP y la OPE en 2010, en México, fueron de \$154.9 millones de dólares, mientras que los costos relacionados con las fracturas por fragilidad fueron de \$ 256.2 millones de dólares; el mismo estudio proyecta que para el año 2020 estos costos incrementarán hasta un 41.7% (\$ 583 mil millones de dólares) (Clark et al., 2019).

Entre los factores de riesgo para la aparición de osteoporosis se encuentran una baja DMO, el bajo peso, el sedentarismo, el consumo de alcohol y tabaco, hormonales (menopausia precoz), nutricionales (bajo consumo de calcio y vitamina D), el consumo de medicamentos algunas enfermedades endócrinas y antecedentes familiares de osteopenia/osteoporosis (González-Peña, 2014).

En los últimos años se ha investigado el rol de los factores genéticos en el desarrollo de osteoporosis; mediante estudios de GWAS y meta-análisis se ha encontrado que los genes *WNT16* y *SOX6* pudieran ser marcadores genéticos, ya que se han visto asociados a las variaciones de la DMO.

Este proyecto se realizó en MPP porque son el grupo más vulnerable para sufrir fracturas por la disminución de estrógenos durante esta etapa de vida y el aumento de la pérdida de DMO; además, dicha disminución se ha visto asociada con los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* en poblaciones de norte América, el norte de Asia, Europa y México. De esta forma, el realizar esta investigación permitirá ampliar el conocimiento de las variantes genéticas en la población de estudio y explorar la posibilidad de identificar marcadores genéticos para la prevención de OPE/OP.

El proyecto es factible ya que se cuenta con el equipo de absorciometría dual de rayos X para medir la densidad ósea por regiones y total, en el Laboratorio de composición corporal del Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública;

también se tuvo acceso a los materiales e infraestructura para la elaboración de extracciones de ADN, en el Laboratorio de genética y biología molecular del CINSP y del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) que apoyó la realización del estudio al aportar el equipo para realizar PCR- tiempo real (qPCR) durante la etapa de genotipificación, así como los insumos para la preparación de las reacciones para la técnica.

Los datos generados con esta investigación permiten ampliar el mapa genético de la OPE/OP y a la vez genera más información para que en el futuro sea posible el diagnóstico y la prevención oportuna de OPE/OP en MPP del Norte de México.

4. HIPÓTESIS

Los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* se asocian con el fenotipo osteopenia/osteoporosis en mujeres postmenopáusicas del Norte de México.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Evaluar la asociación de los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* con el fenotipo osteopenia/osteoporosis en mujeres postmenopáusicas del Norte de México.

5.2. Objetivos específicos

- Identificar el fenotipo osteopenia/osteoporosis de acuerdo con los criterios de la OMS 1994, en un grupo de mujeres postmenopáusicas del Norte de México conforme a la densidad mineral de diferentes regiones óseas.
- Determinar las frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* en un grupo de mujeres postmenopáusicas con osteopenia/osteoporosis.

- Evaluar la asociación de los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* y la densidad mineral de diferentes regiones óseas en un grupo de mujeres postmenopáusicas con osteopenia/osteoporosis.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

Los reactivos implicados en la fase experimental para evaluar los polimorfismos fueron: Kit para extracción de DNA genómico marca QIAGEN y Sondas taqMan® Universal Master Mix, 40X assay de la casa comercial Applied Biosystems.

6.1. Diseño del estudio

Se realizó un estudio de tipo transversal, observacional y correlacional. Las unidades de observación fueron mujeres postmenopáusicas del Norte de México. Se partió de una base de datos de un estudio previo (Escamilla-Méndez, 2016) y se realizó un nuevo reclutamiento.

El tipo de muestreo utilizado fue no probabilístico, intencional por factibilidad. Las participantes fueron mujeres postmenopáusicas voluntarias, aparentemente sanas. Excluyendo todas aquellas que informaran tener diabetes mellitus, cáncer, hiperparatiroidismo, artritis reumatoide y mujeres con demencia; también se excluyeron aquellas que tuvieran tratamiento de fármacos con efectos en metabolismo óseo (glucocorticoides, anabolizantes, hormonas sexuales, bifosfonatos, vitamina D, etc.). Se eliminaron las mujeres con muestra insuficiente de ADN para la genotipificación, con parentesco familiar con otra de las participantes y/o que su expediente estuviera incompleto o decidieran abandonar el estudio.

La fase experimental del estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Genética y Biología Molecular y en el Laboratorio de Composición Corporal del Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública (CINSP) de la Facultad de Salud Pública y Nutrición (FaSPyN) de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), así como en el Laboratorio de Genómica del Metabolismo Óseo del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN).

El estudio fue aprobado por el Comité de Investigación de la FaSPyN de la UANL (No. De registro 19-FaSPyN-SA-18.TP) además de contar con el consentimiento

informado de todas las participantes de acuerdo con el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud (Secretaría de Salud, 1998).

6.2. Estrategia general

Durante la investigación se llevó a cabo la siguiente estrategia general: se utilizó una base de datos de 200 MPP y se analizó que cumplieran los criterios de inclusión de este estudio; además, se realizó un nuevo reclutamiento (figura 4) al lanzar una convocatoria a la población en general. Todas las participantes cumplían con expediente completo, firmaron el consentimiento informado, se les analizó la DMO en diferentes regiones del cuerpo mediante la técnica de absorciometría dual de rayos X (DXA) y se clasificaron de acuerdo con los criterios de la OMS. También se les extrajo una muestra de sangre periférica para posteriormente realizar la genotipificación; se hizo extracción de ADN genómico, se cuantificaron los ácidos nucleicos y se realizó la PCR- en tiempo real para posteriormente evaluar las asociaciones de los polimorfismos.

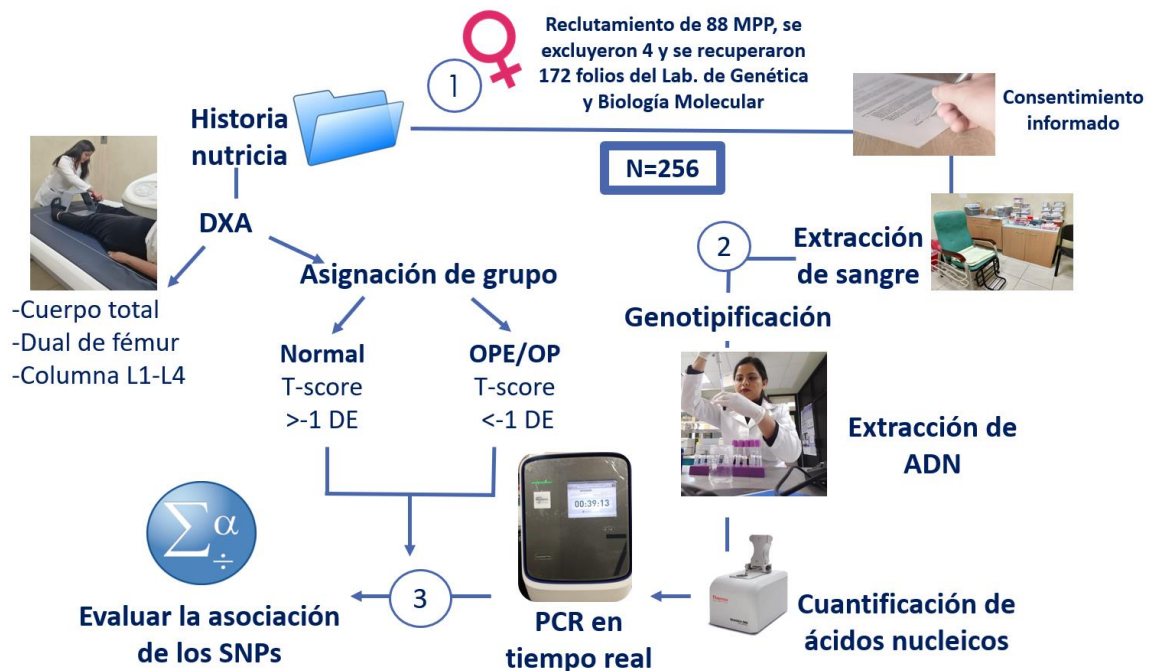


Figura 7. Estrategia general de trabajo

6.3. Obtención de la información

Se analizó una base de 200 datos de proyectos realizados previamente en el Laboratorio de Biología Molecular y Genética, considerando que cumplieran con los criterios de inclusión y tuvieran muestra de ADN en el biobanco del mismo laboratorio y que contaran con el expediente completo. Se pudieron recuperar 172 folios con expediente completo y suficiente muestra de ADN. El nuevo reclutamiento se realizó de Octubre a Diciembre 2019 mediante carteles publicados en redes sociales y se lograron reclutar 88 participantes de diferentes localidades del Norte de México, que cumplían con los criterios de inclusión antes mencionados, firmaron una carta de consentimiento informado, donde se les hizo saber en qué consistía su participación y los riesgos de los procedimientos a realizar, así como también la contribución que esta investigación aporta a la sociedad, solo se obtuvieron 84 expedientes completos con suficiente muestra de ADN para finalmente tener una población de 256 MPP con expediente completo.

6.4. Instrumentos de medición

Durante el reclutamiento de pacientes se emplearon los documentos “carta de consentimiento informado” (anexo 1) e “historia clínica nutricional” (anexo 2). Los aparatos utilizados en las mediciones fueron una báscula, estadiómetro y densitómetro Lunar PRODIGY Advance, y para la genotipificación se utilizó el equipo Nanodrop y termociclador QuantStudio 7 Flex™ para realizar PCR tiempo real.

6.5. Medición de la densidad mineral ósea

Se determinó la DMO utilizando la técnica de absorciometría dual de rayos X (DEXA), utilizando el densitómetro Lunar PRODIGY Advance, modelo 301264. G. E. Se tomaron las mediciones en las posiciones oficiales que la Sociedad

Internacional de Densitometría Clínica establece (Índice de masa corporal, DMO, contenido mineral óseo) (Petak et al., 2013).

El principio físico básico del DXA es la medición de la transmisión a través del cuerpo de rayos X a dos niveles diferentes de energía (alta y baja). La fuente de rayos X genera un haz de rayos X, que consiste en partículas de fotones transportadas a través de la energía electromagnética. Las energías del haz de rayos X se atenúan durante el paso a través de los tejidos y la atenuación está influenciada por la intensidad de la energía y la densidad y el grosor de los tejidos humanos. La diferencia en la atenuación de los picos de energía de rayos X es específica para cada tejido (Bazzocchi et al., 2016).

Determinación de la DMO en cuerpo total (DMO_CT)

Se colocó a la participante en posición supina con las piernas extendidas. Consta de todo el cuerpo, incluida la cabeza, se define por los límites del campo de exploración (superior, inferior, medio y lateral) (Bazzocchi, 2011).

Determinación de la DMO de dual de fémur

La participante se mantuvo en posición supina con las piernas ligeramente en abducción para mantener el eje femoral recto y en rotación interna (15-30°), de manera que el trocánter menor no sea visible en la imagen (Lorente, R., Azpeitia, N., Arévalo, A., Muñoz, J., García, J. & Gredilla, J., 2012).

Determinación de la DMO de la columna vertebral anteroposterior

Se colocó a la participante en posición supina sobre la mesa, con las piernas flexionadas sobre una almohadilla de soporte que reduce la lordosis lumbar y se acerca a la columna vertebral a la mesa (Lorente et al., 2012).

Para la determinación de las MPP del grupo normal y OPE/OP se utilizaron los criterios establecidos por la OMS (1984); conforme a los resultados arrojados por el software del DXA.

Mediciones antropométricas

Peso: la medición se realizó sin zapatos ni prendas pesadas, la paciente usó bata desechable, debía tener la vejiga vacía y al menos dos horas de ayuno; se colocó al centro de la báscula y se mantuvo inmóvil durante la medición. El dato del peso se registró cuando los números de la pantalla estuvieron fijos, así como la hora en que se tomó la medición ya que dependiendo del momento del día se dan variaciones intrapersonales (Suaverza & Haa, 2010).

Talla: la medición se realizó con la participante descalza y se colocó de pie con los talones juntos, piernas rectas y hombros relajados, la cabeza en plano horizontal de Frankfort, para lo que se representa una línea entre el punto más bajo de la órbita del ojo y el orificio auditivo externo, se le pidió inhalar profundamente al individuo antes de tomar la medición conteniendo el aire (Stewart et al.,2011).

Determinaciones genéticas

Extracción de sangre periférica

Se solicitó a las participantes presentarse con un ayuno de 12 horas para realizar la extracción de sangre periférica mediante punción venosa; se extrajeron 10 mL de sangre en tubos con anticoagulante EDTA (BD Vacutainer®) para la extracción de ADN genómico. Las muestras de sangre se tomaron en un laboratorio del CINSP de la FaSPyN de la UANL., este procedimiento se realizó por personal capacitado del CINSP.

Extracción del ADN genómico

Para la extracción del ADN genómico se utilizó el Kit QiAamp ADN Blood Midi/Maxi; se siguió el procedimiento que consiste básicamente en una serie de incubaciones, centrifugaciones y agitaciones, durante varias repeticiones siguiendo las instrucciones del fabricante.

Para realizar el protocolo se requirieron 3-5 ml de sangre obtenidas de un tubo BD Vacutainer® que se dejó reposar a 4°C durante 8 días. Se tomaron 300 µl del tubo para recuperar el paquete celular y pasarlo a un microtubo de 1.5 ml. Se agregaron 900 µl de solución de lisis de RBC (Red Blood Cell Lysis Solution) homogenizando por inversión e incubando durante 30 minutos a temperatura ambiente (invirtiendo cada diez minutos durante la incubación). Posteriormente se centrifugó a 12,000 rpm durante 3 minutos, se retiró el sobrenadante con una pipeta dejando en el fondo un pellet de células visibles (50 µl aproximadamente), se aplicó vortex durante 10 segundos hasta disolver el paquete celular con el remanente. Estos pasos se repitieron 3 veces hasta que la muestra mostró menor tonalidad roja (menos hemoglobina).

Se añadieron 450 µl de RBC, se incubó durante 15 minutos y se aplicó vortex durante 10 segundos, para pasar a centrifugar 5.5 minutos a 12,000 rpm, se retiró el sobrenadante por decantación y con ayuda de una superficie absorbente se retiró el sobrenadante. Se añadieron 300 µl de CLS (Cell Lysis Solution) y se aplicó vortex para lisar las células. Posteriormente las muestras se dejaron reposar toda la noche a temperatura ambiente para pasar a resuspenderlas utilizando una pipeta, hasta el momento que la muestra estaba homogénea (este paso se repitió 2 veces) y 72 horas después se aplicó vortex durante 30 segundos. Añadimos 100 µl de solución PPS (Protein Precipitation Solution) y llevamos al vortex durante 20 segundos para incubar en congelador durante 20 minutos asegurándonos que la muestra no se congelara para llevar a vortex durante 10 segundos. Se centrifugaron por 5.5 minutos a 12,000 rpm para recuperar el sobrenadante con pipeta y pasarlo a un tubo nuevo. Se agregaron

600 µl de isopropanol frío para mezclar la muestra por inversión durante 1 minuto. En este paso el ADN ya era visible, se guardó la muestra dentro del congelador durante toda la noche y se centrifugo por 3 minutos a 12,000 rpm para desechar el sobrenadante y drenar los residuos sobre papel absorbente. Se añadieron 500 µl de etanol frío al 70% y se invirtió durante 1 minuto para lavar el paquete celular y se centrifugo a 3 minutos a 12,000 rpm para desechar el etanol por decantación y dejando secar a temperatura ambiente toda la noche con los tubos abiertos, para finalmente agregar 200 µl de agua estéril, mezclando en vortex durante 20 segundos y se dejó reposar durante 1 hora a temperatura ambiente. Las muestras se almacenaron a -20°C.

Cuantificación de ácidos nucleicos

Se determinó la concentración del ADN utilizando un NanoDrop 2000 UV- Vis Spectrophotometer (Thermo Scientific); Se determinó también la pureza de la muestra al obtener la relación de absorbancias 260/280, para los análisis posteriores (Desjardins & Conklin, 2010).

Diluciones y concentraciones de los ácidos nucleicos

Antes de ingresar la muestra al Nanodrop, se configuró el software eligiendo la opción de ácidos nucleicos, longitud de onda a 340nm/µL; se creó un archivo para guardar las mediciones, se midió 1 µL de agua desionizada o inyectable después eligió la opción blank en el software. Una vez terminada la calibración se limpiaron las superficies ópticas con un paño kimwipes®. Se colocó 1 µL de muestra de ácidos nucleicos a la superficie óptica inferior, se seleccionó la opción “medir” en el software y el equipo cuantificó de manera automática las concentraciones de ácidos nucleicos; al concluir la medición se limpió el pedestal, se revisó la salida espectral, verificando que los valores estuvieran dentro de la relación 260/280 y los nanogramos de producto genómico al mismo tiempo de la lectura se graficaron con la imagen espectral en el software (Desjardins & Conklin, 2010).

Se utilizó la siguiente fórmula:

$$(Concentración\ 1)\ (Volumen\ 1) = (Concentración\ 2)\ (Volumen\ 2)$$

Por ejemplo, si la muestra originalmente tiene una concentración de 100 ng/μl de ADN y se necesita llevarla a 5 ng/μl para que pueda ser leída por el termociclador y se requiere tener 500μl de stock:

Se despeja la fórmula $V_1 C_1 = V_2 C_2$, la cual quedará de esta manera: $V_1 = \frac{V_2 C_2}{C_1}$

Si se quiere tener un volumen final de 500 μl, se reemplazan los datos:

$$V_1 = \frac{(500\mu l)(5ng/\mu l)}{100ng/\mu l}$$

Finalmente, la fórmula quedará así:

$$V_1 = 25\mu l\ de\ ADN + 475\mu l\ de\ agua\ estéril = V_F\ 500\mu l$$

para tener un ADN con volumen final de 500 μl con una concentración de 5 ng/μl.

La fórmula se introdujo en el software office Excel para agilizar los tiempos de los cálculos y llevar las alícuotas al volumen y concentración deseada.

6.6. Genotipificación de los polimorfismos en genes candidatos

Se analizaron dos SNPs candidatos en población mestizo-mexicana con las variaciones de cuello femoral y espina lumbar (tablas III y IV). Se utilizó la técnica PCR en tiempo real con el equipo QuantStudio 7 Flex™ y el software versión 1.3 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE.UU.)

Tabla III. Información de los SNPs analizados

Gene	Posición del gen	SNP	Posición en el gen
<i>WNT16</i>	7:121334711	rs3801387	Intrón
<i>SOX6</i>	11:15688538	rs7108738	Intrón

Técnica PCR en tiempo real

La PCR (reacción en cadena de la polimerasa) es un método *in vitro* de síntesis de ADN con el que un segmento específico es amplificado y delimitado por un par de cebadores que lo flanquean. Su copiado es en forma exponencial durante la repetición de ciclos de diferentes tiempos y temperaturas de incubación en presencia de una enzima ADN polimerasa termoestable. Por lo tanto, en cuestión de horas es posible obtener la secuencia deseada del ADN. Gracias a su rapidez, sensibilidad y versatilidad para detectar cantidades mínimas del ADN en estudio. Esta técnica fue desarrollada por Mullis en 1990.

Higuchi y colaboradores en 1992 fueron los primeros en sentar las bases para mejorar la técnica. La qPCR se ha convertido en una técnica que permite detectar y cuantificar los ácidos nucleicos con el uso de reporteros fluorescentes en la reacción y es conocida como “PCR en tiempo real” ya que el producto de amplificación es monitoreado conforme avanza la reacción lo que ya no se necesita hacer lectura de los fragmentos amplificados en un gel de agarosa (Rodríguez-Sánchez et al., 2004).

Actualmente este método es el más sensible para detección y cuantificación de ácidos nucleicos y garantiza una alta sensibilidad, especificidad y eficiencia (Tamayo de Dios et al., 2013).

Para la caracterización genotípica de las participantes se determinaron las frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos en la población completa estudiada. Se comprobó que cumplieran el Equilibrio de Hardy-Weinberg el cual establece que bajo ciertas condiciones se mantiene el equilibrio de las frecuencias genotípicas de generación a generación.

Tabla IV. Sondas Taqman® para los SNPs

ID	Alelos	Localización	Secuencia VIC/FAM
rs3801387	Ancestral: A	7:121334711	TGATTCCCCTTGGTTTCTGACACC[A/G]
	MAF: G		TTCCTAAACTTATGACTCCAAGAAT
rs7108738	Ancestral: T	11:15688538	CCAGCATTGACCAGCTTCTCTTTGC[G/T]
	MAF: G		GCCAACCATATTCCCCTTTCAGTTT

MAF= Minor Allele Frequency, SNP Genotyping Analysis Using TaqMan® Assays (Applied Biosystems®, 2017).

Principio de las sondas Taqman®

Es un método específico que sigue el principio de “transferencia de resonancia fluorescente” o un “quencher” basado en sondas fluorescentes de oligonucleótidos etiquetados con un reportero fluorescente y un quencher, ambos se encuentran unidos mientras la sonda no hibride a su secuencia blanco. Cuando hibrida, ocurren cambios conformacionales en el reportero y el quencher, esto permite que la actividad exonucleasa 5'-3' de la Taq polimerasa rompa esta unión, logrando que la fluorescencia emitida por el reportero se libere y sea capturada por el equipo de qPCR. Por lo tanto, mientras no haya unión de la sonda a su blanco, no habrá amplificación y tampoco señal de fluorescencia, por lo que su especificidad es muy alta (Tamayo de Dios et al., 2013). En este estudio se utilizaron las “sondas Taqman™” compuestas por dos oligonucleótidos específicos de la secuencia, según el SNP de interés (figura 8). Uno para identificar el alelo del SNP marcado en el extremo 5' con el fluoróforo VIC™ para el alelo 1 y FAM™ para el alelo 2. Así como una molécula “quencher” unida al fluoróforo TAMRA™, que inhibe la fluorescencia mientras la sonda esta sin trabajar. La ADN Taq polimerasa funciona como una exonucleasa para liberar el fluoróforo, si esta unión no ocurre no es posible que se identifique fluorescencia. El aumento de la fluorescencia ocurre únicamente cuando la secuencia del gen en estudio amplificada es complementaria a la sonda. Por lo tanto, la señal de fluorescencia generada por la amplificación por PCR indica los alelos que hay en la muestra (Adaptación de Thermofisher, 2015).

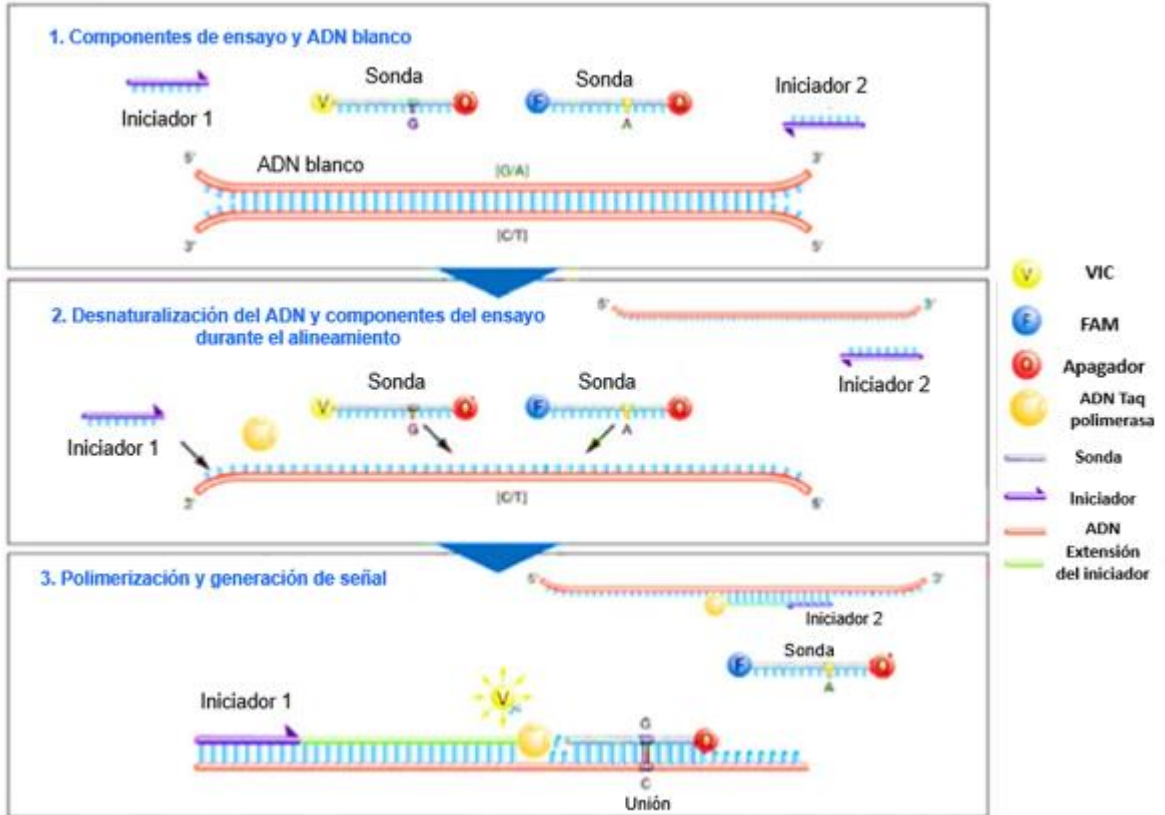


Figura 8. Representación de la técnica PCR-TR con Sondas Taqman®

Metodología para la obtención de los genotipos

- El ADN genómico se introduce en una mezcla de reacción que consiste en Master Mix, cebadores forward 5' y reverse 3' y dos sondas TaqMan®. Para este estudio utilizamos las cantidades y concentraciones que se muestran en la tabla V para preparar las reacciones de cada muestra.
- Se cuantificó el ADN de cada una de las muestras en el equipo Nanodrop 2000-Vis Spectrophotometer y se realizaron diluciones a concentración de 100 ng/μl para guardar stock, este paso permitió prevenir pérdidas de muestras originales y realizar posibles repeticiones en caso de que fuera necesario.

- Posteriormente se realizaron placas maestras con diluciones de ADN a 5 ng/ μ l para un volumen final de 60 μ l, de cada muestra y a partir de estas se hicieron las repeticiones para las placas que se necesitaron.
- Las placas contaban con 96 pocillos, de los cuales 6 quedaban libres de muestra de ADN para colocar controles en estos.
- El ADN genómico se introduce en una mezcla de reacción que consiste en Master Mix, cebadores forward 5' y reverse 3' y dos sondas TaqMan®. Para este estudio utilizamos las cantidades y concentraciones que se muestran en la tabla V para preparar las reacciones de cada muestra.
- Para mayor agilidad y precisión se utilizó la pipeta multicanal que se llevó a un volumen de 10 μ l para cada pocillo, finalmente cubrimos la placa con la película adhesiva y se cubrieron con papel aluminio hasta el momento que se iba a introducir al termociclador fueron descubiertas.

Tabla V. Máster mix para PCR-TR

Reactivos	Concentración de solución Stock	Volumen final (μ l)	256 Reacciones (μ l)	Concentración final
Máster mix	2X	4.875	1246.7	1X
Sonda	40X	0.125	32	0.5X
Muestra	5X	5		20ng
Volumen final por pocillo		10	1278.7	

(μ l)=microlitros, ng= nanogramos

Tabla VI. Material y equipo necesario para realizar la PCR-TR

Micropipeta (0 - 10 μ L)	Espectrofotómetro NanoDrop 2000
Puntillas para micropipeta (0 – 10 μ L)	
Micropipeta (10 – 100 μ L)	PCR-Cooler (Eppendorf®)
Puntillas para micropipeta (10 – 100 μ L)	Microcentrífuga
Pipeta multicanal (0-10 μ L)	
Puntillas para pipeta multicanal	Agua estéril o inyectable
Tubos eppendorf de 1.5 ml	
Tubos en tira eppendorf de 0.2mL	PCR-Cooler (Eppendorf®)
	Vórtex
Placas de 96 pocillos (Applied Biosystem®)	Termociclador QuantStudio™
Cubierta adhesiva para placas de qPCR	PC con Software Quantstudio™
MicroAmp optical adhesive film	versión 1.3
(Applied Biosystem®)	

Una vez identificado el material, se continuó con la preparación de la plantilla en el Software del termociclador (Quantstudio versión 1.3. (AppliedBiosystems, Foster City, CA), se le indicó las condiciones de temperatura, cantidad de ciclos, se programaron las sondas para los SNPs rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* y los reporteros VIC/FAM para empezar a correr la PCR-TR (tabla VII).

Tabla VII. Condiciones de temperatura del termociclador

Etapa	Número de ciclos	Tiempo	Temperatura (°C)
1	1	30 segundos	60
2	1	10 segundos	95
3	45	15 segundos	95
	-	1 minuto	60
4	1	30 segundos	60

6.7. Frecuencias alélicas y genotípicas

Los datos fueron compilados en Excel, donde se generó una nueva base de datos con los genotipos de la población de estudio. Las variaciones alélicas están conformadas por dos alelos. El de mayor frecuencia, mejor conocido como ancestral, o *wild type*, y el de menor frecuencia como el MAF (*minor allele frequency*). Y posteriormente se realizó el análisis de las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* en el software estadístico STATA SE 12 (figuras 9 y 10).

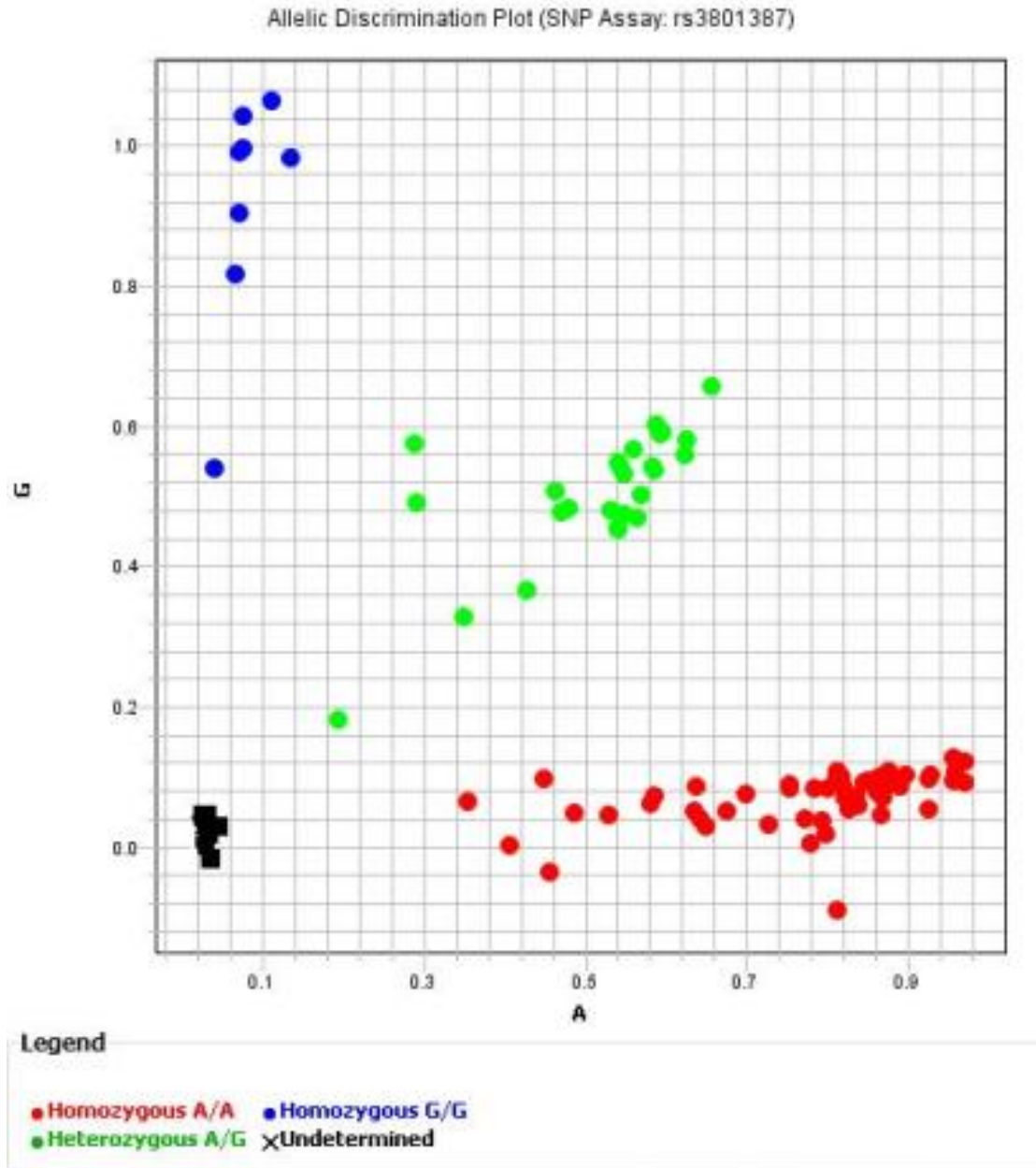


Figura 9. Gráfica de amplificación y discriminación alélica del SNP rs3801387 del gen *WNT16*. Los genotipos homocigotos aditivos A/A se muestran en puntos color rojo, los homocigotos recesivos G/G en color azul y los heterocigotos A/G con color verde.

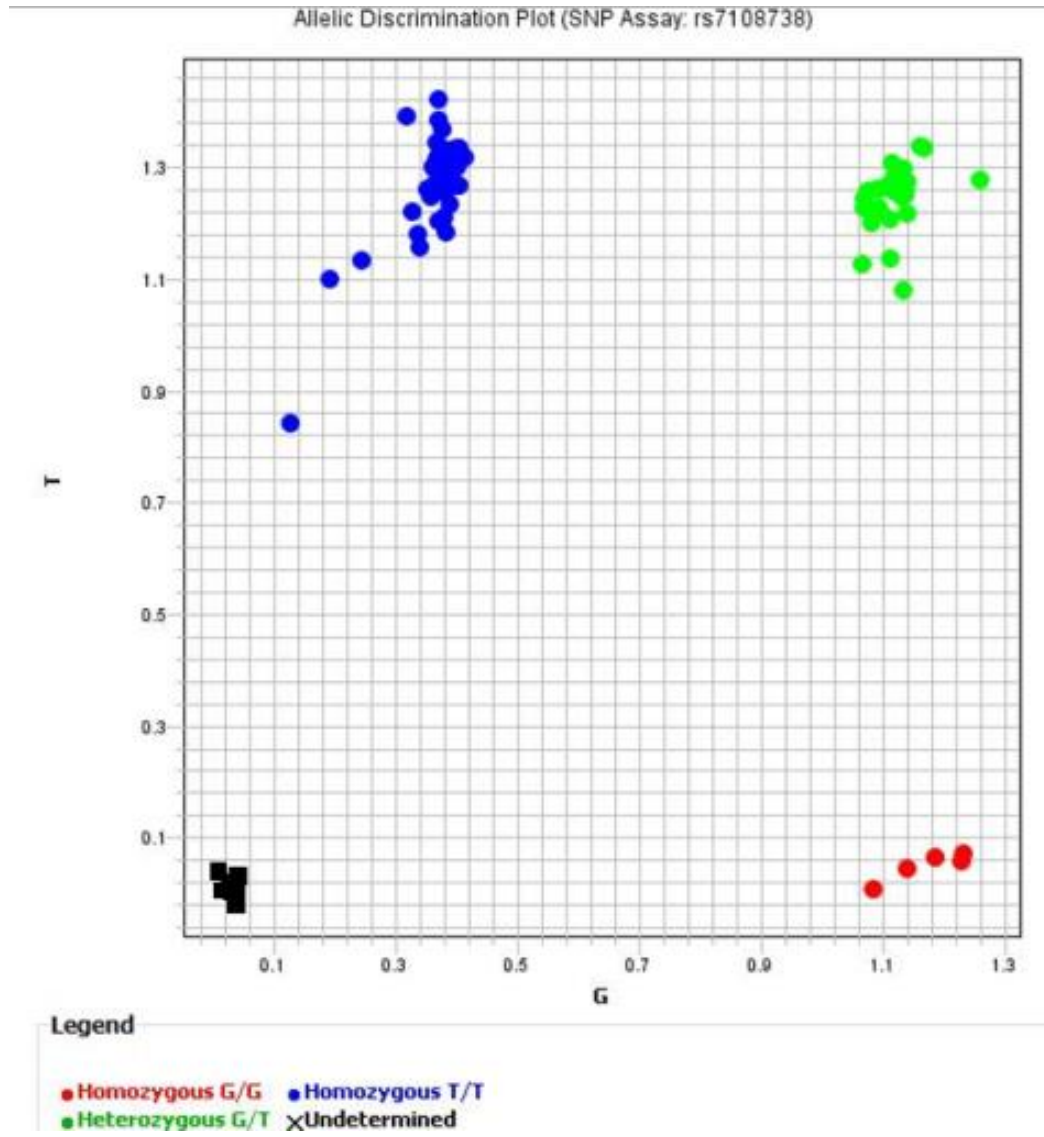


Figura 10. Gráfica de amplificación y discriminación alélica del SNP rs3801387 del gen *WNT16*. Los genotipos homocigotos aditivos T/T se muestran en puntos color azul, los homocigotos recesivos G/G en color rojo y los heterocigotos G/T en color verde.

6.8 Equilibrio de Hardy-Weinberg

El principio de Hardy-Weinberg indica si las frecuencias que se observan en la población para cada uno de los genotipos en función de los alelos están en equilibrio. Se puede observar un genotipo en concreto dependiendo de las frecuencias de cada alelo, lo que quiere decir es que la transmisión de los alelos de los progenitores a los descendientes es independiente y no ocurren fenómenos distorsionadores, como la aparición frecuente de nuevas mutaciones o la selección de alelos, entonces se pueden observar un genotipo en concreto dependiendo de las frecuencias de cada alelo. Después de conocer las frecuencias alélicas, se analizó el equilibrio de Hardy-Weinberg, utilizando pruebas de chi cuadrada.

6.9 Codificación de variables y modelos de herencia

Los genotipos obtenidos fueron codificados para la base de datos de acuerdo con la metodología de Iniesta (2005). Para cada polimorfismo se analizaron los modelos de herencia aditivo (0 vs 1 vs 2), dominante (0 vs 1+2) y recesivo (0+ 1 vs 2). El modelo aditivo tiene la característica de analizar las diferencias entre cada genotipo con respecto a las variables dependientes asociadas a la DMO y en los modelos recesivo y dominante se evalúa el efecto de los alelos individualmente.

6.10 Análisis y pruebas estadísticas

Los resultados obtenidos permitieron incrementar la base de datos electrónica (Escamilla-Méndez, 2016); una vez concentrados los datos, se analizó la población completa y se realizó el análisis de la estadística descriptiva e inferencial.

Se comprobó la distribución no paramétrica de los datos y se obtuvieron los valores de mediana con rangos en percentil 25° y 75°. Para realizar el análisis de las frecuencias genotípicas y alélicas se utilizó la prueba de Chi cuadrada.

El análisis estadístico de asociación entre las variables independientes y dependientes cuantitativas se realizó mediante pruebas de regresión lineal simple, empleando los diferentes modelos de herencia. Se consideraron significativos los valores de probabilidad menores a 0.05. El análisis estadístico se realizó con los Softwares SPSS 22 y STATA SE 12.

7 CONSIDERACIONES ÉTICAS

Los datos de las mujeres que participaron en estudios anteriores y que actualmente forman parte de la base de datos inicial, firmaron un consentimiento informado en el proyecto anterior (Número de registro 15-FASPYN-SA-15) (Escamilla-Méndez, 2016). Las participantes recién reclutadas firmaron un consentimiento informado (Anexo I) donde aceptan donar sus muestras y estar de acuerdo con el uso de estas con la finalidad de contribuir a la investigación y en estudios derivados o posteriores de los mismos en los que pudiera ser útil el análisis de sus muestras y la información obtenida a partir de ellas. La carta de consentimiento informado se realizó en base a lo propuesto en el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud y por la NOM-004-SSA3-2012 para documentar que identifican el objetivo de la investigación, riesgos y beneficios, así como para respetar acuerdos de confidencialidad acorde a la Declaración de Helsinki.

La información de las participantes se identificó mediante un número de folio para proteger su privacidad y los datos se manipularon de manera grupal para realizar el análisis estadístico identificándolos mediante claves asignadas a cada muestra. Las pacientes recibieron sus resultados de DXA a través de correo electrónico, junto con los datos del análisis que se realizó con su muestra sanguínea en formato PDF y la lista de alimentos altos en calcio que provee la PROY-NOM-049-SSA2-2017, a cada paciente se le realizó una llamada

telefónica para conocer si habían recibido sus resultados y se les explico de mejor manera los mismos y se les agradeció por haber participado en el protocolo.

8 IMPLICACIONES Y MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD

Los residuos generados durante la genotipificación se desecharon cumpliendo con la normativa correspondiente descrita en la NOM-087-ECOL-SSA1-2002. En esta investigación no se utilizaron dispositivos generadores ionizantes, ni electromagnéticos, así como isotopos radioactivos ni material biológico peligroso.

9 RESULTADOS

El tamaño de muestra analizado fue de 256 participantes mexicanas postmenopáusicas de 50 a 80 del Norte de México, el proyecto inició con una base de datos de 200 folios (Escamilla-Méndez, 2016), de las cuales se excluyeron 28 por carencia de muestra de ADN, datos incompletos, parentesco familiar, no se pudo obtener la muestra de sangre o el ADN no era adecuado para la genotipificación. Se pudieron recuperar 172 folios con expediente completo y suficiente muestra de ADN. Adicionalmente, durante el período Octubre a Diciembre de 2019 se reclutaron 88 participantes de las cuales solo se obtuvieron datos completos de 84 para finalmente tener una muestra total de 256 MPP. Al realizar la estadística descriptiva para las características generales de la población observamos que algunos de los resultados no cumplían el supuesto de normalidad por lo que se manipularon como no paramétricos y se presentan en medianas (Tabla VIII).

Tabla VIII. Características generales de la población estudiada (N = 256)

Variable	Mediana (p25-p75)
Edad (años)	56.33 (52.39-61.35)
Peso (kg)	68.57 (60.81-76.93)
Estatura (cm)	155.85 (152.02-159.57)
IMC (kg/m ²)	27.80 (25.48-31.48)
Presión sistólica (mmHg)	116.00 (105.00-127.00)
Presión diastólica (mmHg)	72.00(65.00-80.00)
Grasa (%)	44.85 (41.30-48.82)
DMO (g/cm²)	
DMO_CT	1.081 (1.008-1.153)
DMO_CF	0.705 (0.633-0.824)
DMO_DF	0.950 (0.850-1.054)
DMO_TW	0.716 (0.627-0.832)
DMO_TR	0.740 (0.663-0.848)
DMO_D	1.138 (1.014-1.267)
DMO_L2_L4	1.040 (0.932-1.168)

DMO_CT= DMO en cuerpo total, DMO_CF= DMO en cuello femoral, DMO DF= DMO en dual de fémur, DMO_TW= DMO en triángulo de Wards, DMO_TR= DMO en trocánter, DMO_D= DMO en diáfisis y DMO_L2_L4= DMO en lumbares L2-L4.

Clasificación de la población por grupos

Al estratificar el grupo de estudio se encontró que el 67% perteneció al grupo normal y el 33% al grupo OPE/OP, conforme al T-score mostrado en la región de dual de fémur y la clasificación propuesta por la OMS (1984). La mediana de edad de las participantes fue mayor en el grupo de OPE/OP con 58.56 años, presentando preobesidad con un IMC de 26.86 kg/m² y una marcada diferencia entre las DMO de dual de fémur de ambos grupos (Tabla IX). Las variables generales y de DMO se sometieron a la prueba estadística U de Mann-Whitney, en las que se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos.

Tabla IX. Características generales de la población por grupos.

Variable	Normal N=172 67%	OPE/OP N=84 33%	p-value
	Mediana (p25-p75)		
Edad (años)	55.00 (51.51-60.00)	58.56 (54.53-64.86)	<0.001
Peso (kg)	70.20 (62.95-79.40)	62.75 (59.05-71.82)	<0.001
Estatura (cm)	156.15 (152.55-159.45)	155.70 (151.25-160.20)	<0.001
IMC (kg/m ²)	29.54 (25.68-32.42)	26.86 (24.63-29.39)	<0.001
Grasa (%)	45.70 (42.10-49.60)	43.10 (40.01-46.80)	0.001
	DMO (g/cm ²)		
DMO_CT	1.114 (1.054-1.171)	1.005 (0.957-1.060)	<0.001
DMO_CF	0.772 (0.685-0.853)	0.631 (0.583-0.685)	<0.001
DMO_DF	1.000 (0.942-1.090)	0.820 (0.770-0.860)	<0.001
DMO_L2_L4	1.095 (0.971-1.205)	0.954 (0.872-1.065)	<0.001
DMO_TW	0.783 (0.710-0.886)	0.602 (0.551-0.653)	<0.001
DMO_TR	0.790 (0.726-0.881)	0.654 (0.603-0.703)	<0.001
DMO_D	1.215 (1.115-1.326)	0.994 (0.938-1.069)	<0.001

U de Man Whitney. N=256 p-value <0.05.

DMO_CT= DMO en cuerpo total, DMO_CF= DMO en cuello femoral, DMO DF= DMO en dual de fémur, DMOL2_L4= DMO en lumbares L2-L4, DMO_TW= DMO en triángulo de Wards, DMO_TR= DMO en trocánter, DMO_D= DMO en diáfisis.

Frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* en el grupo de estudio

Se analizaron las frecuencias alélicas y genotípicas de los SNPs rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* (Tabla X). Las frecuencias genotípicas se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg ($P>0.05$).

Las MPP del Norte de México mostraron para el SNP rs3801387, el genotipo AA con una frecuencia del (59.0%), el genotipo AG con una frecuencia del 35.2% y el genotipo GG (5.9%) y el alelo de menor frecuencia (MAF) fue G (35.0%). El genotipo de mayor frecuencia para el rs7108738 fue TT con el 59.8%, el de menor frecuencia fue GG (6.3%) y G se mostró como el MAF (37%).

Tabla X. Frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6*.

SNPs Frecuencias genotípicas y alélicas	rs3801387 <i>WNT16</i>		rs7108738 <i>SOX6</i>		
	Frecuencia	%	Frecuencia	%	
	Genotipos				
AA	151	59.0	TT	153	59.8
AG	90	35.2	TG	87	34.0
GG	15	5.9	GG	16	6.3
	Alelos				
A	331	65.0	T	322	63.0
G	181	35.0	G	190	37.0
EHW	0.728		0.482		

N= 256 EHW= Equilibrio de Hardy-Weinberg

Frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* en el grupo de estudio clasificados por grupo normal y OPE/OP

La tabla XI muestra las frecuencias alélicas y genotípicas en cada grupo. En el rs3801387 del gen *WNT16* el alelo G fue el menos frecuente en ambos grupos, aunque se muestra más frecuente en OPE/OP (25.0%), el genotipo GG fue el menos frecuente más notablemente en grupo Normal (5.20%) que en el fenotipo de OPE/OP (7.1%). El alelo G (22.0%) se mostró como el alelo de riesgo en el rs7108738 del gen *SOX6* en el grupo de OPE/OP, en este mismo grupo el genotipo GG (7.1%) mostró menor frecuencia. Las diferencias entre ambos grupos no fueron significativas.

Al comparar las frecuencias alélicas y genotípicas de los SNPs rs3801387 y rs7108738 en grupo normal y OPE/OP con la prueba de Chi²; no mostraron diferencias de las frecuencias genotípicas y alélicas, resultando valores de P >0.05.

Tabla XI. Frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* por grupos.

SNPs	Genotipo	Normal N=172		OPE/OP N=84		P-value*
		F	%	F	%	
rs3801387 <i>WNT16</i>	AA	103	59.90	48	57.10	0.805*
	AG	60	34.90	30	35.70	
	GG	9	5.20	6	7.10	
	A	266	77.33	126	75.00	
	G	78	22.67	42	25.00	
rs7108738 <i>SOX6</i>	TT	100	58.10	53	63.10	0.592*
	TG	62	36.00	25	29.80	
	GG	10	5.80	6	7.10	
	T	262	76.16	131	77.98	
	G	82	23.84	37	22.02	

P-value>0.05 Chi²*

Asociación del polimorfismo rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* en grupo normal y OPE/OP en mujeres postmenopáusicas del Norte de México

Para analizar la asociación de los polimorfismos de los genes *WNT16* y *SOX6* se utilizó la prueba estadística “regresión lineal simple”, usando como covariables de ajuste edad e IMC. Para cada polimorfismo se analizaron los modelos de herencia aditivo (0 vs 1 vs 2), dominante (0 vs 1+2) y recesivo (0+ 1 vs 2).

En la tabla XII se muestran los valores de medianas de los resultados de la asociación de la DMO en distintas regiones óseas analizadas (g/cm^2), junto con sus rangos de variación, valores de β estandarizada, intervalos de confianza (IC 95%), valores de P ajustada por edad e IMC así como el modelo de herencia analizado en la población de estudio.

El análisis de asociación del polimorfismo rs3801387 del gen *WNT16* en las MPP del Norte de México, no mostro asociación con las DMO de las distintas regiones óseas en la muestra completa (tabla XII) lo que indica que los valores de DMO obtenidos son similares entre los diferentes genotipos.

El análisis de regresión lineal simple del SNP rs7108738 del gen *SOX6* mostró asociación significativa (tabla XIII) con la DMO de dual de fémur en el modelo dominante (p-value 0.042) y modelo aditivo (p-value 0.032).

Tabla XII Asociación del polimorfismo rs3801387 del gen *WNT16* en MPP del Norte de México.

Variable	AA N=151 Mediana (p25-p75)	AG N=90 Mediana (p25-p75)	GG N=15 Mediana (p25-p75)	β	(95%IC)	P ^a	Modelo
DMO CT	1.087 (1.022-1.158)	1.076 (0.987-1.153)	1.021 (0.984-1.170)	-0.078	(-1.039,0.332)	0.311	Dominante
				-0.056	(-0.448,0.206)	0.468	Recesivo
				-0.085	(-1.318,0.369)	0.269	Aditivo
DMO CF	0.726 (0.643-0.839)	0.700 (0.628-0.821)	0.674 (0.576-0.776)	-0.074	(-0.793,0.257)	0.315	Dominante
				-0.089	(-0.405,0.095)	0.223	Recesivo
				-0.095	(-1.069,0.222)	0.198	Aditivo
DMO DF	0.950 (0.860-1.060)	0.925 (0.830-1.032)	0.970 (0.850-1.040)	0.011	(-0.355,0.421)	0.866	Dominante
				0.055	(-0.108,0.262)	0.413	Recesivo
				0.031	(-0.368,0.588)	0.650	Aditivo
DMO L2_L4	1.041 (0.938-1.188)	1.030 (0.931-1.137)	1.092 (0.850-1.252)	-0.049	(-0.519,0.238)	0.465	Dominante
				0.026	(-0.144,0.217)	0.692	Recesivo
				-0.029	(-0.571,0.362)	0.660	Aditivo
DMO TW	0.719 (0.645-0.847)	0.710 (0.604-0.814)	0.685 (0.638-0.767)	-0.038	(-0.550,0.305)	0.573	Dominante
				0.005	(-0.197,0.211)	0.943	Recesivo
				-0.029	(-0.641,0.411)	0.667	Aditivo
DMO TR	0.750 (0.670-0.856)	0.739 (0.665-0.848)	0.663 (0.629-0.780)	-0.028	(-0.678,0.463)	0.711	Dominante
				-0.11	(-0.475,0.068)	0.141	Recesivo
				-0.066	(-1.013,0.391)	0.384	Aditivo
DMO D	1.137 (1.012-1.276)	1.153 (1.011-1.269)	1.043 (1.028-1.252)	0.002	(-0.381,0.390)	0.982	Dominante
				-0.051	(-0.247,0.120)	0.496	Recesivo
				-0.018	(-0.534,0.415)	0.806	Aditivo

Modelo de regresión lineal simple, ajustado por edad e IMC. N=256 IC= Intervalo de confianza P^a= Valor de P ajustada <0.05

DMO_CT= DMO en cuerpo total, DMO_CF= DMO en cuello femoral, DMO DF= DMO en dual de fémur, DMO_L2_L4= DMO en lumbares L2-L4, DMO_TW= DMO en triángulo de Wards, DMO_TR= DMO en trocánter, DMO_D= DMO en diáfisis.

Tabla XIII. Asociación del polimorfismo rs7108738 del gen SOX6 en MPP del Norte de México.

Región ósea DMO (g/cm ²)	TT N=153 Mediana (p25-p75)	TG N=87 Mediana (p25-p75)	GG N=16 Mediana (p25-p75)	β	(95%IC)	P ^a	Modelo
DMO_CT	1.080 (0.999-1.138)	1.104 (1.017-1.178)	1.078 (1.040-1.168)	0.076	(-0.337,1.024)	0.321	Dominante
				0.040	(-0.249,0.428)	0.603	Recesivo
				0.077	(-0.419,1.285)	0.318	Aditivo
DMO_CF	0.705 (0.633-0.804)	0.706 (0.640-0.848)	0.702 (0.592-0.876)	0.065	(-0.285,0.759)	0.372	Dominante
				-0.008	(-0.274,0.245)	0.914	Recesivo
				0.049	(-0.430,0.876)	0.502	Aditivo
DMO_DF	0.940 (0.830-1.030)	0.950 (0.860-1.060)	1.015 (0.827-1.140)	0.136	(0.015,0.780)	0.042	Dominante
				0.088	(-0.064,0.317)	0.193	Recesivo
				0.144	(0.046,1.002)	0.032	Aditivo
DMO L2_L4	1.034 (0.914-1.157)	1.068 (0.967-1.186)	1.045 (0.928-1.176)	0.096	(-0.099,0.651)	0.149	Dominante
				0.039	(-0.132,0.242)	0.563	Recesivo
				0.092	(-0.138,0.800)	0.166	Aditivo
DMO_TW	0.712 (0.612-0.816)	0.706 (0.651-0.852)	0.777 (0.569-0.945)	0.079	(-0.170,0.677)	0.240	Dominante
				0.075	(-0.092,0.329)	0.268	Recesivo
				0.093	(-0.157,0.902)	0.167	Aditivo
DMO_TR	0.732 (0.660-0.813)	0.767 (0.678-0.891)	0.718 (0.628-0.877)	0.107	(-0.153,0.977)	0.152	Dominante
				-0.027	(-0.332,0.231)	0.725	Recesivo
				0.075	(-0.346,1.070)	0.315	Aditivo
DMO_D	1.148 (1.010-1.248)	1.125 (1.028-1.315)	1.119 (0.961-1.278)	0.048	(-0.257,0.508)	0.519	Dominante
				-0.012	(-0.206,0.174)	0.870	Recesivo
				0.034	(-0.369,0.588)	0.652	Aditivo

Modelo de regresión lineal simple, ajustado por edad e IMC. N=256 IC= Intervalo de confianza P^a= Valor de P ajustada <0.05

DMO_CT= DMO en cuerpo total, DMO_CF= DMO en cuello femoral, DMO DF=DMO en dual de fémur, DMO_L2_L4=DMO en lumbares L2-L4, DMO_TW= DMO en triángulo de Wards, DMO_TR= DMO en trocánter, DMO_D= DMO en diáfisis.

Asociación del rs3801387 del gen *WNT16* y del rs7108738 del gen *SOX6* con susceptibilidad a OPE/OP

Se analizó el riesgo genético, para identificar si los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y el rs7108738 del gen *SOX6*, pueden predecir el riesgo de OPE/OP (Tabla XIV). El SNP rs3801387 de *WNT16* no mostró asociación significativa con OPE/OP bajo modelo aditivo ($p > 0.05$), dominante ($p=0.936$) ni recesivo ($p=0.677$).

Tabla XIV. Asociación del rs3801387 del gen *WNT16* con susceptibilidad a OPE/OP

Modelo de herencia	Genotipo	Normal N=172		OPE/OP N=84		OR (95% IC)	p-value
		F	%	F	%		
Aditivo	AA	103	60	48	57	referencia	
	AG	60	35	30	36	0.985 (0.543-1.785)	0.961
	GG	9	5	6	7	1.269 (0.393-4.096)	0.689
Dominante	AA	103	60	48	57	referencia	
	AG-GG	69	40	36	43	1.023 (0.581-1.800)	0.936
Recesivo	AA-AG	163	95	78	93	referencia	
	GG	9	5	6	7	1.276 (0.403-4.035)	0.677

Modelo ajustado por edad e IMC. IC= intervalo de confianza (95%), (P- value<0.05).

La tabla XV muestra los resultados del rs7108738 del gen *SOX6* donde no se encontró asociación con los modelos aditivo ($p>0.05$), dominante ($p=0.789$) recesivo ($p=0.950$) los cuales fueron analizados y ajustados por edad e IMC. Al momento de evaluar los P-value (>0.05) no se mostraron valores significativos, sino similares entre genotipos por lo que en nuestra muestra estos SNPs no pueden considerarse como de riesgo.

Tabla XV. Asociación del rs7108738 del gen *SOX6* con susceptibilidad a OPE/OP

Modelo de herencia	Genotipo	Normal N=172		OPE/OP N=84		OR (95% IC)	p-value
		F	%	F	%		
Aditivo	TT	100	58	53	63	referencia	
	TG	62	36	25	30	0.909 (0.494-1.670)	0.759
	GG	10	6	6	7	1.005 (0.314-3.216)	0.993
Dominante	TT	100	58	53	63	referencia	
	TG-GG	72	42	31	37	0.924 (0.521-1.638)	0.789
Recesivo	TT-TG	162	94	78	93	referencia	
	GG	10	6	6	7	1.037 (0.329-3.265)	0.950

Modelo ajustado por edad e IMC. IC= intervalo de confianza (95%), (P-value <0.05).

10 DISCUSION

La osteoporosis es una enfermedad esquelética, que se caracteriza por una masa ósea baja, su pérdida, de forma crónica y progresiva, provoca el deterioro micro arquitectónico del hueso y aumento del riesgo de fractura (Clark et al., 2016).

El estudio LAVOS 2012 reportó que de 807 mujeres y hombres mexicanos, el 30% de las mujeres tenía OPE y un 17% presentaba OP en espina lumbar y el 16% en dual de fémur. La prevalencia de OP y las fracturas vertebrales y de cadera aumentan a partir de los 50 años; reflejando altas tasas de mortalidad y un importante impacto económico al país (Clark et al, 2019).

En el tejido óseo, durante toda la vida se lleva a cabo la remodelación ósea. Este proceso es indispensable para mantener la calidad del hueso y las concentraciones de calcio en los fluidos corporales, cuando este mecanismo es interrumpido se desarrolla OPE/OP (Kobayashi et al., 2018).

La pérdida de densidad ósea en postmenopausia se ha asociado con el factor genético del 45 al 78%; según la etnia a la que pertenecen, región ósea y edad. Por esta razón es importante que las prevalencias sean específicas de cada país (Johnell et al., 2011; Clark et al., 2016).

Recientes estudios de asociación de DMO en diferentes poblaciones, han demostrado que el gen *WNT16* y *SOX6* se asocian con variaciones en regiones específicas como; dual de fémur, cuello femoral, espina lumbar y muñeca en poblaciones de mujeres europeas-americanas, de ascendencia europea, del este de Asia y mexicana, a lo que se le atribuye la heredabilidad de la OPE/OP.

Debido a la falta de información de estos genes en individuos del norte de México, el objetivo general de esta investigación fue evaluar la asociación de los SNPs rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* con el fenotipo OPE/OP en mujeres postmenopáusicas del Norte de México.

Para el primer objetivo se utilizó el DXA para la medición de DMO de dual de fémur y diferentes regiones óseas para agrupar a la población en “Normal” y “OPE/OP” a partir del T-score -1.0 SD en una muestra de 256 MPP, de acuerdo con los criterios de la OMS 1994.

Los resultados encontrados fueron contrastados con los de otros autores, la población de nuestro estudio presentó sobrepeso con IMC de 27.8 kg/m^2 , similar al mostrado por Carranza Lira (2016) en población de Nuevo León (27.7 kg/m^2). En nuestra muestra, el grupo normal mostró un IMC de 29.5 kg/m^2 interpretándose como pre-obesidad y 26.8 kg/m^2 para OPE/OP indicando sobrepeso, según la NOM-043-SSA2-2012. En la ENSANUT 2018 se reporta que de 3,233 mexicanas de 50 a 59 años; el 35.6% mostró tener sobrepeso y el 48.4% obesidad. Diversos estudios han reportado que las MPP de Arabia en grupo normal y OPE/OP presentan obesidad, mientras que las mujeres de Tailandia con DMO normal y en OPE/OP reportan un IMC normal. Las MPP del sureste de Europa han reportado presentar obesidad, en grupo normal y sobrepeso en OPE/OP (tabla XVI).

Esto podría ser explicado por la inflamación crónica de bajo grado ocasionada por el sobrepeso u obesidad permite que el tejido adiposo secrete hormonas y adipocinas como leptina, adiponectina y estrógenos. A mayor masa corporal se ha visto una asociación con el aumento de la carga mecánica que estimula el crecimiento de la masa ósea como respuesta, mientras que el aumento de masa grasa con el aumento en la conversión de andrógenos a estrógenos, lo que estimula la activación del metabolismo óseo (López-Gómez et al., 2016).

Las MPP de nuestro estudio mostraron tener un 45.7% de grasa corporal para el grupo normal y 43.1% para OPE/OP, estos valores son similares a los reportados para MPP del centro de México 45.6% (Paredes-Rivera et al., 2018). Estos datos demuestran que, según la región a la que pertenezca el grupo de estudio, es el impacto que genera la etnia, en este caso de la ascendencia europea y amerindia que predominan particularmente en población mestiza del norte y del centro de México. A nivel nacional la población mestiza predomina en un 93% de los

mexicanos esto puede sugerir que las poblaciones presenten un porcentaje de grasa corporal similar y diferentes factores como los genéticos, hábitos y costumbres de salud de la población (Rubí-Castellanos et al., 2009). A diferencia de un estudio realizado en población de MPP de Norteamérica tuvieron un porcentaje de grasa menor (36.8%) que las del centro de México y de nuestro estudio, esto confirma las notorias diferencias entre poblaciones según a la región que pertenecen (Banack et al., 2017).

Los valores de DMO de las MPP en nuestro estudio, coinciden con los reportados por Hidalgo-Bravo et al., 2019 en MPP de Ciudad de México y no difieren de las MPP de Cuernavaca, Morelos en la región de espina lumbar L2-L4, posiblemente por que la edad de las MPP es similar a la de este estudio y los resultados también fueron expresados en medianas (tabla XVI).

En un estudio realizado en distintas regiones de México se reportó; que las mujeres de 20 a 40 años del norte de México tenían valores de DMO mayores que las mujeres del centro y sur del país, y similar a las de nuestro estudio en regiones de; cuello femoral, posiblemente por el rango de edad que ellos utilizaron para su muestra, sus valores de DMO de columna son iguales a los de nuestra población, probablemente porque en ese estudio se incluyeron participantes del norte de México (Mexicali, Monterrey, Obregón, Hermosillo y Durango) (tabla XVI). Es posible que las variaciones de DMO sean por la influencia de los diferentes estilos de vida y diferentes grados de susceptibilidad genética de la población estudiada (Delezé et al., 2000; González-Peña, 2014).

La densidad mineral ósea se ha evaluado en otros países y al comparar los resultados por grupos de las MPP de nuestro estudio; se obtuvo una DMO menor en cuello femoral en comparación con las de Arabia, pero valores similares al comparar la espina lumbar. Los resultados del grupo Normal de nuestra muestra en contraste con las MPP de Arabia fueron similares en espina lumbar.

En Tailandia en un estudio de MPP con edad promedio de 53 años dividido en MPP normales y con OPE/OP, presentaron una DMO mayor en cuello femoral en comparación con las de nuestro estudio y valores de DMO similares en dual de

fémur y espina lumbar. En contraste con las MPP del grupo normal, que mostraron similitud en regiones de cuello femoral, dual de fémur y espina lumbar con respecto a nuestros resultados (Utennam et al., 2012).

Las MPP del Sureste de Europa mostraron una DMO en dual de fémur similar al de las mujeres de nuestro estudio (Ciubean et al., 2019). Una de las razones de estos hallazgos es que México tiene una alta proporción de población mestiza, resultado de la mezcla de raza indígena y blanca (europea) y finalmente una baja proporción de raza africana, por lo tanto, se ha confirmado la heredabilidad de las variaciones de la DMO por la influencia de los factores genéticos y étnicos (Delezé et al., 2000).

Tabla XVI. Densidad mineral ósea en diferentes poblaciones de MPP

Población	DMO Normal					DMO OPE/OP				
	Edad	IMC	CF	L2_L4	DF	Edad	IMC	CF	L2_L4	DF
256 MPP Monterrey, N.L. (Este estudio, 2020)	55 (51.5-60.0)	29.5 (25.6-32.4)	0.772 (0.685-0.853)	1.095 (0.971-1.205)	1.000 (0.942-1.090)	58 (54.5-64.8)	26.83 (24.6-29.3)	0.631 (0.583-0.685)	0.954 (0.872-1.065)	0.820 (0.770-0.860)
320 MPP Guadalajara González-Mercado et al., 2013	56.3 ±4.98	29.33 ±4.3	1.004 ±0.087	1.174 ±0.108 L1_L4	ND	57.5 ±5.93	29.34 ±4.18	0.876 ±0.097	0.976 ±0.047	ND
4460 Mujeres 20-90 años Delezé et al., 2000	Norte de México	53.2 ±12.4	27.0 ±4.7	0.895 ±0.14	1.089 ±0.18 L1_L4	ND	ND	ND	ND	ND
	Centro	53.6 ±11.3	25.7 ±4.0	0.864 ±0.14	1.065 ±0.17 L1_L4	ND	ND	ND	ND	ND
	Sur	54 ±13.9	26.6 ±3.5	0.844 ±0.14	1.013 ±0.19 L1_L4	ND	ND	ND	ND	ND
175 MPP Arabia Mohamed 2020	55 ±31.4	33.5 ±5.7	1.020 ±0.11	1.200 ±0.1	ND	56.2 ±8.3	31.80 ±8.3	0.850 ±0.12	0.900 ±0.1	ND
Tailandia 95/278 Utennam et al., 2012	53 (36.0-72.0)	24.5 (19.35-39.54)	0.926 (0.712-1.224)	1.158 (0.850-1.485)	1.054 (0.788-1.322)	58.5 (41.0-75.0)	22.63 (15.41-33.41)	0.775 (0.289-1.670)	0.937 (0.496-1.401)	0.775 (0.229-1.089)
364 MPP Europa Ciubean, 2019	63 ±8.16	30.5 ±5.40	0.969 ±0.21	1.116 ±0.15	0.968 ±0.21	65 ±7.39	27.05 ±4.74	0.751 ±0.10	0.851 ±0.11	0.791 ±2.97

ND= Dato no publicado, Norte de México (Mexicali, Monterrey, Obregón, Hermosillo y Durango), Centro (Guadalajara, León, Cd. México y Puebla), Sur (Mérida).

El segundo objetivo de este trabajo fue identificar las frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos analizados en mujeres postmenopáusicas con OPE/OP del Norte de México.

Nuestro grupo de estudio para el rs3801387 del gen *WNT16* presentó el genotipo AA como el de mayor frecuencia, mientras que el MAF se mostró con el 35.0% para el alelo G, lo que indica una distribución de frecuencia genotípica similar con los mexicanos residentes de Los Ángeles (32.8%) (tabla XVII), estos resultados fueron consistentes ($p>0.05$) con los del estudio de Medina-Gómez et al., 2012 en el cual comparan diferentes cohortes que reportan el alelo G como el MAF para el rs3801387 del gen *WNT16*; siendo para el estudio Discovery 2660 con población de origen holandés del norte de Europa el 27.4%, el estudio ALSPAC en residentes de Reino Unido reportó el 27.2%, para GOOD en Suecia el 23.8% y el estudio RS-I-2436 de población del noroeste de Europa presento el 27.0%.

La población de Ascendencia europea y este de Asia también ha mostrado el alelo G del rs3801387 del gen *WNT16* como el MAF con frecuencia del 26.0% (Estrada et al., 2012). Koller et al., 2013 señala que el alelo de riesgo A se presentó con el MAF del 28.0% en europeos-americanos, así mismo el estudio de Hendrickx et al., 2013 realizado en Dinamarca, reporto el alelo A del rs3801387 del gen *WNT16* con una frecuencia del 25.0%, mientras que en el centro de México en el estado de Morelos 22.7% (Hidalgo-Bravo et al., 2020).

En la genotipificación del rs7108738 del gen *SOX6* mostró el genotipo TT como el de mayor frecuencia con 59.8% y 6.3% para el genotipo GG.

Las MPP de nuestro estudio mostraron el MAF con 37.0% en la población completa para el alelo G del rs7108738 del gen *SOX6*.

El proyecto de mil genomas ha reportado que los mexicanos residentes de Los Ángeles presentan una frecuencia del 30.0% para el alelo G del rs7108738 del gen *SOX6*, 24.0% para población americana y 22.0% para población de Europa y 21.8% para la población del centro de México del estado de Morelos ($p>0.05$) lo que indica que estas poblaciones tienen una distribución alélica similar a la de

nuestra población (tabla XVIII). Una posible explicación podría ser por la estructura genética de la población mexicana; incluye genes de origen nativo americano (30.8%), europeos (53.2%) y africanos (15.9%), y porque los habitantes del centro del país provienen de ascendencia africana mientras que el sur y el norte de México de ascendencia europea y americana (Silva-Zolezzi et al. 2009; Rubí-castellanos et al., 2009).

Tabla XVII Comparación de frecuencias genotípicas del rs3801387 del gen *WNT16*

Población	MTY	MX	MXL	YRI	CEU	CHB
Genotipo	Frecuencias (%)					
AA	59.0	60.9	45.3	38.0	60.6	79.6
AG	35.2	33.6	43.8	49.1	31.3	20.4
GG	5.9	5.6	10.9	13.0	8.1	0.0
Chi² (p-value >0.05)	-	0.96	0.12	0.01	0.74	0.00

MTY= Norte de México (Nuestro estudio)

MX= MPP del centro de México del estado de Morelos

MXL= Mexican Ancestry in Los Ángeles, California

YRI= Yoruba in Ibadan, Nigeria

CEU= Utah residents with Northern and Western European ancestry

CHB= Han Chinese in Beijing, China

Tabla XVIII Comparación de frecuencias genotípicas del rs7108738 del gen *SOX6*

Población	MTY	MX	MXL	YRI	CEU	CHB
Genotipo	Frecuencias (%)					
TT	59.8	58.4	45.3	45.4	65.7	70.9
TG	34.0	36.2	48.4	43.5	30.3	24.3
GG	6.3	5.3	4.0	11.1	4.0	4.9
Chi² (p-value >0.05)	-	0.91	0.08	0.11	0.61	0.26

MTY= Norte de México (Nuestro estudio)

MX= MPP del centro de México del estado de Morelos

MXL= Mexican Ancestry in Los Ángeles, California

YRI= Yoruba in Ibadan, Nigeria

CEU= Utah residents with Northern and Western European ancestry

CHB= Han Chinese in Beijing, China

Nuestros resultados permiten ver el panorama actual de la genética de la DMO en MPP de la población del Norte de México, hasta el momento no se han publicado estudios de alguna región del Norte de México donde se describan las frecuencias genotípicas de la población para la variación A/G del rs3801387 en *WNT16* ni para la variación T/G del rs7108738 del gen *SOX6*. Es importante resaltar que nuestro estudio permitirá tener cifras de las frecuencias de los polimorfismos del rs3801387 en *WNT16* y para la variación T/G del rs7108738 del gen *SOX6* en población del Norte de México y serán de utilidad para estudios posteriores.

Para el último objetivo se evaluó la asociación de los valores de la DMO de las MPP en las diferentes regiones óseas con el polimorfismo rs3801387 del gen *WNT16* y del rs7108738 del gen *SOX6*.

No se encontraron asociaciones significativas para el SNP rs3801387 del gen *WNT16* en MPP del Norte de México; esta falta de asociación con el riesgo de OPE/OP se ha visto también en MPP con OPE/OP del centro de México del estado de Morelos (Hidalgo-Bravo et al., 2020). En la región de cuerpo total se puede observar una tendencia cercana a la asociación con el SNP, bajo modelo aditivo. Las regiones que no demostraron asociaciones significativas entre los genotipos analizados, nos indica que las medianas de las DMO son similares entre los diferentes genotipos.

Existe evidencia científica en población de Europa y Asia donde se analizó la asociación del rs3801387 del gen *WNT16* con la DMO, así como un estudio de asociación del genoma con los loci genéticos, que influyen en la DMO en población mestizo-mexicana; que ha confirmado, la asociación en las regiones de cuello femoral y espina lumbar (Estrada et al., 2012; Villalobos-Comparán et al., 2017).

El estudio de Hendrickx et al., 2013 realizado en Dinamarca, reportó asociación del alelo A (MAF 25.0%) bajo modelo aditivo del rs3801387 del gen *WNT16* con regiones de cuello femoral, dual de fémur, espina lumbar y cuerpo total y se ha

descrito que el polimorfismo rs3801387 del gen *WNT16* en presencia del modelo aditivo aumenta el riesgo de OP en población de Corea siendo G el MAF.

Mientras que en presencia del modelo dominante (genotipo AA), se asocia con baja DMO en cuello femoral y en presencia del modelo recesivo y aditivo se asocia con fracturas no vertebrales en población de Corea; por lo que se ha considerado como un posible marcador genético de la OP sin importar el origen étnico de la población al relacionarse con varios rasgos de OP en poblaciones de China y Japón (Beom et al., 2016).

Nuestro estudio es el primero que describe las frecuencias y la presencia de estos polimorfismos en MPP del Norte de México (Estrada et al., 2012; Villalobos-Comparán et al., 2017; Hidalgo-bravo et al., 2020). Nosotros concluimos que el SNP rs3801387 del gen *WNT16* no es un marcador genético para la baja DMO en las regiones analizadas, se sugiere seguir investigando en mayor población para analizar si las tendencias encontradas se logran asociar con la DMO en otras regiones óseas, ya que el gen *WNT16* es un determinante de la masa ósea cuando en su ausencia en osteoblastos y osteocitos maduros, comienza a disminuir el grosor del hueso y la DMO del cuerpo total (Medina-Gómez et al., 2012).

Debido a que el gen *WNT16* tiene un papel clave durante la regulación positiva de la estructura y la masa ósea tanto cortical como trabecular, comprometiendo la resistencia ósea y el riesgo de fractura como se describió en la sección de antecedentes (Koller et al., 2013; Zheng et al., 2016; Alam et al., 2016).

Después del análisis de asociación, nuestro estudio mostró que el rs7108738 del gen *SOX6* se asoció con el modelo dominante (p-value 0.042) y aditivo (p-value 0.032) en DMO de dual de fémur de las MPP del Norte de México, estos resultados fueron consistentes con lo reportado en la asociación del rs7108738 del gen *SOX6* bajo modelo aditivo con DMO de dual de fémur para las poblaciones de España y China (Beom et al., 2016; Tan et al., 2010). Aunque también existe evidencia de la asociación del rs7108738 del gen *SOX6* con DMO baja en columna y cuello femoral (p-value <0.05) bajo modelo aditivo en

población europea-americana, de ascendencia europea y este de Asia (Koller et al., 2013; Estrada et al., 2012; Beom et al., 2016).

En el estudio de Tan LiJun y colaboradores (2010) se consideró a *SOX6* como un candidato nuevo y potencialmente importante para la osteoporosis después de ver asociación de algunas variantes con DMO de muñeca en población de Europa y China. Nuestros resultados demuestran que el rs7108738 del gen *SOX6* es un determinante de la DMO mayor al tener el genotipo GG, nosotros esperábamos que el gen *SOX6* por ser un factor de transcripción en el cual los condroblastos se diferencian en menor cantidad y al ser esta una variación intrónica la modulación del proceso de transcripción se ve afectada en el proceso de iniciación de su proliferación y puede ser retardada, por lo que el cartílago será deficiente de matriz extracelular, esta variación en el gen *SOX6* debería afectar la DMO y conducir a la OPE/OP como lo describe Smits et al., 2001.

Posteriormente se analizó el riesgo genético para identificar si los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y el rs7108738 del gen *SOX6* pueden predecir el riesgo de OPE/OP.

Para la prueba de Odds ratio, se utilizó el OR=1 como referencia. El modelo recesivo para el rs3801387 más alto fue OR= 1.26 (IC 95% [0.403-4.035]) que indica 1.26 más riesgo de padecer OPE/OP para las mujeres que tienen genotipo GG en comparación con las que tienen los genotipos AA y/o AG. Al momento de evaluar los P-value (<0.05) no se mostraron valores de riesgo, pero existe evidencia en diferentes poblaciones donde si se ha visto un incremento del riesgo a padecer OPE/OP.

Por ejemplo, el estudio de Estrada et al., 2012 reportó el rs3801387 del gen *WNT16* siendo A el alelo de riesgo con una frecuencia del 74.0%. Mostrando un OR=1.06(1.04-1.08) y un valor de P significativo (<0.05) bajo modelo aditivo, lo que puede considerarse como 1.06 veces mayor riesgo de OPE/OP en mujeres que tengan cualquiera de los genotipos AG y GG que las que tengan el genotipo AA.

Este indicador de riesgo también se ha confirmado en población de Japón, de la cual se obtuvieron un OR=1.47 (1.01-2.17) valor de P de 0.043 a OP en espina lumbar bajo modelo recesivo y bajo modelo aditivo con OR=1.39 (0.99-1.92) p-value (0.054) (Beom et al., 2016).

El rs7108738 del gen *SOX6* mostró el Odds ratio más alto de OR= 1.03 (0.329-3.265) en modelo recesivo, lo que podría considerarse 1.03 veces más riesgo a tener OPE/OP para las mujeres que tienen el genotipo GG en comparación con las que tienen TT y/o TG, pero el valor de P no se mostró significativo. Este SNP se ha visto asociado con el riesgo de OPE/OP aumentado en población del mestizo-mexicana del estado de Morelos OR=0.30 (0.109-0.836) (P = 0.021) (Hidalgo-Bravo et al., 2020).

Estas asociaciones de riesgo en los SNPs de nuestro estudio se muestran como los del estudio GWAS de Estrada et al., 2012; el cual presentó un OR=0.080 (P = 1E-32) indicando que no hay riesgo para DMO al tener el rs3801387 del gen *WNT16* y el rs7108738 del gen *SOX6*. Coincidiendo con el estudio realizado en población mestizo-mexicana del estado de Morelos que no mostro asociación con el riesgo de OPE/OP (Hidalgo-Bravo et al., 2020).

Por lo tanto, el análisis de riesgo por genotipos que conlleve a presentar OPE/OP; no mostró asociaciones significativas para ninguno de los SNPs de este estudio. Probablemente por el número de casos que obtuvimos en nuestra muestra, siendo más frecuentes las MPP en grupo normal (67%). Por otro lado, el tamaño de muestra que utilizamos en el estudio puede disminuir el poder estadístico para detectar señales de asociación, las diferencias en los métodos de genotipificación o las diferencias raciales y étnicas en la DMO.

11 CONCLUSIONES

Los resultados se muestran similares a los de LAVOS a nivel nacional, lo que indica que la DMO tiene una distribución uniforme en México.

Las frecuencias genotípicas del rs3801387 del gen *WNT16* y del rs7108738 del gen *SOX6* se presentan similares a las de Europa, China, África, mexicanos de Los Ángeles y del centro de México.

Se encontró asociación entre el rs7108738 del gen *SOX6* con la DMO de dual de fémur en modelo dominante y aditivo en la población completa mostrando un efecto protector con el genotipo GG.

Los polimorfismos rs3801387 en *WNT16* y el rs7108738 del gen *SOX6* no mostraron aumentar el riesgo cuando están presentes, ni ser factores protectores mediante el análisis de Chi cuadrada.

La presencia del rs3801387 en *WNT16* y el rs7108738 del gen *SOX6* rs7108738 del gen *SOX6* permitirá detectar variaciones en la DMO y prevenir la OPE/OP, se recomienda continuar haciendo estudios en poblaciones con mayor número de participantes que la de este estudio.

Nuestro estudio es pionero en publicar las frecuencias genotípicas y alélicas, así como la asociación de la DMO en MPP del Norte de México para el rs3801387 en *WNT16* y el rs7108738 del gen *SOX6*, que serán de utilidad para estudios posteriores

12 REFERENCIAS

- Alam, I., Alkhouli, M., Gerard- O'Riley, R., Wright, D., Gray, A., Patel, B., Reilly, A.,... Econs, M. (2016). Osteoblast-Specific overexpression of human WNT16 increases both cortical and trabecular bone mass and structure in mice. *Endocrinology*. 157(2). 722-736. doi: 10.1210/en.2015-1281
- Alvarado, A., Hernández, T., Hernández, M., Negrín, M., Ríos, B., Valencia, G.,...Montaño, A. (2015). Guía de práctica clínica diagnóstico y tratamiento de la perimenopausia y la posmenopausia. *Revista Médica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*, 53(2), 214–225.
- Anaya, J. (1993). Osteoporosis y artritis reumatoide. Fundación Instituto de Reumatología e Inmunología. Santa fé. 18(6). 304-313.
- Banack, H., Wactawski-Wende, J., Hovey, K., & Stokes, A. (2017). Is BMI a valid measure of obesity in postmenopausal women?. *Menopause*, 1. doi: 10.1097/gme.0000000000000989
- Bazzocchi A, Filonzi G, Ponti, F. (2011). Accuracy, reproducibility and repeatability of ultrasonography in the assessment of abdominal adiposity. *Acad Radiol*. 18, 1133–1143.
- Beom-Jun, K., Seong, H., Hyeon, M., Shiro, I., Tie, Y. Guo, Y., Hong, D.,...Seung, L. (2016). Replication of caucasian loci associated with osteoporosis-related traits in East Asians. *Journal Bone Metabolism*. 23, 233-242. doi: 10.11005/jbm.2016.23.4.233
- Carranza-Lira, S., Azpilcueta, Y., & Rosales Ortiz, S. (2016). Relation between visceral fat and carotid intimal media thickness in Mexican postmenopausal women: a preliminary report. *Menopausal Review*, 2, 81-84. <http://dx.doi.org/10.5114/pm.2016.61189>
- Castelo-Branco, C., Landa, Goñi, J. (2004). Grupo de trabajo de menopausia y postmenopausia. Guía de práctica clínica sobre la menopausia y

postmenopausia. *Barcelona: Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia, Asociación Española para el Estudio de la Menopausia, Sociedad Española de Medicina de Familia y Comunitaria y Centro Cochrane Iberoamericano.*

CENETEC (2018). Diagnóstico y tratamiento de osteoporosis en mujeres posmenopáusicas. Guía de Evidencias y Recomendaciones: *Guía de Práctica Clínica*. México [Consultado el 21 de marzo 2020].

Checa Caratachea, M. (2007). Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. *Rev Ins Nal Enf Resp Mex.* 20(3). 213-221.

Clark, P., Tamayo, J., Cisneros F., Rivera & Valdes, M. (2013). Epidemiology of osteoporosis in Mexico. *Revista de Investigación Clínica.* 65(2),183-191.

Clark P, et al. (2019). Osteoporosis severa: fundamentos para su terapia farmacológica en México. *Reumatol Clin.* <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2019.04.001>

Cosman, F., de Beur, S., LeBoff, M., Lewiecki, E., Tanner, B., Randall, S.,...Taechakraichana N. (2014). Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. *Osteoporosis.* 25(10). 2359-81.

Christou, M.A., Ntritsos, G., Markozannes, G. et al. (2020). A genome-wide scan for pleiotropy between bone mineral density and nonbone phenotypes. *Bone Res.* 8, 26 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41413-020-0101-8>

Desjardins, P. & Conklin, D. (2010). NanoDrop Microvolume Quantitation of Nucleic Acids. *J. Vis. Exp.* (45), e2565, doi: 10.3791/2565 (2010).

Escamilla-Méndez, A. (2016). Asociación del polimorfismo 844ins68 del gen de la cistationina β sintasa (CBS) y de los polimorfismos A1298C y C677 del gen de la metilentetrahidrofolato reductasa *MTHFR* con la densidad mineral ósea en mujeres postmenopáusicas. (Tesis inédita de maestría). Universidad Autónoma de Nuevo León

- Escobar-Gómez, F., Jódar, E., & Hawkins, F. (2009). Receptor Wnt: Fisiología, fisiopatología y potenciales nuevas dianas terapéuticas. *Revista española de enfermedades metabólicas óseas*, 18(2), 39–44. Recuperado de: [https://doi.org/10.1016/S1132-8460\(09\)72053-7](https://doi.org/10.1016/S1132-8460(09)72053-7).
- Española, R. A. (2014). Diccionario de la lengua española. Recuperado de: <https://dle.rae.es>
- Fear, M., Kellsell, D., Spurr, N. & Barnes, M. (2000). Wnt-16a, a novel Wnt-16 isoform, which shows differential expression in adult human tissues. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 278. 814-820. Doi:10.1006/bbrc.2000.3852
- Fengbin, Y., Xiaoxing, H., Jinhao, M, Long, G. & Dengand, T. (2013). Association between osteoprotegerin genetic variants and osteoporosis in Chinese postmenopausal women. *Endocrine Journal*. 60(12), 1303-1307. doi: 10.1016/j.intimp.2013.04.008
- Fernández-Tresguerres, I., Alobera, G., Canto, M., Blanco, L. (2006). Physiological bases of bone re- generation II. The remodeling process. *Medicina Oral*, 151–157.
- Ferrari SL, Chevalley T, Bonjour JP, Rizzoli R. (2007). Heritability of bone microstructure in women. [Abstract]. 29º Congreso Anual de la ASBMR; Sept 16-19; Honolulu, Hawaii.
- Foundation Internation Osteoporosis [IOF]. (2016). La carga global de la osteoporosis en cifras. Recuperado de https://www.iofbonehealth.org/sites/default/files/media/PDFs/FactSheets/2014-Factsheet-Burden_Osteoporosis-A4-ES.pdf%0A1ast
- Garciadiego-Cázares, D. (2012). El desarrollo del esqueleto y la osteoartritis. *Investigación en Discapacidad*, 1(1), 7–17. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/invdis/ir-2012/ir121c.pdf>

- González-Mercado, A. J. Y. Sánchez-López, J. A. Regla-Nava et al. (2013). "Association analysis of vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density in postmenopausal Mexican-Mestizo women". *Genetics and Molecular Research*. 12(3) pp. 2755–2763.
- González-Peña, S. (2014). Asociación de los polimorfismos de los genes *MEF2C*, *JAG1* y *BDNF* con densidad mineral ósea en mujeres de 40 a 80 años. (Tesis inédita de maestría). Universidad Autónoma de Nuevo León. <https://doi.org/10.1192/bjp.205.1.76a>.
- Gori, F., Lerner, U., Ohlsson, C., Baron, R. (2015). A new WNT on the bone: *WNT16*, cortical bone thickness, porosity and fractures. *International Bone and Mineral Society*. 669. doi:10.1038/bonekey.2015.36
- Gutiérrez, J. (2008). El proceso de remodelación ósea. *Medigraphic*, 4(3). 170–176. Recuperado de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/orthotips/ot-2008/ot083d.pdf>
- Hendrickx, G., Boudin E., Fijalkowski, I., Nielsen, T., Andersen, M., Brixen, K., & Van, W. (2013). Variation in the Kozak sequence of *WNT16* results in an increased translation and is associated with osteoporosis related parameters. *Bone*. 59, 57-65. doi: 10.1016/j.bone.2013.10.022
- Hernández, A., Puerto, I., & Falcón, A. (2014). Utilidad de la medición de la densidad mineral ósea en pacientes reumáticos. *Revista Cubana de Reumatología*, 16(2), 104-114. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S181759962014000200006&lng=es&tlng=es.
- Hidalgo-Bravo, A. Y. Parra-Torres, L. Casas-Avila, R. F. Jimenez-Ortega, E. G. Ramírez-Salazar, N. Patiño, B. Rivera-Paredes, J. Salmerón, M. Valdés-Flores & R. Velázquez-Cruz (2019): Association of *RMND1/CCDC170*–*ESR1* single nucleotide polymorphisms with hip fracture and osteoporosis in postmenopausal women, *Climateric*, doi:10.1080/13697137.2018.1538339

- Hidalgo-Bravo, A., Hernández, C., Sevilla-Montoya, R., Rivera-Paredes, B., Ramírez-Salazar, E.,...Velázquez-Cruz, R. (2020): Single nucleotide polymorphism rs10036727 in the SLIT3 gene is associated with osteoporosis at the femoral neck in older Mexican postmenopausal women. *Gynecological Endocrinology* Recuperado de: <https://doi.org/10.1080/09513590.2020.1804548>
- Hu, D., Ferro, F., Yang, F., Taylor, A., Chang, W., Miclau, T.,... Bahney, C. (2017). Cartilage to bone transformation during fracture healing is coordinated by the invading vasculature and induction of the core pluripotency genes. *The Company of Biologists*. 144(2), 221–234. doi:10.1242/dev.130807
- Iniesta, R., Guinó, E., & Moreno, V. (2005). Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gaceta Sanitaria*, 19(4), 333-341.
- Ikeda, T., Kawaguchi, H., Kamekura, S., Ogata, N., Mori, Y., Nakamura, K., ... Chung, U. (2005). Distinct roles of Sox5, Sox6, and Sox9 in different stages of chondrogenic differentiation. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 23(5), 337–340. <https://doi.org/10.1007/s00774-005-0610-y>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI]. (2017). Encuesta Intercensal 2015. Recuperado de: <http://www.beta.inegi.org.mx/proyectos/enchogares/especiales/intercensal/>.
- International Osteoporosis Foundation [IOF]. (2017). Osteoporosis & musculoskeletal disorders. Recuperado de: <https://www.iofbonehealth.org/what-is-osteoporosis>
- Johansson H, Clark P, Carlos F, Oden A, McCloskey EV, Kanis JA. (2011). Increasing age- and sex-specific rates of hip fracture in Mexico: a survey of the Mexican Institute of Social Security. *Osteoporos Int*. 22 2359-64.
- Johnell O, Kanis JA. An estimate of the worldwide prevalence, mortality and disability associated with hip fracture. *Osteoporos Int*. 2004;15:897-902.

- Klug, W., Cummings, M., Spencer, C. (2006). Conceptos de genética. (Pearson, Ed.) (8th ed.). España.
- Kobayashi, Y., Uehara, S., & Udagawa, N. (2018). Roles of non-canonical Wnt signaling pathways in bone resorption. *Journal of Oral Biosciences*, 60(2), 31–35. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.job.2018.03.001>
- Koller DL, Zheng HF, Karasik D, Yerges Armstrong L, Liu CT, McGuigan F, Kemp JP, Giroux, ... Foroud, T. (2013). Meta-analysis of genomewide studies identifies WNT16 and ESR1 SNPs associated with bone mineral density in premenopausal women. *J Bone Miner Res* 28:547–558
- Kuo, C., Tuan, R & Li, W. (2013). Biomaterials science. Chapter II.6.8 - Cartilage and ligament tissue engineering: biomaterials, cellular interactions, and regenerative strategies. 3ed. 1214-1236 Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-087780-8.00114-5>
- Ley general de salud. Última reforma publicada DOF 04-06-2014. Reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud. Publicado en el diario oficial de la federación el día 06 de enero de 1987.
- Li, J., & Dong, S. (2016). The signaling pathways involved in chondrocyte differentiation and hypertrophic differentiation. *Stem Cells International*. 1–12. Recuperado de: <https://doi.org/10.1155/2016/2470351>
- Lorente, R., Azpeitia, N., Arévalo, A., Muñoz, J., García, J. & Gredilla, J. (2012). Dual energy X-ray absorciometry: fundamentals, methodology, and clinical applications. *Update in radiology*. 54(5). 410-423.
- Mahan L., Escott, S., Raymond, J., Krause, M. (2012). Krause's food and nutrition care process. (E. Sevier, Ed.) (13th ed.). España.
- López-Gómez, J., Perez, J. & Luis, D. (2017). Influencia de la obesidad sobre el metabolismo óseo. *Endocrinología y Nutrición*. 63 (10). 551-559. <http://dx.doi.org/10.1016/j.endonu.2016.08.005>

- Martínez-Gil, N., Roca- Ayats, N., Monistrol- Mula, A., Garcia, Giralt, N., Díaz- Pérez, A., Nogués, X., Mellibosvsky, L.,...Balcells, S. (2018). Balcells, S. (2018). Common and rare variants of WNT16, DKK1 and SOST and their relationship with bone mineral density. *Nature*. 8. 10951 doi: 10.1038/s41598-018-29242-8
- McCloskey. (2009). FRAX® Identifying people at high risk of fracture WHO fracture risk assessment tool, a new clinical tool for informed treatment decisions, *International Osteoporosis Foundation*. [Disponible en: <http://www.osteoporosis.org.za/downloads/FRAX-report-09.pdf>]
- Medina-Gomez C, Kemp JP, Estrada K, Eriksson J, Liu J, et al. (2012) Meta-Analysis of Genome-Wide Scans for Total Body BMD in Children and Adults Reveals Allelic Heterogeneity and Age-Specific Effects at the WNT16 Locus. *PLoS Genet* 8(7): e1002718. doi:10.1371/journal.pgen.1002718
- Movérare-skrtic, S., Henning, P., Liu, X., Nagano, K., Engdahl, C., Koskela, A., ... Eriksson, E. (2014). Osteoblast-derived WNT16 represses osteoclastogenesis and prevents cortical bone fragility fractures. *Nature Medicine* 20(11), 1279–1288. Recuperado de: <https://doi.org/10.1038/nm.3654>.
- Muñoz-Torres, M., Varsavsky, M., & Avilés, M. (2010). Osteoporosis. Definición. Epidemiología. *Rev Osteoporos Metab Miner*, 2(3), 5–7. Recuperado de: <http://www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com/pdf/articulos/92010020300050007.pdf>
- National Center for Biotechnology Information [NCBI]. (2018a). Gen WNT16 Sequence [Homo Sapiens (human)]. Recuperado de: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/sviewer/ncfetch.cgi?key=NCID_1_3721197_130.14.18.40_9149_1544195552_321683831_0MetA0__S_NC_SV_PDF&fmt=application/pdf&filename=NC_000007.14\[121323793..121342678\].pdf&inline=true](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/sviewer/ncfetch.cgi?key=NCID_1_3721197_130.14.18.40_9149_1544195552_321683831_0MetA0__S_NC_SV_PDF&fmt=application/pdf&filename=NC_000007.14[121323793..121342678].pdf&inline=true)

- NAMS. (2010). Management of osteoporosis in postmenopausal women: position statement of The North American Menopause Society. *Menopause*.17(1):25-54; quiz 5-6.
- Papaioannou A, Morin S, Cheung AM, Atkinson S, Brown JP, Feldman S, et al. (2010). Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada (CPGDMOC): summary. *CMAJ*. 182(17): 1864-73.
- (National Center for Biotechnology Information. (2018b). Gene SOX6. Sequence [Homo Sapiens (human)] Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/55553>
- (National Clinical Guideline Centre [NCGC]. (2012). Osteoporosis: fragility fracture risk. Recuperado de: www.nice.org.uk/GuidelinesManual
- Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.
- Norma Oficial Mexicana NOM-004-SSA3-2012, del expediente clínico.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-035-SSA2-2012, Para la prevención y control de enfermedades en la perimenopausia y postmenopausia de la mujer. Criterios para brindar atención médica.
- NIH. (2014). Anatomía del hueso. Recuperado de: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/medula-osea>
- Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-049-SSA2-2017, Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento, control y vigilancia epidemiológica de la osteoporosis
- Ohlsson, C., Nilsson, K., Henning, P., Wu, J., Gustafsson, K., Poutanen, M.,...Movérare-Skrtic. (2018). WNT16 overexpression partly protects against glucocorticoid-induced bone loss. *Am J. Physiological Endocrinology Metabolism*. 314. 597-604. doi:10.1152/ajpendo.00292.2017.

- Petak, S., Barbu, C., Yu, E., Fielding, R., Mulligan, K., Sabowitz, B.,...Shepherd, J. (2013). The official positions of the International Society for Clinical Densitometry: body composition analysis reporting. *Journal of Clinical Densitometry*. 16(4). 508-519. doi: 10.1016/j.jocd.2013.08.018
- QIAGEN. (2015). DNA blood midi/maxi handbook. Sample and Assay Technologies. Recuperado de: https://www.qiagen.com/mx/shop/sample-technologies/dna/?cmpid=Qven9GAqiagenDNA_brand&kwid=qiagen%20+dna%20kit&gclid=Cj0KCQiAzePjBRCRARIsAGkrSm70rSb7s5gePxO07qXrxNNk5T-UTkNiZB0VInsUInIZy43_9988VXIaAmqDEALw_wcB&clear=true
- Quintana, L., Zur Nieden, N., & Semino, C. (2009). Morphogenetic and regulatory mechanisms during developmental chondrogenesis: new paradigms for cartilage tissue engineering. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 15(1), 29–41. Recuperado de: <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2008.0329>
- Rubi-Castellanos, R.; Martinez-Cortes, G.; Munoz-Valle, J.F.; Gonzalez-Martin, A.; Cerda-Flores, R.M.; Anaya-Palafox, M.; Rangel-Villalobos. (2009). H. Pre-Hispanic Mesoamerican demography approximates the present-day ancestry of Mestizos throughout the territory of Mexico. *Am. J. Phys. Anthropol.* 139, 284–294.
- Rijsewijk, F., Schuermann, M., Wagenaar, E., Parren, P., Weigel, D. & Nusse, R. (1987). The Drosophila homolog of the mouse mammary oncogene int-1 is identical to the segment polarity gene wingless. *Cell*. 1987; 50(4):649–57. Recuperado de: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(87\)90038-9](https://doi.org/10.1016/0092-8674(87)90038-9)
- Rivadeneira, F., Styrkarsdottir, U., Estrada, K., Halldorsson, B., Hsu, Y., Richards, J.,...Ioannidis, J. (2009). Twenty bone-mineral-density loci identified by large-scale meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat Genet* 41: 1199–1206. doi: 10.1038/ng.446

- Rosales, E., Muñoz, J., Arias, R. (2014). Prevalencia de osteopenia y osteoporosis en mujeres postmenopáusicas y su relación con factores de riesgo. *Ginecol Obstet Mex.* 82. 223-228.
- Secretaria de Salud [SSA] (1988). Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. Recuperado el 04 de marzo de 2018 de: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/rlgsmis.html>.
- Sepúlveda, J. (2012). Cartílago y hueso. In M. G. Hill (Ed.), *Texto atlas de histología biología celular y tisular*. México
- Shamah-Levy T, Campos-Nonato I, Cuevas-Nasu L, Hernández-Barrera L, Morales-Ruán MC, Rivera-Dommarco J, Barquera S. (2019). Sobrepeso y obesidad en población mexicana en condición de vulnerabilidad. Resultados de la Ensanut 100k. *Salud Publica Mex.* 61:852-865. <https://doi.org/10.21149/10585>
- Sims, N. & Vrahns, C. (2014). Regulation of cortical and trabecular bone mass by communication between osteoblasts, osteocytes and osteoclasts. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 561, 22–28. doi:10.1016/j.abb.2014.05.015
- Smits, P., Li, P., Mandel, J., Zhang, Z., Ming, J., & Behringer, R. (2001). The Transcription Factors L-Sox5 and Sox6 Are Essential for Cartilage Formation. *Development Cell.* 1. 277-290.
- Sociedad Iberoamericana de Osteología y Metabolismo Mineral [SIBOM] (2009). Consenso Iberoamericano de Osteoporosis SIBOMM Osteoporosis: Prevención, Diagnóstico y Tratamiento. (acceso 30 de agosto de 2018). Disponible en: http://www.spodom.org/download/Consenso_SIBOMM2009.pdf
- Suaverza, A. & Haua, K. (2010). El ABCD de la evaluación del estado de nutrición. Antropometría y composición corporal. McGraw-Hill. México (1ª ed).

- Sözen T, Özışık L, Başaran NÇ. An overview and management of osteoporosis Eur J Rheumatol. 2017 Mar;4(1):46-56. doi: 10.5152/eurjrheum.2016.048.
- Stewart, A., Marfell- Jones, M., Olds, T., & Ridder, H. de (2011). Protocolo internacional para la valoración antropométrica. (S. I para el A. de la cineantropometría, Ed.). ISAK.
- Silva-Zolezzi I, Hidalgo-Miranda A, Estrada-Gil J, Fernández-López JC, Uribe-Figueroa L, Contreras A, et al. (2009). Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in México. *Proc Natl Acad Sci USA*. 106:8611-6. Recuperado de: <https://doi.org/10.1073/pnas.0903045106>
- Tamayo de Dios, L. Ibarra, C., Velasquillo, C. (2013). Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Investigación en discapacidad*. 2(2). 70-78
- Tan, L., Liu, R., Lei, S., Pan, R., Yang, T., Yan, H., ... Deng, H. (2010). A genome-wide association analysis implicates SOX6 as a candidate gene for wrist bone mass. *Science China Life Sciences*, 53(9), 1065–1072. <https://doi.org/10.1007/s11427-010-4056-7>
- The North American Menopause Society. [NAMS]. (2010). Management of osteoporosis in postmenopausal women: 2010 position statement of The North American Menopause Society. *Menopause*. 17(1). 25-54. doi: 10.1097/gme.0b013e3181c617e6
- Todd, H., Galea, G., Meakin, L., Delisser, P., Lanyon, L., Windahl, H., & Price, J. (2015). *WNT16* is associated with age related bone and estrogen withdrawal in murine bone. *PLoS ONE*. 10(10). doi:10.1371/journal.pone.0140260
- Tortora, G., Derrickson, B., Dvorkin, M. (2013). Principles of anatomy and physiology. (Panamericana, Ed.) (13th ed.).

- Villalobos, M., Jiménez, R., Estrada, K., Parra, A., González, A.,...Velázquez, R. (2017). A pilot genoma wide association study in postmenopausal Mexican- mestizo women implicates the RMND1/CDC170 locus is associated with bone mineral density. *International Journal of Genomics*. 13. doi:/10.1155/2017/5831020
- Wang, Y. (2014). Wnt and the Wnt signaling pathway in bone development and disease. *Frontiers in Bioscience*, 19(3). 379. <https://doi.org/10.2741/4214>
- Wardlaw, G. M., Hampl, J. S., Silvestro, R. A., & Samperio, J. O. (2005). *Perspectivas en nutrición*. (McGraw- Hill).
- Woolf, A. & Pfleger, (2003) B. Burden of major musculoskeletal conditions. *Bull World Health Organ*. 81(9). 646-56.
- Yang, T., Guo, Y., Liu, J., Shen, H., Liu, Z., Lei, F.,... Deng, H. (2012). Genetics variants in the SOX6 gene are associated with bone mineral density in both Caucasian and Chinese population. *Osteoporos Int*. 23(2). 781–787. doi:10.1007/s00198-011-1626-x.
- Yu, E. W. (2018). Screening for osteoporosis. *Up to date*. Recuperado de: <https://www.uptodate.com/contents/screening-for-osteoporosis>.
- Zancheta, J. & Talbot, J. (2001). *Osteoporosis fisiopatología, diagnóstico, prevención y tratamiento*. (Panamerica, Ed.). México.
- Zheng HF, Tobias JH, Duncan E, Evans DM, Eriksson J, Paternoster L, et al. (2012). WNT16 influences bone mineral density, cortical bone thickness, bone strength, and osteoporotic fracture risk. *PLoS Genet*.

ANEXOS

ANEXO 1
Consentimiento informado

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Dirigido a: mujeres mayores de 50 años que hayan terminado la menopausia.

Título del proyecto: “Polimorfismos rs3801387 del gen WNT16 y rs7108738 del gen SOX6 y su relación con osteopenia/osteoporosis en mujeres postmenopáusicas del Norte de México”.

Nombre del investigador principal: Dr. Zacarías Jiménez Salas

Fecha de aprobación por el Comité de Ética: 25 de octubre del 2019

No. De registro 19-FaSPyN-SA-18.TP

Estimada Señora:

Usted ha sido invitada a participar en el presente proyecto de investigación, debido a que es mujer postmenopáusica, mayor de 50 años y reside en el área metropolitana de Monterrey, N. L y cumple con el requisito de no presentar alguna enfermedad crónica diagnosticada como diabetes mellitus, enfermedades óseas o síndrome de ovario poliquístico. El estudio se realizará en el Centro de Investigación de Nutrición y Salud Pública (CINSP) perteneciente a la Facultad de Salud Pública y Nutrición de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Si usted decide participar en el estudio, es importante que considere la siguiente información. Siéntase libre de preguntar cualquier asunto que no le quede claro.

El propósito de este estudio es “evaluar a un grupo de mujeres que hayan terminado su menopausia y sean mayores de 50 años para identificar si sus huesos son fuertes o tienen riesgo de sufrir una fractura, y relacionar esas características con la presencia de variantes de los genes SOX6 y WNT16”

Procedimientos del estudio:

En el CINSP contamos con instalaciones adaptadas para personas que tengan alguna dificultad de movilidad, puertas automáticas, sala de espera para usted y su acompañante, así como con un área especial con un cómodo sillón para el momento en que se tome la muestra de sangre, su participación tardará 20 minutos y consiste en:

- Acudir en estado de ayuno mínimo de 8 horas.
- Se deberá presentar con ropa cómoda sin metales ni aretes.
- Llenar un formato con datos personales y un documento donde se registra la frecuencia del consumo de algunos alimentos durante un mes y fármacos ingeridos durante los últimos 6 meses.
- Se tomarán mediciones corporales que no causarán ningún efecto secundario.
- Evaluación de la calidad de la densidad mineral ósea por medio del absorciómetro de rayos X de doble energía (DEXA).

- Se le hará una extracción de sangre de 10 ml que en algunas ocasiones puede provocar algún malestar, dolor y formación de hematoma (moretón) en el sitio del piquete de la vena y deberá esperar 5 minutos sentada para asegurarnos que se siente bien y pueda regresar a casa sin ningún malestar. Este procedimiento servirá para identificar las concentraciones séricas de algunos componentes bioquímicos, así como para la extracción de ADN.

Las muestras de ADN serán extraídas y analizadas por la LN Damaris G. Bustamante Martínez en el Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) así como en el Instituto Nacional de Medicina Genómica en la Ciudad de México.

Una vez terminado este estudio, si usted está de acuerdo, la muestra se almacenará en un banco de sueros y ADN (biobanco), en el cual se almacenará en las condiciones adecuadas para realizar otros estudios en el futuro, relacionados con características genéticas que pudieran encontrarse asociadas a la salud nutricional. Este biobanco en el que se conservarán sus muestras pertenece al Laboratorio de Genética y Biología Molecular del Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública de la UANL. Las muestras serán etiquetadas con un número de folio y no con su nombre para asegurar la confidencialidad de sus datos personales.

Riesgos del estudio

Si ocurre un evento inesperado como desmayo o nerviosismo, usted tomara la decisión si seguir en el estudio o abandonarlo, para atender estas situaciones contamos con personal de enfermería que se encargaran de extraer las muestras y también de reanimar a los voluntarios según el evento que se presente.

Beneficios del estudio:

Con lo anterior usted estará participando en la generación de información para determinar la asociación de los polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* en mujeres postmenopáusicas con y sin osteopenia/osteoporosis del Norte de México y apoyando el aumento de información de pacientes en una base de datos con la que cuenta el “Laboratorio de Genética y biología molecular” del CINSP.

El beneficio que usted obtendrá serán: los resultados de su análisis de sangre los cuales serán: resultados de los niveles séricos de colesterol total, HDL y LDL, triglicéridos y glucosa, así como un análisis de composición corporal. Usted no recibirá ningún pago por participar en el estudio y tampoco implicará algún costo para usted, se le otorgara un sándwich y una botella de agua al finalizar la sesión, al tener sus resultados listos se le hablará por teléfono para que pueda pasar a recogerlos, se le dará la interpretación de sus análisis clínicos y en caso de necesitar ayuda de un médico se le hará de su conocimiento.

En el examen genético usted no obtendrá algún beneficio directo o inmediato, pero al proporcionar las muestras para obtención de información genética los

datos ayudarán a comprender mejor cómo las variantes genéticas pueden afectar la salud y de esta manera poder ayudar a más personas en el futuro. Con lo anterior se generará información para este y estudios posteriores.

Confidencialidad de los datos:

La información que usted nos proporcione para el estudio será de carácter estrictamente confidencial, será utilizada solamente por el equipo de investigación del proyecto y no estará disponible para ningún otro propósito. Usted quedará identificado con un número de folio y no con su nombre. Los resultados de este estudio serán publicados con fines científicos, pero se presentarán de tal forma que no podrá ser identificada.

Participación voluntaria/Retiro del estudio

Su participación en este estudio es absolutamente valiosa y voluntaria. Usted está en plena libertad de decidir qué muestras son las que está de acuerdo en donar o en negarse a participar y tiene el derecho de retirar su muestra biológica en cualquier momento que lo considere conveniente sin que ello implique ningún tipo de consecuencia, para ello le pedimos dirigirse a la Lic. Nut. Damaris Gabriela Bustamante Martínez con cedula profesional 11549569 o al investigador/a responsable del estudio: Dr. Zacarías Jiménez Salas con cédula profesional 1284164 (correo electrónico: zacarias.jimenezs@uanl.mx) los cuales cuentan con la suficiente experiencia y conocimiento en la materia del estudio en el que usted estará participando para resolver cualquier duda que usted tenga.

Agradecemos y apreciamos su interés por participar en esta investigación, así como el esfuerzo de acudir hasta las instalaciones del CINSP.

Aviso de Privacidad:

El investigador principal de este estudio, Dr. Zacarías Jiménez Salas, es responsable del tratamiento y resguardo de los datos personales que proporcione, los cuales serán protegidos conforme a lo dispuesto por la Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados. Los datos personales que le solicitaremos serán utilizados exclusivamente para las finalidades expuestas en este documento. Usted puede solicitar la corrección de sus datos o que sus datos se eliminen de nuestras bases o retirar su consentimiento para su uso. En cualquiera de estos casos le pedimos dirigirse al investigador responsable del proyecto a la siguiente dirección de correo zacarias.jimenezs@uanl.mx.

Declaración del participante que da el consentimiento informado

- Se me leyó completa esta carta de consentimiento
- Me han explicado el estudio de investigación junto con sus objetivos, beneficios, mínimos riesgos y otros aspectos sobre mi participación en este estudio como voluntaria.
- He podido resolver dudas relacionadas a mi participación como voluntaria en el estudio.

Si usted no tiene más dudas y está de acuerdo en participar en este estudio permitiendo que si información de salud sea usada como ya se ha descrito en este documento, le pedimos que indique su consentimiento para participar en este estudio y le entregaremos una copia de este documento que le pedimos sea tan amable de firmar.

Por favor marque cada uno de los recuadros de abajo para indicar su decisión

- Mis muestras/información genética puede ser utilizada solo para este estudio.
- Mis muestras/información genética puede ser utilizada para este estudio y para investigación futura.
- Mis muestras pueden ser almacenadas en un banco de muestras/ biobanco.
- Sí deseo conocer los resultados de la información generada en este estudio.

PARTICIPANTE:

Nombre: _____

Firma: _____ Fecha/hora _____

TESTIGO 1

Nombre: _____

Firma: _____ Relación con la participante: _____

Fecha/hora: _____

TESTIGO 2

Nombre: _____

Firma: _____ Relación con la participante: _____

Fecha/hora: _____

Nombre y firma del investigador o persona que obtiene el consentimiento:

Nombre: _____

Firma: _____ Fecha/hora _____

Monterrey, Nuevo León. a ____ de _____ de 20__

ANEXO 2

Historia clínica nutricional



Historia Clínica Nutriológica

Polimorfismos rs3801387 del gen WNT16 y rs7108738 del gen SOX6 y su relación con osteopenia/osteoporosis en mujeres postmenopáusicas de Monterrey, Nuevo León

Fecha ____/____/____

DATOS PERSONALES	
Nombre completo	_____
Estado civil	_____ Teléfono _____
Domicilio	_____ _____
Edad	_____ Fecha de nacimiento _____
Correo electrónico	_____
Ocupación	_____ Fuma _____ Frecuencia _____ Cantidad _____
Alcohol	_____ Frecuencia _____ Cantidad _____ Tipo _____
Edad de menarquia	_____ Fecha/ Edad de menopausia _____
LUGAR DE NACIMIENTO	
Personal	_____
Padre	_____
Abuelo paterno	_____
Abuela paterna	_____
Madre	_____
Abuelo materno	_____
Abuela materna	_____

B-

ANTECEDENTES DE SALUD / ENFERMEDAD			
Enfermedad diagnosticada _____ ¿Cuál? _____			
Intervenciones quirúrgicas _____ ¿Cuál? _____			
Alergias _____ Especificar _____			
Presión arterial _____ / _____ mmHg Pulsaciones por minuto _____			
Diarrea _____ Gastritis _____ Colitis _____			
HISTORIAL PATOLOGICO			
	Personal	Familiar	NOTAS
Diabetes tipo 1	[]	[]	_____
Hipertensión arterial	[]	[]	_____
Obesidad	[]	[]	_____
Infarto al miocardio	[]	[]	_____
Cáncer	[]	[]	_____
Hipertrigliceridemia	[]	[]	_____
Osteoporosis	[]	[]	_____
Fracturas	[]	[]	_____
Hiperparatiroidismo	[]	[]	_____
Hipertiroidismo	[]	[]	_____
Síndrome de Cushing	[]	[]	_____
Insuficiencia renal crónica	[]	[]	_____
Enfermedad de Chron	[]	[]	_____
Insuficiencia hepática	[]	[]	_____
Artritis reumatoide	[]	[]	_____
Malabsorción Intestinal	[]	[]	_____
Otra (especificar)	[]	[]	_____
Antiarrítmicos	[]	[]	_____
Ranitidina	[]	[]	_____
Anti colesterolemicos	[]	[]	_____
Hipolipemiantes	[]	[]	_____
Hipoglucemiantes	[]	[]	_____
Hormonas	[]	[]	_____

B-

Ansiolíticos	[]	[]	_____
Metformina	[]	[]	_____
Corticoides	[]	[]	_____
Sales de litio	[]	[]	_____
Anticonvulsiantes	[]	[]	_____

ANTECEDENTES GINECOLÓGICOS

Número de embarazos _____ Partos _____ Cesáreas _____ Abortos _____
Embarazo actual _____ (SDG) Anticonceptivos _____

ACTIVIDAD FÍSICA

¿Realiza actividad física o ejercicio? _____ ¿Cuál? _____

¿Con qué frecuencia? _____

¿Cuántos minutos? _____ ¿Desde cuándo? _____

Describe una lista de actividades que realiza al día:

B-

ANTROPOMETRÍA			
	Medición 1	Medición 2	Medición 3
Estatura [cm]			
Peso [kg]			
IMC [kg/m ²]			
Muñeca perímetro [cm]			
Diámetro humero [mm]			
Pliegue Bicipital [mm]			
Pliegue Tricipital [mm]			
Pliegue Subescapular [mm]			
Pliegue Abdominal [mm]			
Circunferencia de Cintura ombligo [cm]			
Circunferencia de Cadera [cm]			
Pliegue suprailíaco [mm]			
Altura de rodilla [cm] *Tomar medición cuando el paciente no pueda ponerse de pie		Estatura mujeres (cm) = [1,63 x AR (cm)] - [0,24 x edad (años)] + 84,88	
Técnico	Auxiliar:		

RESULTADOS DE ANÁLISIS BIOQUÍMICOS EN SUERO		
	Fecha	mg/dL
Glucosa	_____	_____
Triglicéridos	_____	_____
Colesterol total	_____	_____
Colesterol HDL	_____	_____
Colesterol LDL	_____	_____

B-

INDICADORES DIETÉTICOS	
Número de comidas al día _____	¿Quién la prepara? _____
Desayuno () Comida () Cena () Colaciones ()	_____
Tiempo que tarda en consumir la comida _____	
¿Agrega sal a la comida ya preparada? _____	
¿Ha modificado su alimentación en los últimos 6 meses? (Trabajo, estudio) _____	
Apetito: Bueno _____ Malo _____ Regular _____	
¿Toma algún complemento/suplemento? _____	¿cual? y ¿por qué? _____

¿Ha utilizado medicamentos para bajar de peso? _____	¿cual? _____
¿Ha llevado algún régimen dietético? _____	
Duración _____	Cuánto se apegó a ella _____
Vasos de agua natural al día (L-J) _____	(V-D) _____
Otras: Leche _____ Jugo _____	Café _____ Otra _____
Alcohol: Cerveza _____	Otra _____

ANEXO C
CONSTANCIAS

Ciudad de México a 30 de enero de 2020
Oficio No: INMG-DED-SFA-042-2020
Asunto: Carta de término de estancia de verano

Dr. Manuel López Cabanillas Lomeli
Director de la Facultad de Salud Pública y Nutrición
Universidad Autónoma de Nuevo León
Presente

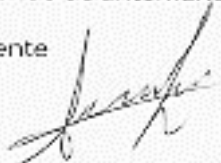
Estimado Dr. Cabanillas:

Por este medio hago constar que la estudiante Damaris Gabriela Bustamante Martínez, estudiante de Posgrado en Ciencias en Nutrición de la Facultad de Salud Pública, ha concluido satisfactoriamente una estancia académica de verano en el Instituto Nacional de Medicina Genómica, ubicado en Periférico Sur No. 4809, Col. Arenal Tepepan, C.P. 14610, Alcaldía Tlalpan, en México, Ciudad de México.

La alumna colaboró en el Consorcio Oncogenómica y Enfermedades Óseas, bajo la tutoría del Dr. Rafael Velázquez Cruz, Investigador en Ciencias Médicas del Instituto. El periodo de su estancia fue del 13 al 31 de enero de 2020, con un horario de lunes a viernes 9:00 a 18:30 horas, realizando actividades que se requieren para el proceso de sus tesis de maestría.

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

Atentamente



Lic. Ana Laura Escobedo Ramos
Subdirectora de Formación Académica

C.c.p. Dr. Rafael Velázquez Cruz- Investigador en Ciencias Médicas del Inmegen y Tutor del alumno. Presente.
Expediente del alumno.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FaSPyN

Facultad de Salud Pública y Nutrición

otorga a:

LN. Damaris Gabriela Bustamante Martínez

la presente

Constancia

Por su asistencia al **Curso de Certificación ISAK Nivel I**, llevado a cabo en la Facultad de Salud Pública y Nutrición – UANL durante los días **09, 10 y 11 de noviembre del año 2018** con una duración de **25.0 horas**.

"Alere Flammam Veritatis"

Monterrey, Nuevo León a 11 de noviembre del 2018.

DRA. BLANCA EDELIA GONZÁLEZ MARTÍNEZ
Subdirectora de Investigación, Innovación y Posgrado

MSP. LAURA CEPEDA PUENTE
Coordinadora de Educación Continua

10/11/2018
Pág. 2/1





FaSPyN

Libro: XXVIII

Foja: 392 / N.A.N.

Nombre: L.N. Demaris Gabriela Bustamante Martínez

Horas: 25.0

Asistente del:

Curso de Certificación ISAK Nivel I

Fecha: 07 / noviembre / 2018



Secretaría Académica de Posgrado

FaSPyN

Facultad de Salud Pública y Nutrición

Otorga a:

LN. Damaris Gabriela Bustamante Martínez

La presente

CONSTANCIA

Por su participación como asistente al Taller **"Revisión Sistemática"** llevado a cabo el día miércoles 27 de marzo en las instalaciones de la Facultad, con una duración de 6 horas.

"Alere Flammam Veritatis"
Monterrey, Nuevo León, a 27 de marzo de 2019



DRA. BLANCA E. GONZÁLEZ MARTÍNEZ
Subdirectora de Investigación, Innovación y
Posgrado



NUT. EDUARD BALADIA RODRÍGUEZ
Profesor Invitado



FaSPyN

Libro: XXIX

Folio: 34 / NCME

Nombre: L.N. Damaris Gabriela Bustamante Martínez

Horas: 8 horas

Fecha: 27 / Marzo / 2019



Secretaría Académica de Posgrado

FaSPyN

Facultad de Salud Pública y Nutrición



La Dirección de Enseñanza y Divulgación
otorga la presente **CONSTANCIA** a

Damaris Gabriela Bustamante Martínez

por su valiosa participación en el

6^o Encuentro Estudiantil

Las ciencias ómicas en la práctica clínica

en la categoría de **Maestría**, con el trabajo de investigación

Polimorfismos rs3801387 del gen WNT16 y rs7108738 del gen SOX6 y su relación con osteopenia/osteoporosis en mujeres postmenopáusicas del Norte de México

Bustamante-Martínez Damaris Gabriela,
Campos-Góngora Eduardo, Tijerina-Sáenz Alexandra,
Martínez-Báez Adbel, Ramírez-López Erik,
Paredes-Rivera Berenice, Jiménez-Salas-Zacarías,
Velázquez-Cruz Rafael.

Ciudad de México, a 25 de septiembre de 2020.

Folio:
INMG/DED/SFA/6EE-24


Dr. Oscar Arias Carrión
Director de Enseñanza y Divulgación

UNIVERSIDAD DE
GUANAJUATO



XX Reunión Internacional
de Ciencias Médicas

otorga el presente

RECONOCIMIENTO

a

DAMARIS GABRIELA BUSTAMANTE MARTINEZ

Por su participación en la XX Reunión Internacional de Ciencias Médicas.

Celebrada de forma virtual los días 14, 15 y 16 de octubre de 2020.

“La Verdad Os Hará Libres”


Dr. Tonatihu García Campos
Director de División de
Ciencias de la Salud


Dr. Maciste H. Macías Cervantes
Presidente del Comité Organizador
Director del Departamento
de Ciencias Médicas

CERTIFICADO COMUNICACIÓN PÓSTER

Con el presente certificamos que:

Zacarias Jiménez Salas

ha participado en calidad de presentador/a de la comunicación póster

**POLIMORFISMOS rs3801387 DEL GEN WNT16 Y rs7108738 DEL GEN SOX6 Y SU RELACIÓN CON
OSTEOPENIA/OSTEOPOROSIS EN MUJERES POSTMENOPÁUSICAS DEL ÁREA METROPOLITANA DE
MONTERREY, NUEVO LEÓN**

Damaris Gabriela Bustamante Martínez

Erik Ramírez López

Berenice Rivera Paredez

Zacarias Jiménez Salas

Alexandra Tijerina Sáenz

Eduardo Campos Góngora

Rafael Velázquez Cruz

Abel Martínez Báez

durante la celebración de la



CONFERENCIA

FINUT 2020

11-13 OCTUBRE VIRTUAL

Trabajando todos unidos por una nutrición mejor

Prof. Luis Moreno
Presidente del Comité Organizador

Prof. Angel Gil
Presidente de la Fundación
Iberoamericana de Nutrición (FINUT)

Prof. Benjamín Caballero
Presidente del Comité Científico



FINUT
Fundación Iberoamericana de Nutrición

RESUMEN CURRICULAR

LN. Damaris Gabriela Bustamante Martínez

Candidata al grado de Maestría en Ciencias en Nutrición

Tesis: Polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* y su relación con osteopenia/osteoporosis en mujeres postmenopáusicas del norte de México

Campo de estudio: Genética poblacional

Datos personales

Lugar de nacimiento: Guadalupe, Nuevo León, México.

Fecha de nacimiento: 03 de mayo de 1996

Estado civil: soltera

Nombre del padre: Jesus Bustamante Martínez

Nombre de la madre: Olga Isabel Martínez Hernández

2018-2020 Maestra en Ciencias en Nutrición, Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL). Tesis Polimorfismos rs3801387 del gen *WNT16* y rs7108738 del gen *SOX6* y su relación con osteopenia/osteoporosis en mujeres postmenopáusicas del norte de México.

Formación académica: 2013-2018 Licenciada en Nutrición, egresada de la Facultad de Salud Pública y Nutrición de la Universidad Autónoma de Nuevo León

Participación en congresos: 3