

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR,
FISIOLOGÍA, GENÉTICA E INMUNOLOGÍA**

PROGRAMA DE DOCTORADO CÁNCER: BIOLOGÍA Y CLÍNICA



**EFECTO DE LOS POLIMORFISMOS DE LONGITUD DEL
GEN DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENOS (CAG)_N Y
(GGN)_N SOBRE LA OSTEOPOROSIS**



**TESIS DOCTORAL PRESENTADA POR ALBERTO PURRIÑOS GONZÁLEZ.
CODIRIGIDA POR EL DR. BONIFACIO NICOLÁS DÍAZ CHICO,
EL DR. PEDRO SAAVEDRA SANTANA
Y EL DR. MANUEL SOSA HENRÍQUEZ**

Las Palmas de Gran Canaria, 2015

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, FISIOLOGÍA,
GENÉTICA E INMUNOLOGÍA**

PROGRAMA DE DOCTORADO CÁNCER: BIOLOGÍA Y CLÍNICA



**EFFECTO DE LOS POLIMORFISMOS DE LONGITUD DEL
GEN DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENOS (CAG)_N Y
(GGN)_N SOBRE LA OSTEOPOROSIS**

TESIS DOCTORAL PRESENTADA POR ALBERTO PURRIÑOS GONZÁLEZ.

CODIRIGIDA POR EL DR. BONIFACIO NICOLÁS DÍAZ CHICO,

EL DR. PEDRO SAAVEDRA SANTANA

Y EL DR. MANUEL SOSA HENRÍQUEZ

Las Palmas de Gran Canaria, Noviembre de 2015

*A Mari Carmen, por su presencia, continuo
aliento y enorme apoyo .*

*A Cristina por su gran alegría y estímulo
en estas aventuras de la vida .*

A ambas por su amor y cuidado.

Agradecimientos

Transcurrido este tiempo de total entrega y gran esfuerzo para materializar esta obra, debo reconocer que no habría sido posible sin la colaboración de unos y las aportaciones de otros.

Siendo un periodo duro, se torna más exigente, si cabe, cuanto más próxima está la consecución. En todo este periplo he ido percibiendo de muchas personas de mi entorno la respuesta a mi escasa presencia unas veces o la total ausencia en otras. Sin embargo reconozco que lo mínimo que he sentido ha sido respeto a mi decisión de embarcarme en este proyecto o aventura, como se quiera entender.

En muchas ocasiones he recibido aliento y en algunas hasta palabras de admiración por lo conseguido, pero afortunadamente lo que más ha abundado ha sido el cariño.

Quiero con estas palabras mostrar a todos los que han aportado algo a este proyecto, que además ha sido desinteresadamente, mi gratitud.

De forma especial e individualizada quiero agradecer profundamente a mis codirectores haber aceptado la aventura y haberla mantenido por buen rumbo.

A mi director principal, el doctor Bonifacio Nicolás Díaz Chico, Nico, quiero transmitirle el enorme orgullo y placer que ha supuesto para mí ser nuevamente tutelado por él. Su enorme sabiduría y gran humanidad hacen que todo parezca próximo y sencillo. Sin sus aportaciones hoy esta tesis no sería realidad.

A mi codirector, el doctor Pedro Saavedra Santana, quiero agradecerle todos sus esfuerzos, su ocupación y preocupación por nuestro trabajo y sus valiosísimas innovaciones. Debo decir que cuenta además de mi agradecimiento, con mi admiración por su gran capacidad.

A mí también codirector, el doctor Manuel Sosa Henríquez, por su orientación e impulso desde el inicio, Su apoyo y aliento ha supuesto un estímulo continuado. Su orientación y entusiasmo ha hecho superar los inconvenientes encontrados.

Al doctor Francisco Germán González Rodríguez quiero agradecer la imprescindible y generosa aportación de su amplio conocimiento en el campo del estudio genético para hacer posible este trabajo.

A Blanca Pilar Díaz Viera, "Pili", quiero expresarle mi más profunda gratitud por su aportación a esta tesis y por haber estado siempre presente transmitiendo la serenidad y seguridad, que irradia, además de su valiosa ayuda para salvar más de una vicisitud, cuando fue precisa.

A mis dos principales apoyos y estímulos, Mari Carmen y Cristina, quienes han sido las principales víctimas y, al tiempo, colaboradoras incansables. Su estímulo en momentos de desaliento y su participación directa, haciendo verdaderos sacrificios, en ocasiones, ha hecho posible conseguirlo.

A mis compañeros del servicio de urgencias, por su comprensión y sacrificio, al asumir parte de mi trabajo. Por mostrarme su cariño y respeto en todo momento. En especial quiero agradecer a algunos haber aportado sus consejos y sugerencias y hasta sus experiencias y conocimientos recientes con ánimo de ayudarme en los trámites engorrosos.

Mi agradecimiento también lo tienen Noemi Vega Rodríguez, José Sarmiento Santana y Néstor Rocha Sánchez, personal de la Unidad Metabólica Ósea, por su participación durante el proceso de toma de muestras, recogida de datos, etc.

Quiero agradecer a Juan Pablo Jiménez Jiménez por su aportación con el diseño de la portada de esta tesis, con gran inspiración y mejor resultado.

Finalmente, quiero recoger a todos aquellos, que suelen considerarse anónimos u olvidados, pero que para mí no lo son. Todos los que han aportado algo a este proyecto y a sus circunstancias pueden saber que cuentan con mi gratitud.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	V
ÍNDICE.....	VII
ÍNDICE DE TABLAS.....	XI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XIII
I. INTRODUCCIÓN.....	21
I.1 OSTEOPOROSIS	23
I.1.1 CONCEPTO. DEFINICIÓN. ETIOPATOGENIA	23
I.1.2 Clínica.....	39
I.1.3 Epidemiología	42
I.1.4 Diagnóstico	50
I.2 ANDRÓGENOS, RECEPTOR DE ANDRÓGENOS Y POLIMORFISMOS DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENOS	61
I.2.1 Andrógenos	61
I.2.2 Receptor de andrógeno.....	64
I.2.3 Polimorfismos del receptor de andrógenos	66
I.2.4 Mecanismo de acción del receptor de andrógenos.....	67
I.2.5 Efectos de los Polimorfismos del receptor de andrógenos.....	69
I.2.6 Andrógenos y Hueso	74
I.3 PLANTEAMIENTO E HIPÓTESIS	87
I.3.1 PLANTEAMIENTO de este estudio	87
I.3.2 HIPÓTESIS.....	91
II. OBJETIVOS	93
III. MATERIALES Y MÉTODOS	97
III.1 PARTICIPANTES.....	99
III.1.1 Permisos.....	99
III.1.2 Obtención de Información relevante de los participantes y exploración física	99
III.1.3 Diagnóstico de las fracturas.....	100
III.2 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA.....	101
III.2.1 Determinación de la densidad mineral ósea por absorciometría radiológica dual (DXA)	101
III.2.2 Determinación de parámetros de ultrasonografía cuantitativa (QUS).....	101
III.3 ESTUDIOS DE BIOQUÍMICOS.....	102
III.4 ANÁLISIS DE LOS POLIMORFISMOS (CAG) _N Y (GGC) _N	102
III.5 ANÁLISIS DE DATOS	104
III.5.1 Diseño	104
III.5.2 Datos analizados.....	104
III.5.3 Definiciones y valores de referencia para el análisis.....	105

<i>III.5.4 Análisis estadístico</i>	107
IV. RESULTADOS	111
IV.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS CASOS	113
IV.2 DISTRIBUCIÓN ALÉLICA PARA LOS MICROSATÉLITES (CAG) _N Y (GGN) _N	119
IV.3 ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DE LOS ALELOS (CAG) _N Y (GGN) _N DEL GEN DEL RECEPTOR ANDROGÉNICO PRESENTES EN CADA INDIVIDUO CON VARIABLES RELEVANTES EN OSTEOPOROSIS	126
IV.4 ANALISIS DE ASOCIACIÓN DE ALELOS (CAG) _N DEL GEN DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENOS Y DMO EN MUJERES POSTMENOPAUSICAS.....	143
IV.5 ANALISIS DE LAS REPETICIONES (CAG) _N DEL GEN DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENOS SOBRE EL RIESGO DE DESARROLLAR OSTEOPOROSIS EN LAS MUJERES MENOPÁUSICAS	153
IV.6 ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN ENTRE LOS GENOTIPOS SS, SL Y LL CON LA DXA Y QUS EN MUJERES PRE-MENOPÁUSICAS ..	157
V. DISCUSIÓN	161
V.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS CASOS	163
V.2 DISTRIBUCIÓN ALÉLICA PARA LOS MICROSATÉLITES (CAG) _N Y (GGN) _N	166
V.3 ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE ALELOS (CAG) _N , (GGN) _N Y OSTEOPOROSIS.....	166
V.4 ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE ALELOS (CAG) _N Y DMO EN MUJERES POSTMENOPÁUSICAS	170
<i>V.4.1 Análisis mediante dicotomización de las frecuencias de (CAG)_n</i>	170
<i>V.4.2 Mejora del análisis estadístico</i>	171
<i>V.4.3 Análisis mediante medias ponderadas de los alelos (CAG)_n de cada individuo, y aplicación de los modelos aditivos</i>	173
V.5 ANÁLISIS DE LAS REPETICIONES (CAG) _N SOBRE LA OSTEOPOROSIS	176
V.6 ¿QUÉ VALIDEZ TIENEN LOS HALLAZGOS DE ESTA TESIS?.....	177
VI. CONCLUSIONES	181
VII. BIBLIOGRAFÍA	185
VIII. ANEXOS	231
VIII.1: DATOS DE FILIACION	232
VIII.2: LISTADO GENERAL DE PROGRAMAS R	234

	Página
Tabla 1 Criterios diagnósticos de osteoporosis de la OMS	43
Tabla 2 Enfermedades y tratamientos que constituyen factores de riesgo de osteoporosis	59
Tabla 3 Definiciones de los T-scores para los marcadores DXA y QUS	105
Tabla 4.1 Descripción de la población total y según sexos	116
Tabla 4.2 Descripción de la población total y según sexos (continuación)	117
Tabla 4.3 Tratamientos	118
Tabla 5.1. Subgrupo de mujeres: clasificación según las longitudes de las repeticiones (CAG) _n	122
Tabla 5.2. Subgrupo de mujeres: clasificación según las longitudes de las repeticiones (GGN) _n	123
Tabla 5.3. Subgrupo de hombres: clasificación según las longitudes de las repeticiones (CAG) _n	124
Tabla 5.4. Subgrupo de hombres: clasificación según las longitudes de las repeticiones (GGN) _n	125
Tabla 6.1. Correlaciones de Spearman entre las repeticiones (CAG) _n y los marcadores (mujeres)	128
Tabla 6.2. Correlaciones de Spearman entre las repeticiones (GGN) _n y los marcadores (mujeres)	129
Tabla 6.3. Correlaciones de Spearman entre las repeticiones medias (CAG) _n y (GGN) _n y los marcadores (mujeres)	130
Tabla 6.4. Correlaciones de Spearman entre las repeticiones (CAG) _n y (GGN) _n y los marcadores (hombres)	131

Tabla 7. Modelos aditivos para los marcadores DXA en mujeres según edad, índice de masa corporal y media ponderada de las repeticiones (CAG) _n	135
Tabla 8.1. Subgrupo de mujeres postmenopáusicas : clasificación según las longitudes de las repeticiones (CAG) _n	144
Tabla 8.2. Subgrupo de mujeres postmenopáusicas : clasificación según las longitudes de las repeticiones CAG	145
Tabla 9. Modelos aditivos para los marcadores DXA en mujeres postmenopáusicas según edad, índice de masa corporal y media ponderada de las repeticiones (CAG) _n .	146
Tabla 10. Análisis de la osteoporosis en mujeres postmenopáusicas	154
Tabla 11. Modelo logístico aditivo para la probabilidad de osteoporosis.	157
Tabla 12. Subgrupo de mujeres premenopáusicas: clasificación según las longitudes de las repeticiones CAG	158
Tabla 13. Subgrupo de mujeres premenopáusicas: clasificación según las longitudes de las repeticiones CAG	159

	Página
Figura 1. Estructura del hueso	24
Figura 2. Interacciones de células de la médula ósea y osteoblastos-osteoclastos	26
Figura 3. Proceso de maduración de los osteoclastos a partir de los precursores hematopoyéticos, que experimentan un proceso de diferenciación y fusión hasta convertirse en células multinucleadas	28
Figura 4. Proceso de remodelación ósea, y relaciones autocrinas y paracrinas entre osteoclastos y osteoblastos a través de factores locales	29
Figura 5. Señalización bidireccional mediada por ephrin B2 en osteoclasto y EphB4	32
Figura 6. Fracturas vertebrales de columna lumbar	47
Figura 7. Fractura de cadera	48
Figura 8. Fractura de muñeca	48
Figura 9. Ruta de síntesis de las hormonas esteroideas	63
Figura 10. Organización genética del gen del receptor de andrógenos (AR) en el cromosoma X y principales dominios funcionales de la proteína codificada	65
Figura 11. Mecanismo de acción clásico o genómico del receptor de andrógenos ARE, elementos de respuesta androgénica	69
Figura 12. Metabolismo y mecanismo de acción de los andrógenos en el hueso	75

Figura 13. Familia de los receptores hormonales y su actividad en hueso	77
Figura 14. Efectos de los estrógenos y de los andrógenos en la remodelación ósea	78
Figura 15. Esquema de las acciones de las hormonas sexuales en hueso derivadas de modelos de ratón	79
Figura 16. Efecto de la castración sobre la acumulación de hueso perióstico en la rata	81
Figura 17. Cambios en la densidad mineral ósea y niveles de andrógenos en hombres y mujeres	83
Figura 18. Factores de diferenciación celular ósea distintos de las hormonas sexuales	85
Figura 19. Radiografía lateral de columna dorsal y lumbar mostrando varias fracturas vertebrales	100
Figura 20. Distribución de las repeticiones $(CAG)_n$ y $(GGN)_n$ según sexos	120
Figura 21. Modelos aditivos para los marcadores DXA en mujeres según edad, índice de masa corporal y media ponderada de las repeticiones $(CAG)_n$	133
Figura 22.1. Modelo aditivo para la DXA en la zona lumbar (L2-L4)	136
Figura 22.2. Modelo aditivo para la DXA en el total de cadera	137
Figura 22.3. Modelo aditivo para la DXA en el trocánter	138
Figura 22.4. Modelo aditivo para la DXA en el intertrocánter	139
Figura 22.5. Diagnóstico de los modelos aditivos	140
Figura 23.1. Correlaciones de Spearman entre las repeticiones $(CAG)_n$ y los marcadores DXA y QUS en hombres	141

Figura 23.2. Correlaciones de Spearman entre las repeticiones (GGN) _n y los marcadores DXA y QUS en hombres	142
Figura 24 .Modelos aditivos para los marcadores DXA en mujeres postmenopáusicas según edad, índice de masa corporal y media ponderada de las repeticiones (CAG) _n	147
Figura 25.1 Modelo aditivo para la DXA en el L2-L4 (mujeres postmenopáusicas)	148
Figura 25.2. Modelo aditivo para la DXA en el total de cadera (mujeres postmenopáusicas)	149
Figura 25.3 Modelo aditivo para la DXA en trocánter (mujeres postmenopáusicas)	150
Figura 25.4. Modelo aditivo para la DXA en el intertrocánter (mujeres postmenopáusicas)	151
Figura 25.5. Diagnóstico de los modelos aditivos (mujeres postmenopáusicas)	152
Figura 26.1. Modelo logístico aditivo para la osteoporosis	155
Figura 26.2. Efecto de las repeticiones (CAG) _n sobre la probabilidad de osteoporosis	156

Índice de abreviaturas

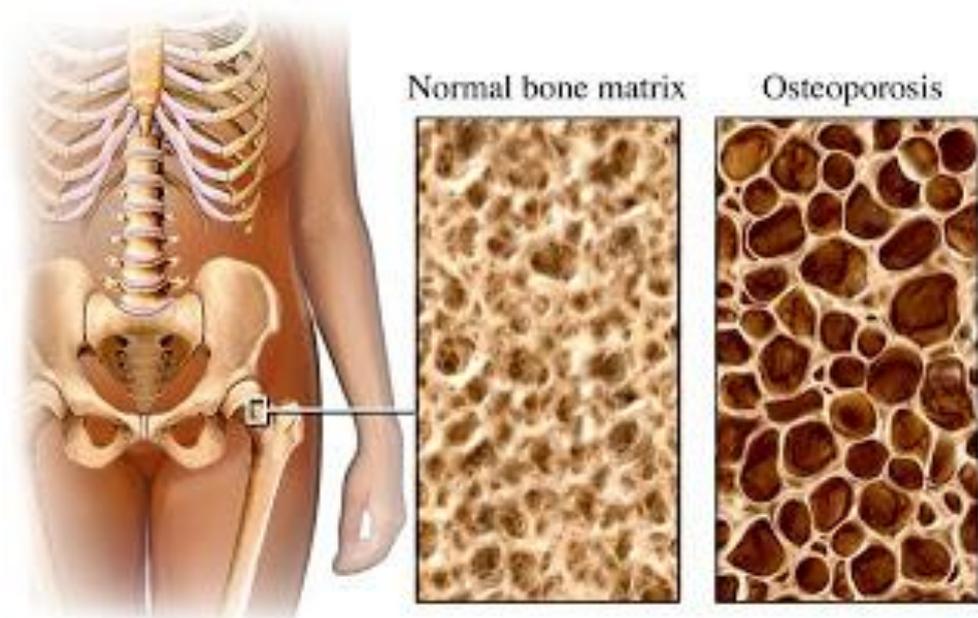
A Androstenediona	CT cáncer de testículo
ABP Proteína ligadora de andrógenos	CTX telopéptido carboxiterminal del colágeno I
ADN Acido Desoxiribonucléico	Curva ROC Característica operativa del receptor
AF-1 dominio N-terminal	CV Salud cardiovascular
AF-2 Dominio de unión con el ligando	DALYs (del inglés) Disability adjusted life years
AR Receptor de andrógeno	DBD Dominio central de unión con ADN
AREs Elementos de respuesta a andrógenos	DE Desviación estándar
ARKO Ratones a los que se ha suprimido el gen AR	DHEA Dehidroepiandrosterona
ARNm Ácido Ribonucléico mensajero	DHEA-S DHEA sulfatada
BA Atenuación de la banda de energía	DHT Dihidrotestosterona
BMI (del inglés) Body mass index	DMO Densidad mineral ósea
BMP Proteínas morfogenéticas del hueso	DXA Absorciometría por rayos X con doble nivel de energía X
BUA La atenuación de la onda de ultrasonidos	E1 Estrona
(CAG)_n Microsatelite poliglutamida	E2 Estradiol
CaMK Calmodulin kinasa	ECOSAP Estudio de ecografía en atención primaria
cAMP Adenosín monofosfato cíclico	

EPOS: (del inglés) European Prospective Osteoporotic Study	IC Intervalo de Confianza
ER Receptor de estrógenos	IGF-1 Factor de crecimiento insulínico tipo 1
EVOS (del inglés) European Vertebral Osteoporotic Study	IGFs Factor de crecimiento insulínico
FATR-5b Fosfatasa ácida tartrato-resistente 5b	IL-1 Interleucina-1
FGF factor de crecimiento de fibroblastos	IL-6 Interleucina-6
FRAX Modelo predictor de riesgo de fracturas	IMC Índice de Masa Corporal
FSH Hormona foliculoestimulante	IOF (del inglés) International Osteoporosis Foundation
(GGN)n Microsatélite poliglicina	IQR Rangos intercuartílicos
GH Hormona hipofisaria	ISCD Sociedad Internacional de Densitometría Clínica
GH-IGF1 Eje Hormona de crecimiento – Factor de crecimiento insulínico tipo 1	LBD Dominio de unión con el ligando
GM-CSF Factor estimulador de colonias de macrófagos	ICAG Repeticiones largas del CAG
gp130 Glicoproteína 130	LDB Dominio de unión al ligando
GR Receptor de glucocorticoides	LDL Lipoproteína de baja densidad
GSK Glucógeno sintetasa kinasa	LDL-c LDL colesterol
HD Región bisagra	IGGN Repeticiones largas del GGN
HDL-c Lipoproteína de alta densidad cíclica	LRP5 Receptor LDL
	LRP6 Correceptor LDL
	LH Hormona luteinizante
	M-CSF Factor de estimulación de colonias de macrófagos

MITF Factor de transcripción asociado con microftalmia	ORA (del inglés) Osteoporosis risk assessment
MR Receptor de Mineralocorticoides	OSIRIS (del inglés) Osteoporosis Index of Risk
NFATc1 Factor nuclear de células T activadas	OST (del inglés) Osteoporosis self-assessment tool
NFκB Nuclear factor κB	PCR Kit para la extracción del ADN
NHANES III (del inglés) Third National Health and Nutrition Examination Survey	PDGF Factor de crecimiento derivado de plaquetas
NIH (del inglés) National Institute Health	PGE2 Prostaglandina 2
NLD Dominio de localización nuclear	PICP péptido C-terminal del procolágeno tipo 1
NRC4 Subfamilia de receptores nucleares 3, grupo C, miembro 4	PINP propéptido N-terminal del colágeno tipo 1
NTX (del inglés) N-terminal telopeptide	PLCγ Fosfolipasa C
OB Osteoblastos	PR Receptor de Progesterona
OC Osteoclastos	PTH Hormona Paratiroidea
OMS Organización Mundial de la Salud	PTHrP Proteína relacionada con la hormona paratiroidea
OP Osteoporosis	QUALYs (del inglés) Quality-adjusted life years
OPG Osteoprotegerina	QUI El índice cuantitativo ultrasonográfico
OSCAR Receptor asociado al osteoclasto	QUS Ultrasonografía cuantitativa
OR Odds Ratio	RANK Activador del receptor del factor nuclear kappa B

RANKL Ligando de RANK	TCF/LEF Factor de las células T/factor estimulador de los linfocitos
RhoA (del inglés) Ras homolog gene family, member A	TDAH Trastorno de déficit de atención e hiperactividad
RM Resonancia magnética	TGFβ Factor de crecimiento
RR Riesgo relativo	TNF Factor de necrosis tumoral
sCAG Repeticiones cortas del CAG	TNFα Factor de necrosis tumoral alfa
SCORE (del inglés) Simple Calculated Risk Estimation	TRAF 6 Factor 6 del Receptor asociado al TNF
sGGN Repeticiones cortas del GGN	TREM-2 Receptor de activación expresado en las células mieloides 2
SHBG Globulinas ligadoras de hormonas sexuales	TSH Análisis de la hormona estimulante de la tiroides
SOS La velocidad de la onda	UMO Unidad Metabólica Ósea del Hospital Universitario Insular de Gran Canaria
T Testosterona	
TAC Tomografía axial computarizada	
TAD zonas con función de activación de la transcripción	
TAF-2 Activación de la transcripción dependiente de ligando	

I. INTRODUCCIÓN



I. INTRODUCCIÓN

I.1 OSTEOPOROSIS.

I.1.1 CONCEPTO. DEFINICIÓN. ETIOPATOGENIA

La osteoporosis es una enfermedad que inicialmente se definió como “demasiado poco hueso” por Albright¹, sobre la mitad del siglo pasado. Posteriormente en 1993, una reunión de expertos organizada por el National Institutes of Health (NIH)², añadió nuevos conceptos, aportando una mejor visión de la amplitud de la alteración y sus consecuencias. Esta definición describe a la osteoporosis como un “trastorno sistémico esquelético caracterizado por la disminución de la masa ósea y la alteración de la microarquitectura del tejido óseo, con el consiguiente aumento en la fragilidad del hueso y la susceptibilidad para la fractura”. Ya posteriormente en una nueva reunión de expertos de esta institución en el 2000, se simplifica señalando que se trata de una enfermedad “con una resistencia ósea deteriorada lo que predispone a la fractura” y se precisa, además, que “la resistencia ósea es el resultado de la integración de la densidad y la calidad óseas”³.

Este último concepto, la calidad ósea, está integrado por algunos parámetros cómo la microarquitectura, el recambio, la acumulación de daño y la

mineralización óseos. Se puede considerar todo aquello que no forma parte de la masa⁴.



Figura 1. Estructura del hueso.

El hueso (Figura 1) es un órgano vivo, con capacidad para renovarse, y por tanto mantener sus condiciones de resistencia. Esta renovación tiene lugar de forma permanente, y ha recibido el nombre de “remodelación ósea”^{5,6}. Lo realiza la llamada “unidad de remodelación ósea”. La velocidad con que se lleva cabo se conoce como “recambio” o “turnover óseo”. La osteoporosis es la consecuencia de una alteración en el remodelado óseo que consiste en un desequilibrado predominio de la resorción sobre la formación. El resultado es una masa ósea baja y alteraciones de la microarquitectura ^{7,8}.

A lo largo de la vida la generación de hueso, masa ósea, pasa por diferentes etapas. Tras el nacimiento y durante la infancia tiene un incremento lento, que se acelera de forma importante con la diferenciación sexual desde el comienzo de la pubertad. Continúa hasta el final de la tercera década, aunque no tan llamativa alcanzando entonces el punto “pico de masa ósea”⁹. A partir de este

momento comienza una lenta y continua pérdida de masa, que se acentúa y acelera intensamente en etapas perimenopausicas y postmenopausicas en las mujeres y ya tardíamente en el hombre, en edades más avanzadas.

La unidad de remodelación ósea^{10,6} consiste en un conjunto de células encargadas de destruir pequeñas porciones de hueso dañado, que son posteriormente sustituidas por la misma cantidad de hueso nuevo, en condiciones normales. Dichas células son de diversos tipos^{11,12}, pero dos de ellas son las protagonistas principales del proceso: los osteoclastos (OC) (encargados de destruir el hueso), y los osteoblastos (OB) (encargados de formarlo). Intervienen prestando su apoyo otras células¹³, como osteocitos, linfocitos, macrófagos, células endoteliales, neuronas, etc. (Figura 2). También lo hacen una serie de factores sistémicos que son humorales unos, como las hormonas (PTH, estrógenos, etc.) y factores mecánicos, otros. En cada momento puede haber más de un millón de unidades actuando en todo el esqueleto pero en diferente fase. El proceso completo de remodelación puede durar de 5 a 7 meses, comenzando por la “resorción ósea” y finalizando con la formación de nuevo hueso^{14,15}.

Además de este proceso existe otro que es el del modelado óseo¹⁶ que se realiza en la superficie externa del hueso, fundamentalmente, y tiene relación con el desarrollo, momento en que alcanza su máxima expresión, Persiste aún en etapas avanzadas de edad pero en muy baja proporción con respecto al total (menos del 3%). Consiste en la formación de hueso no precedida de resorción en determinados lugares (fundamentalmente el periostio, con lo que el diámetro externo del hueso aumenta)^{17,18} y la resorción en otros (endostio, para aumentar la cavidad medular, y algunas zonas del periostio –las que se deben transformar de metáfisis en diáfisis–)^{19,20}.

Para que actúe, la unidad de remodelación, debe primero formarse y después requiere mantener un “dialogo”, entre OB y OC, coordinado estrechamente mediante proteínas reguladoras que interactúan a través de mecanismos complejos autocrinos/paracrinos con intercambio de señales activadoras e inhibitoras²¹.

El proceso de la remodelación comienza con una fase de iniciación en la que se reclutan los precursores de los osteoclastos, su diferenciación a osteoclastos maduros (OC) así como su activación y polarización con lo que se mantiene la reabsorción ósea (2-3 semanas). Le sigue un periodo de inversión (2 semanas) en el cual los OC sufren apoptosis²² y los osteoblastos (OB) son reclutados y comienzan a diferenciarse. Supone un periodo de transición de la actividad de OC a la de los OB (2 semanas). La fase final es la de la formación ósea por los OB (hasta 200 días, según el tipo de hueso)^{15,23}.

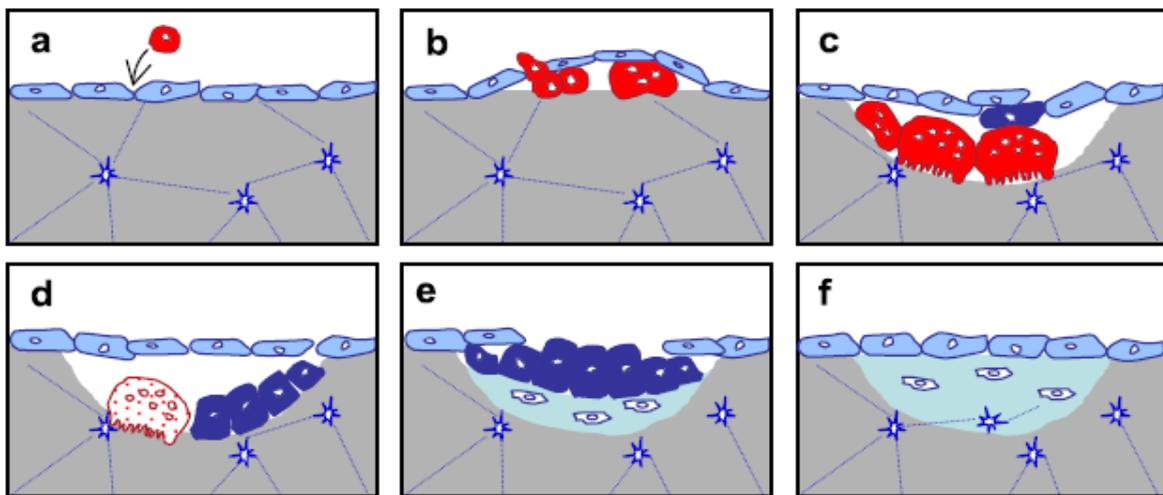


Figura.2. Interacciones de células de la médula ósea y osteoblastos-osteoclastos.

Se muestran las líneas celulares de osteoclasto (rojo) y osteoblasto (azul claro y oscuro). (a) Reclutamiento precursores de osteoclasto en la fase de iniciación temprana. (b) Diferenciación de los osteoclastos en la superficie del hueso bajo las células de superficie (azul claro) en la fase de iniciación. (c) Resorción ósea por los osteoclastos multinucleados que inducen la diferenciación de osteoblastos (azul oscuro) en la fase de transición. (d) Apoptosis de osteoclastos en la laguna de resorción en la fase de transición. (e) Formación de hueso por osteoblastos y generación de osteocitos en el osteoide en la fase de terminación. (f) Paso a quiescencia en la fase de terminación. Fuente: Koichi Matsuo, Naoko Irie. Osteoclast-osteoblast communication. Archives of Biochemistry and Biophysics. 2008; 473(2): 201-9.²⁴

I.1.1.1 ELEMENTOS DE LA REMODELACIÓN

Veamos a continuación los diferentes componentes que intervienen y regulan el proceso. Actúan a tres niveles diferentes pero de forma conjunta. Los primeros lo hacen directamente, los segundos localmente, complementando la acción de los primeros y los terceros lo hacen mediante una acción sistémica.

I.1.1.1.A. OSTEOCLASTOS

Los OC son grandes células multinucleadas, localizadas sobre la superficie del endostio, en los sistemas de Havers y en la superficie perióstica, bajo el periostio, fuertemente adherida a la matriz ósea. Son las únicas células capaces de reabsorber la matriz ósea calcificada²⁵. Proceden de la fusión de células mononucleares precursoras hematopoyéticas de la médula ósea que también dan lugar a monocitos en sangre periférica y a histiocitos y macrófagos en tejidos (Figura 3)²⁶.

Pueden estar en dos fases funcionales, la de movilidad o la resortiva, lo que le confiere diferencias en morfología y capacidades funcionales. Durante la primera migran desde la médula a los puntos de reabsorción. En la segunda desarrollan su función reabsortiva.

Para que se generen y diferencien los preosteoclastos se requieren factores producidos por las células mesenquimatosas de la médula, OB o T linfocitos²¹. Está mediado por tres vías independientes de transducción de señales, una mediada por cAMP, otra por gp130 y la tercera por el receptor de $1\alpha.25(OH)_2$.

La maduración de los OC precisa de la presencia de células mesenquimatosas medulares y de la estirpe de los OB. Estas producen dos moléculas esenciales, necesarias y suficientes, para promover la osteoclastogénesis que son el activador del receptor del factor nuclear kappa B (NF- κ B) (RANK) el ligando (RANKL) y el factor de estimulación de colonias de macrófagos (M-CSF)^{28,29}.

La diferenciación y fusión de los OC requiere de una serie de pasos regulados por una serie de factores osteoclastogénicos. La interacción célula a célula a través del RANK y RANKL presentes en la membrana celular, entre preosteoclastos, osteoblastos y células mesenquimatosas estimulan la formación, fusión, diferenciación y activación de los OC²⁰ (Figura4).

Por su parte el M-SCF producido por los OB y células mesenquimatosas es crítico para la maduración de los macrófagos y se une a su receptor específico

c-fms en los precursores osteoclásticos primarios promoviendo su supervivencia y proliferación^{30,31}.

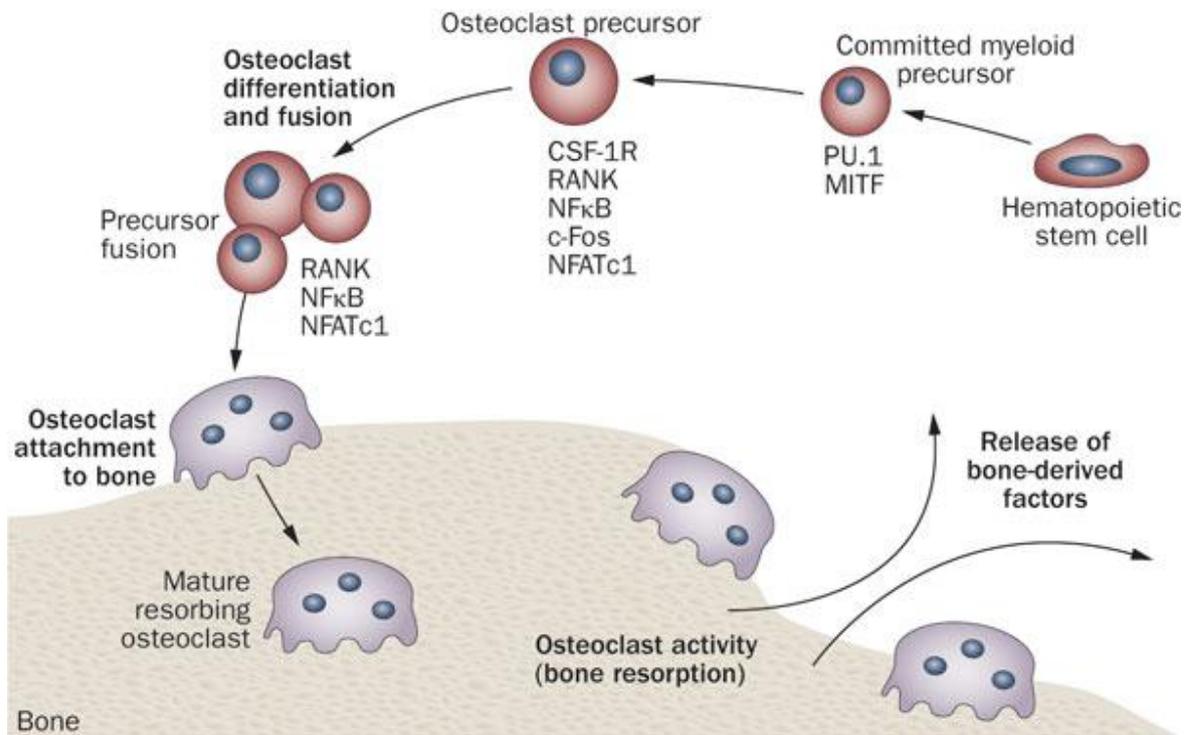


Figura 3. Proceso de maduración de los osteoclastos a partir de los precursores hematopoyéticos, que experimentan un proceso de diferenciación y fusión hasta convertirse en células multinucleadas.
 (Abreviaturas: MITF, micro-ophthalmia-associated transcription factor; NFATc1, nuclear factor of activated T cells, cytoplasmic 1; NFκB, nuclear factor κB; RANK, receptor activator of nuclear factor κB; RANKL, RANK ligand).
 Fuente: Edwards J.R., Mundy G.R. Advances in osteoclast biology: old findings and new insights from mouse models. Nature Reviews Rheumatology. 2011; 235-43.²⁷

El RANKL estimula a las células activadas por el M-SCF a cambiar al fenotipo de OC, manifestando tras esto marcadores de OC como la fosfatasa ácida resistente a tartrato. Con mayor estimulación de M-SCF y RANKL los preosteoclastos se fusionan y ya muestran marcadores más específicos de OC como los receptores de calcitonina y Catepsina K³².

La actividad del RANKL puede ser antagonizado por la presencia de un receptor trampa soluble, la Osteoprotegerina (OPG), que limita la unión con RANK e inhibe la diferenciación a OC³³⁻³⁵. La transmisión de la señal de RANKL está determinada por la proporción entre RANK y OPG combinada con

el receptor RANK en el precursor osteoclástico. Como la OPG lo producen los OB, le confiere un papel vital en el control de la resorción o formación ósea^{36,37}.

Con la unión del RANKL con su receptor se desencadena una cascada de transmisión de señales intracelulares en la que intervienen proteínas citoplasmáticas concretas (TRAF 6)³⁸ y tras una serie de procesos de fosforilación y degradación proteica liberan una sustancia (NFκB) que se transloca al núcleo y permite la transcripción de los genes específicos del OC.

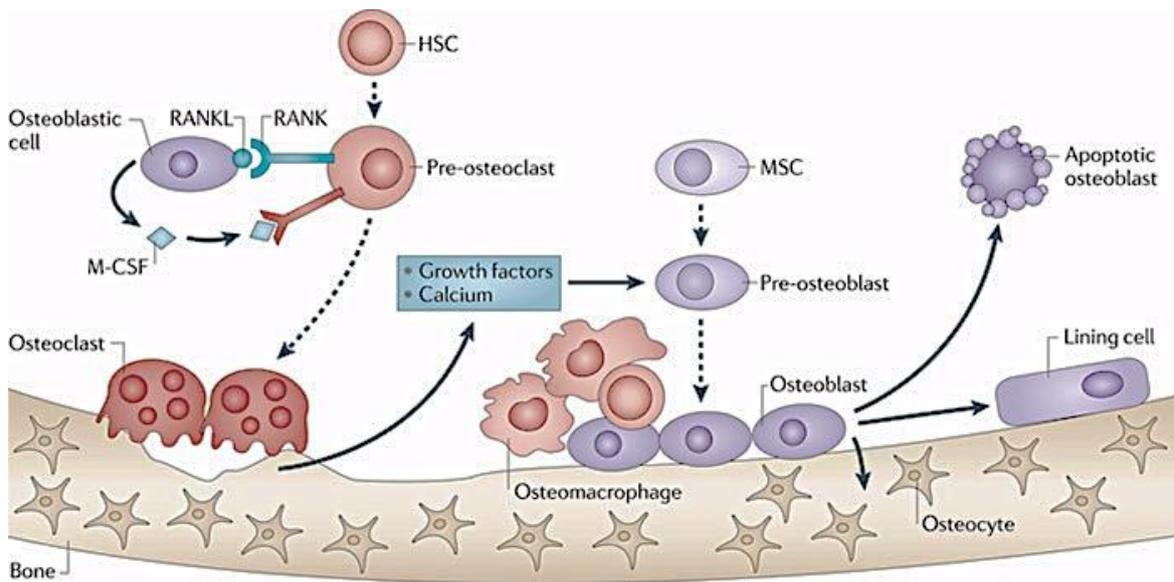


Figura. 4 Proceso de remodelación ósea, y relaciones autocrinas y paracrinas entre osteoclastos y osteoblastos a través de factores locales. Fuente: Tomado de Weilbaecher K. N., Guise T.A., McCauley L.K. Cancer to bone: a fatal attraction. Nature Reviews Cancer. 2011;11:411-25³⁹

A pesar de ser la vía del RANKL la esencial para la diferenciación del OC, son precisas otras vías coestimuladoras para este proceso. El factor de transcripción, factor nuclear de células T activadas (NFAT), también juega un papel importante en este proceso⁴⁰. Este factor es activado por variaciones del calcio estimuladas por RANKL y que se producen a través de coestimulación de receptores inmunoglobulina like como el receptor asociado al osteoclasto (OSCAR), el receptor gatillo expresado en las células mieloides (TREM-2) la participación de moléculas adaptadoras⁴¹. Estas señales activan la fosfolipasa C y (PLCγ) y secundariamente la liberación de calcio intracelular que llevan a la translocación de NFATc1 con la consiguiente transcripción y amplificación.

Añadido a esto la calmodulin kinasa (CaMK), importante elemento en la vía del flujo del calcio, juega un papel relevante en la diferenciación del OC y la reabsorción ósea inducida por RANKL^{42,43}.

Una vez diferenciados y cuando alcanzan la zona de reabsorción se polarizan, se transforma el citoesqueleto y para destruir hueso adopta una morfología concreta⁴⁴. En la región basal la parte de la membrana en contacto con aquél adopta un carácter rugoso, que en las imágenes histológicas se describe como “borde o ribete en cepillo” formado por microvellosidades a las que se vierten hidrogeniones y enzimas (principalmente catepsina K) con capacidad para destruir el hueso (unos el componente mineral, y los otros el colágeno)⁴⁵⁻⁴⁷. Además se genera un anillo de sellado, en la periferia de la zona rugosa, con la propiedad de unirse íntimamente y producir un ambiente sellado y aislado sin posibilidad de salida de ningún material⁴⁸. Este anillo lo forma fundamentalmente actina y en su superficie hay moléculas de integrina $\alpha\beta 3$, con gran apetencia por ciertas proteínas del hueso (vitronectina, fibronectina, osteopontina)⁴⁹.

I.1.1.1.B. OSTEOLASTOS

Son el único tipo de células responsable de la formación ósea. Proceden de células madre mesenquimatosas^{50,51}. Hay cuatro estadios madurativos conocidos en la diferenciación del osteoblasto, preosteoblasto, osteoblasto, osteocito y osteoblasto de superficie o revestimiento, desapareciendo tras su función. El preosteoblasto da lugar al osteoblasto y de este puede pasar a alguno de los dos siguientes o ir a la apoptosis⁵². No obstante la mayoría sufre apoptosis (50 – 70%). Se encuentran a lo largo de todo el hueso en áreas de formación activa de hueso.

Poseen un potente aparato ribosómico ya que tienen una intensa actividad productora de proteínas, fundamentalmente colágeno tipo 1, aunque también de otro tipo, como la osteocalcina, proteína ligadora de calcio, dependiente de

vitamina K, específica del hueso y fosfatasa alcalina, esencial para el depósito de mineral⁵³. Lo caracteriza la positividad en la detección de fosfatasa alcalina.

Además de sintetizar proteínas, el osteoblasto dirige la mineralización ósea. Sobre la zona destruida por el OC va depositando capas sucesivas de colágeno (osteoide) a las que después mediante liberación de vacuolas aportará fosfato cálcico⁵⁴. La mineralización se realiza progresivamente desde las capas más profundas a las superficiales, tras un tiempo de maduración del osteoide. Posteriormente la fosfatasa alcalina interviene destruyendo un inhibidor de la misma, el pirofosfato⁵⁵.

En cuanto al aspecto osteoformador del osteoblasto tiene como principal vía de señalización implicada en ella, pero no la única, la del sistema Wnt/ β -catenina. Las proteínas Wnt disponen de un complejo-receptor de superficie en el OB, formado por el receptor Frizzled, para el que existe un correceptor, proteína relacionada con el receptor LDL (LRP5) o el correceptor LRP6^{56,57}.

En ausencia de ligandos, a este complejo, la glucógeno sintetasa kinasa (GSK)-3 β procede a la fosforilación de la β -catenina y su posterior destrucción. Si ocurre la unión del Wnt se pone en marcha la inhibición de la actividad del enzima y se evita la fosforilación, acumulándose en el citoplasma la β -catenina y puede translocarse al núcleo donde da lugar a un aumento de los factores de transcripción “factor de las células T/factor estimulador de los linfocitos” (TCF/LEF), que estimulan los genes implicados en la formación ósea^{58,59}.

Hay otras sustancias que estimulan la formación de hueso por el osteoblasto, entre otras, son las proteínas morfogenéticas del hueso (BMP), el TGF β , IGFs, FGF, PDGF, endotelina, PTHrP, etc.

La vía Wnt/ β -catenina establece un nexo entre las funciones osteoformadora y antiosteoclastogénica de los osteoblastos, ya que la β -catenina está implicada en la regulación del equilibrio RANKL/OPG, desviándolo a favor de la segunda⁷.

Entre los OC y los OB se establece relación, además, mediante otro sistema ligando-receptor situado en las membranas de estas células, el sistema de las efrinas⁶⁰. El OC presenta la efrina B2 y el OB su receptor EphB4.

Produciéndose señales en ambas células, controlando su actividad, cuando se unen ligando y receptor, de tal forma que cuando los osteoclastos tienen que finalizar su actuación, tras 2-3 semanas, lo llevan a efecto a través de la OPG, y del sistema de las efrinas⁶¹⁻⁶³ (Figura5).

I.1.1.1.C. OSTEOCITOS

Derivan de los osteoblastos maduros y han quedado incluidos dentro de la nueva matriz ósea formada en las lagunas, donde residirán por largo tiempo hasta que finalmente sufren apoptosis. Están espacialmente aislados con respecto a otros pero sin embargo presentan^{64,65} prolongaciones (con un citoesqueleto rico en actina) que los unen entre sí y con las células de revestimiento y con los osteoblastos en la superficie del hueso^{66,67}.

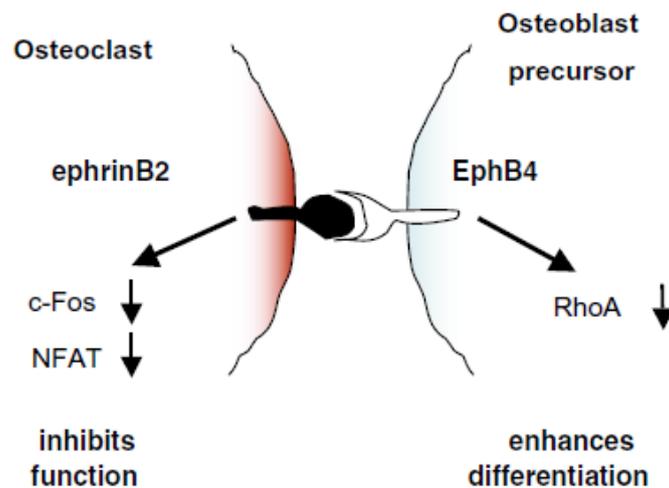


Figura 5. Señalización bidireccional mediada por ephrin B2 en osteoclasto y EphB4 en precursores de osteoblasto. La señalización inversa mediante ephrinB2 en los osteoclastos suprime su función reduciendo la actividad de c-Fos y NFATc1, mientras que a través deEphB4 en precursores de osteoblasto potencia su diferenciación al reducir la actividad RhoA.. Fuente: Koichi Matsuo, Naoko Irie. Osteoclast–osteoblast communication. Archives of Biochemistry and Biophysics. 2008; 473(2): 201–9²⁴.

Su función primordial consiste en determinar y mantener la estructura ósea controlando la remodelación, siendo responsables de la puesta en marcha así como de la finalización de la unidad de remodelación una vez formada la cantidad de hueso necesaria. Han demostrado ser mecanoreceptores capaces de traducir estímulos mecánicos musculoesqueléticos en mensajes biológicos. Ante microlesiones en la matriz ósea resultado de sobrecargas o situaciones patológicas sufren apoptosis y ponen en marcha el proceso de remodelado por

aumento de producción de RANKL y secundariamente de osteoclastogénesis, ya que se ha demostrado que los osteocitos presentan este ligando ⁶⁸.

Secreta el osteocito la esclerostina, un inhibidor de la formación ósea, que se considera un mediador de la respuesta del esqueleto a las condiciones mecánicas. Juega un papel esencial regulando la respuesta del hueso a la descarga. Se cree que se traslada a través de la red de los osteocitos hasta la superficie inhibiendo la vía de la Wnt/ β -catenina, mediante la unión al correceptor LRP5 y su bloqueo, inhibiendo la proliferación, empeorando la mineralización y favoreciendo la apoptosis ^{69,70}.

Además de esta acción un reciente estudio sugiere que la esclerostina puede estimular la formación y actividad de los osteoclastos a través de una vía dependiente del RANKL ⁷¹.

Por tanto la esclerostina producida por el osteocito puede regular tanto a OC como OB.

I.1.1.1.D. OSTEOLASTO DE SUPERFICIE O REVESTIMIENTO

Una parte de los OB se diferencian en células de revestimiento o de superficie óseas. Recubren la mayoría de las superficies que no están en remodelación. Se cree que el estímulo que desencadena la osteoclastogénesis puede estimular a estas células a un proceso de preparación de la reabsorción mediante la liberación de colagenasa que degradaría una fina capa de hueso no mineralizado y que expondría la matriz mineralizada ^{72,73}. Después formarían un dosel o cubierta sobre la zona favoreciendo un ambiente adecuado para el proceso ⁷⁴.

I.1.1.2 OTROS FACTORES LOCALES

Además de las células mencionadas y los mediadores descritos intervienen en la regulación de la remodelación ósea sustancias sintetizadas en otros tipos celulares presentes en el hueso como linfocitos T y B, macrófagos (osteomacs), células endoteliales, e incluso las propias células mesenquimales

(de las que derivan los osteoblastos). Su actuación sobre los OC suele ser indirecta a través de los OB y la combinación RANKL/OPG. Estos factores suelen ser citocinas y factores de crecimiento⁷⁵⁻⁷⁸. Unos, como las citocinas inflamatorias (IL-1, TNF, IL-6), promueven la destrucción mientras otros (la IL-4, los IGFs, las BMP, el GF β , la PTHrP, etc.) la generación, con un cambio en la masa ósea en el mismo sentido.

I.1.1.3 FACTORES SISTÉMICOS

Son de 2 tipos, hormonales y mecánicos. En cuanto a los primeros podemos referir los siguientes.

I.1.1.3.A. FACTORES HORMONALES

I.1.1.3.A.a. Hormona Paratiroidea (PTH)

La PTH endógena presenta un efecto estimulador de la destrucción ósea. Este efecto lo muestra también en administración continuada y lo hace a través de los OB y la producción de RANKL por ellos. Sin embargo administrado de forma intermitente estimula la formación⁷⁹.

I.1.1.3.A.b. Vitamina D

Es hipercalcemiante y además fundamental para la mineralización del hueso. Su acción la realiza a través del RANKL cuya expresión potencia, tanto en OB como OC, en los que tiene receptores específicos. Potencia la reabsorción en casos de hipocalcemia provocando la diferenciación y maduración osteoclástica y, por tanto. El OB se ve estimulado generando formación ósea a través de factores de crecimiento^{80, 81}.

I.1.1.3.A.c. Estrógenos

Sus efectos sobre la masa ósea son positivos por diferentes mecanismos^{82, 83}. Tanto los OB como los OC tiene receptores específicos desviando la relación

RANKL/OPG hacia la última en los segundos. También tienen la capacidad de inhibir citocinas inflamatorias resorptivas producidas por células inmunitarias, macrófagos y linfocitos. Además es conocido que su falta puede llevar a la apoptosis de los osteocitos.

I.1.1.3.A.d. Glucocorticoides

Estos a dosis fisiológicas mantienen y permiten la actividad de formación ósea pero sin embargo al aumentar la concentración la limitan, deprimiendo la actividad de los OB y potenciando inicialmente a los OC generando así una disminución de la masa ósea. Los glucocorticoides⁸⁴. Disminuyen además la producción de osteoprotegerina.

I.1.1.3.A.e. Calcitonina

Ha demostrado ser un potente agente antirresorptivo

I.1.1.3.A.f. Serotonina

Producida en las células serocromafines se muestra como un potente factor inhibidor de los OB⁸⁵, que tienen receptores específicos para ella.

I.1.1.3.B. FACTORES MECÁNICOS

Está demostrado que la carga mecánica ejerce sobre el hueso un efecto positivo, y su ausencia (ingravidéz, encamamiento), un efecto negativo, incrementando el recambio y favoreciendo la destrucción ósea. Parece que los osteocitos son los principales implicados en este efecto ya que detectan los cambios en la carga y es conocido que la falta de estímulo mecánico promueve apoptosis de los mismos. También la sobrecarga excesiva y continuada cambia de ser anabólica inicialmente a aumentar el recambio, posteriormente, con pérdida de masa. La modelación ósea no se afecta en esta circunstancia. Si bien no son conocidos los mecanismos por los que ocurren, parece que los osteocitos están implicados^{86, 87}.

I.1.1.4 ETIOPATOGENIA DE LA OSTEOPOROSIS

Una vez conocidos los elementos que actúan e influyen en la remodelación es preciso recordar que la alteración de su funcionamiento⁶ es parte importante de la generación de la osteoporosis. Antes comentábamos que la osteoporosis es consecuencia de la disfunción de las unidades de remodelación ósea, que como hemos visto están sometidas a una regulación multifactorial de delicado equilibrio. La disfunción puede ser debida a dos tipos de alteraciones. Por una parte el establecimiento del conocido como “balance negativo” y de otra el “aumento del recambio óseo” debido al incremento de unidades de remodelación.

El balance negativo ocurre cuando la cantidad de hueso generado por los OB es menor que el destruido por los OC y es un fenómeno que comienza, de forma normal a partir de los 40 años⁸⁸. Está relacionado con el descenso del número de OB, condicionado por la disminución de precursores, la de su diferenciación y la de su supervivencia, así como de la actividad individual. Influye también el descenso en el entorno del hueso de la concentración de factores estimuladores de estas células (p.ej: proteínas Wnt).

El aumento o de la resorción ósea es el otro factor que contribuye al balance negativo^{89,90} y es debido al incremento de la actividad osteoclástica con un efecto de mayor reabsorción en las trabéculas⁹¹ y el riesgo de perforación. Se acompaña de un incremento de la generación de unidades de remodelación y da lugar al fenómeno denominado “aumento de recambio”. El aumento de los osteoclastos guarda relación con la disminución de los estrógenos, que inhiben la osteoclastogénesis. La falta de estas hormonas probablemente también inhibe la actividad formativa por favorecer la apoptosis de los osteoblastos, lo que intensifica el balance negativo⁹⁰.

Si bien es necesario que exista el balance negativo para que se produzca la osteoporosis, es el aumento del recambio óseo el responsable de la rápida pérdida de masa ósea y sus consecuencias⁹². Tal es así que se conocen como “osteoporosis de recambio alto” aquellas donde este es el factor principal, como en la menopausia.

Existen varios tipos de osteoporosis que se pueden clasificar etiopatogenicamente en dos grupos, primarias y secundarias⁹³.

Dentro del primer grupo la más frecuente es la postmenopáusica⁹⁴, ligada a dos situaciones la menopausia y el envejecimiento. El cambio fundamental es la disminución importante de la producción de estrógenos que condiciona la pérdida de inhibición de la osteoclastogénesis⁹⁵ y secundariamente el predominio de la reabsorción sobre la reposición y así la pérdida de la masa y estructura ósea, teniendo como resultado mayor fragilidad capilar. El déficit de estrógenos influye en los niveles circulantes de citoquinas como la IL-1, TNF- α , factor estimulador de colonias de macrófagos (GM-CSF) y IL-6, de tal forma que estos van aumentando a medida que la primera disminuye. Como consecuencia se incrementa la reabsorción ósea por el reclutamiento, diferenciación y activación de osteoclastos^{96,97}. Este proceso está mediado por el RANKL, producido por los osteoblastos y otras células involucradas y conduce a una reabsorción ósea aumentada⁹⁸.

Otro tipo de osteoporosis primaria es la involutiva, que está relacionada con el envejecimiento y afecta igualmente a hombres y mujeres. En su producción, como mecanismos patogénicos, se han considerado un balance cálcico negativo y un cierto grado de hiperparatiroidismo secundario que se va presentando normalmente con el aumento de edad. Pero recientes estudios sugieren que, nuevamente, la deficiencia de estrógenos, tanto en hombres como mujeres, pueden tener una influencia importante, en etapas avanzadas de la vida regulando la homeostasis cálcica extra esquelética. Pueden modular el balance cálcico favoreciendo su absorción intestinal y limitando su eliminación renal. Además, se ha descrito una influencia activa de los estrógenos en el metabolismo de la vitamina D y su capacidad para disminuir la reserva secretora de parathormona (PTH). Estas circunstancias han permitido la elaboración de un modelo unitario de osteoporosis involutiva en el que la deficiencia de estrógenos desempeña un papel central⁹⁹.

La osteoporosis en el hombre es menos frecuente que la postmenopáusica. En este la disminución de masa ósea con la edad no se establece a expensas de un aumento del recambio (ya que no hay una disminución rápida de producción

de estrógenos como en la menopausia), sino del balance negativo, de forma que sus trabéculas más que sufrir un proceso de perforación y desconexión, lo hacen de adelgazamiento. Como se puede apreciar la heterogeneidad de esta entidad permite que en algunos casos exista esta enfermedad sin que el recambio óseo esté aumentado, como ocurre en este caso de la osteoporosis idiopática del varón, aunque hay que reiterar que estas circunstancias clínicas son bastante menos frecuentes¹⁰⁰.

La osteoporosis secundaria tiene sus causas fundamentales en complicaciones de otras situaciones patológicas (enfermedades), cambios en la actividad física o resultados adversos de actuaciones terapéuticas para ciertos trastornos (fármacos, p. ej.)³.

Dentro de estas la más frecuente es la osteoporosis por glucocorticoides en la que hay un aumento del riesgo de fractura independiente de la densidad mineral ósea (DMO) y relacionada con la dosis diaria y con la acumulada. Dosis bajas incrementan el riesgo de fractura vertebral¹⁰¹. Este disminuye tras la retirada del tratamiento pero permanece elevado con respecto a los que no han sido tratados¹⁰². De un modo general, podemos considerar que la mitad de los pacientes tratados durante más de 6 meses con glucocorticoides tendrán osteoporosis. La mayor pérdida ósea se produce durante los 3 primeros meses de tratamiento por el efecto inhibitor de apoptosis de los osteoclastos¹⁰³. Esta acción se potencia por el aumento de la apoptosis de los osteoblastos con la consecuente disminución de la formación ósea. El músculo además se atrofia perdiendo fuerza y resistencia con lo que también se pierde parte del efecto mecánico sobre el hueso y aumenta el riesgo de caídas con, al menos posibles microfracturas, secundariamente.

Si bien hasta ahora hemos comentado sobre la pérdida de masa y de la estructura y nos hemos referido con algún detalle a las trabéculas hay que señalar que esto sucede en el hueso trabecular. En el hueso cortical la morfología histológica es diferente y por tanto el proceso de pérdida de masa ósea ocurre de otra forma. Se produce un adelgazamiento de las paredes de los sistemas de Havers, lo que determina una mayor anchura de su canal, que se aprecia en los cortes histológicos transversales como cavidades circulares,

que proporcionan al tejido óseo un aspecto poroso, por lo que se habla de “porosidad cortical”^{104,105}. Este hallazgo fue lo que llevó a la denominación de esta enfermedad como osteoporosis a finales del siglo XIX.

I.1.2 CLÍNICA

La osteoporosis es una enfermedad que no presenta ninguna sintomatología. Por esto y su alta prevalencia se le ha llamado la “epidemia silenciosa”^{106,107}. Frecuentemente se le atribuye el dolor como una manifestación clínica pero generalmente es debido a una de sus complicaciones, la fractura, La osteoporosis en si misma no duele ni produce ningún tipo de sintomatología. La clínica de esta enfermedad viene condicionada por las fracturas. No es infrecuente que los pacientes presenten otro tipo de enfermedades de frecuente aparición, como artrosis y procesos inflamatorios, que se dan en las mismas etapas de la vida y en ocasiones coinciden¹⁰⁸.

En cuanto a la clínica es importante conocer de una parte las manifestaciones y de otra comprender el riesgo de futuras nuevas fracturas, lo que someramente consideramos a continuación.

I.1.2.1. MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y RIESGO DE FRACTURAS

Las manifestaciones clínicas se deben, pues, a su complicación más frecuente. La fractura osteoporótica se produce por la vulnerabilidad de la estructura ósea y por esto se denomina “fractura por fragilidad”. Constituye la principal, si no la única, complicación clínica de la osteoporosis¹⁰⁹. Como características tienen que se producen por un traumatismo de baja energía como una caída desde la propia altura (posición de bipedestación), suelen suceder superados los 50 años de edad y además tienen localizaciones precisas, aunque pueden suceder en cualquier hueso del esqueleto o localización anatómica. Las fracturas en etapas más juveniles precisan de mayor energía por lo que son fractura traumáticas. Se localización, más frecuentemente, en columna vertebral, en la extremidad distal del radio, la, extremidad proximal del fémur (llamada erróneamente fractura de cadera) y la extremidad proximal del húmero.

Las fracturas suelen clasificarse de modo más general como vertebral y no vertebral, aunque algunos autores consideran que esta división no recoge la importancia de algunas al clasificarlas como no vertebrales. Las no vertebrales incluyen las de húmero, pelvis, costillas, así como otras de frecuencia menor y no suelen considerarse osteoporóticas las de dedo, cráneo y en debate están las de tobillo⁹⁹.

La fractura vertebral es la más frecuente y suele tener una presentación característica que consiste en dolor de espalda, localizado sobre la columna, de comienzo brusco, agudo, intenso que se exagera con los movimientos y disminuye con el reposo, aunque también puede ser asintomática. Suele ser incapacitante, condicionando la calidad inmediata del paciente con imposibilidad para dormir y desarrollar tareas habituales o incluso básicas. La desaparición es progresiva pero a partir de la 2ª o 3ª semana para ser definitiva tras 2 – 3 meses, aunque a menudo el dolor se vuelve crónico. Puede producir irradiación a costillas o a miembros inferiores, según la localización de la lesión, y en la fase aguda puede ir acompañado de contractura muscular antiálgica.

Se puede deber a un esfuerzo mecánico o de carga o bien a una posición forzada con movimientos extremos, como flexiones, extensiones o agacharse. Aunque también puede ocurrir que no haya causa aparente.

A pesar de lo anterior hay que señalar que dos terceras partes de las fracturas vertebrales son asintomáticas y son hallazgos casuales o se confirman mediante estudio radiológico de columna. Esto da pie a clasificarlas como clínicas o morfométricas, estas últimas solo evidenciable por técnicas de imagen^{110,111}. Dado que no se trata de fracturas de gran energía y la estructura y morfología de la vertebra, el hallazgo será el de la imagen de un aplastamiento con disminución de la altura del cuerpo vertebral, de características específicas. Pueden localizarse en la porción anterior (cuña), media (diábolo) y posterior.

Algunos pacientes, como consecuencia de las alteraciones estructurales de la columna, pueden desarrollar una inestabilidad de la columna, con contractura muscular paraespinal, tensión ligamentosa e incongruencia de las carillas articulares que pueden ser la causa de dolores crónicos axiales¹¹².

Las fracturas vertebrales torácicas suelen producir una compresión en cuña anterior que da origen, cuando son múltiples, a la cifosis característica de estos pacientes (“joroba de la viuda”). Las lumbares suelen aplastarse en su altura central (vértebras en diábolo). La situación más forzada se presenta cuando hay pérdida de altura de los cuerpos vertebrales importante, disminuyendo la distancia entre la parrilla costal y la pelvis, que en algunos pacientes incluso llega a contactar siendo doloroso (síndrome costo-pélvico). Además las modificaciones morfológicas y funcionales de la columna pueden dificultar la dinámica torácica (patrones restrictivos de ventilación) y alterar la ventilación. También el abdomen se ve comprometido. Pierde capacidad de volumen, haciéndose prominente y modificándose el tránsito intestinal.

Puede aparecer pérdida de altura cuando se suman varios aplastamientos vertebrales. Esto se puede confirmar si hay una disminución de la proporción envergadura (distancia con los brazos extendidos de punta a punta de dedos medios) / talla, que debe ser igual a 1. O bien, para algunos autores, si hay una disminución superior a 3 cm en dos años, lo que sería un signo indirecto de fracturas vertebrales.

Este tipo de fractura no suele acompañarse de complicaciones neurológicas (medulares o radicales) como si ocurre en las traumáticas o de otro origen¹¹³. La aparición de estas debe constituir un signo de alerta y hacernos pensar en que se trata de una fractura no osteoporótica¹¹².

De todas las fracturas reseñadas la más grave es la de cadera, secundaria, generalmente, a una caída. Y lo es porque la mayor tasa de mortalidad, asociada a fracturas osteoporóticas, está relacionada con ella, aunque la causa no sea complicación o consecuencia de ella, ni de la intervención quirúrgica realizada. La mortalidad es del 20-30% en el primer año, lo que significa que el riesgo de muerte aumenta de 2 a 10 veces por encima de lo esperado en la población de similares características¹¹⁴. Representa además elevados costes sociales porque la mayoría quedan con secuelas o limitaciones que les lleva a tener una discapacidad residual e incluso a no poder continuar con una vida independiente, en un porcentaje de casos.

La fractura distal de antebrazo y la de muñeca o fractura de Colles con ser frecuentes no se considera grave por sus repercusiones inmediatas y sus escasas complicaciones relacionadas, aunque en ocasiones precisen también de intervención quirúrgica. Su relevancia estriba en que son un marcador de riesgo significativo para futuras fracturas vertebrales o de cadera¹¹⁵.

Un aspecto, no menos importante a considerar es el psicológico y social, por las repercusiones que todo el episodio de la fractura y sus consecuencias tiene en el paciente y su entorno familiar. La depresión es el trastorno psíquico más frecuente tras una fractura de este tipo, aunque también puede haber otras reacciones emocionales como ansiedad, miedos a nuevas fracturas, que influyen en la recuperación de los paciente¹¹⁶.

Finalmente, hay que dar importancia a los datos obtenidos de una historia clínica y exploración física, que pueden poner de manifiesto síntomas y signos de otras enfermedades capaces de producir una osteoporosis secundaria como complicación de las mismas y también a los hallazgos de las pruebas complementarias en las que en ocasiones se encuentran imágenes de fractura vertebral sin diagnóstico previo^{117,118}.

I.1.3 EPIDEMIOLOGÍA

La osteoporosis es un problema sanitario global cuya importancia va en aumento con el envejecimiento de la población. Se trata de un proceso prevenible y tratable, pero siendo asintomático, la falta de signos de alerta previos a la aparición de fracturas, conlleva que pocos pacientes sean diagnosticados en fases tempranas y tratados de forma efectiva. Se ha comprobado, en estudios, que un 95% de los pacientes que presentan una fractura por fragilidad no tenían un diagnóstico previo de osteoporosis¹¹⁹.

En 1994, la Organización Mundial de la Salud (OMS), estableció unos criterios que han servido de definición, basados en mediciones de masa ósea en columna lumbar, cadera o antebrazo en mujeres postmenopáusicas de raza blanca¹⁰⁶. A partir de este momento los estudios se basaron,

fundamentalmente, en estos criterios, relacionados con mediciones de DMO. Estos criterios permiten relacionar los valores obtenidos en mujeres postmenopáusicas con los de mujeres jóvenes sanas y considera normalidad, osteopenia y osteoporosis, según la desviación respecto a la media (Tabla 1). Actualmente se han modificado y unificado la zona de medición, que se ha asignado al trocánter.

Tabla 1 Criterios diagnósticos de osteoporosis de la OMS

Diagnóstico	Criterio sobre DMO (índice T o T-score)
Normal	DMO T ≥ -1 DE
Osteopenia o densidad mineral ósea baja	DMO T < -1 y $> -2,49$ DE
Osteoporosis	DMO T $\leq -2,5$ DE
Osteoporosis grave	DMO T $\leq -2,5$ DE + fractura

DE: desviación estándar; DMO: densidad mineral ósea; índice T (T-score): comparación con valor DMO alcanzado en población joven de referencia.

En 1995 y siguiendo los primeros criterios Melton y cols. estimaron la prevalencia de osteoporosis en mujeres de raza blanca mayores de 50 años, siendo del 15%, cuando se mide en una de las tres localizaciones habituales (columna, cadera o muñeca). y del 30% cuando se mide en todas ellas¹²⁰. Aumenta con la edad, desde el 15%, para las comprendidas entre 50 y 59 años, hasta una mayor al 80% para aquellas con edad superior a 80 años¹²¹. Sin embargo en hombres mayores de 50 años la prevalencia es de un 8%, según los datos del estudio NHANES III¹²² en hombres.

Un estudio realizado por Díaz Curriel y cols.¹²³ en 2001, recoge que se calculó que 2 millones de mujeres y 800.000 hombres presentan osteoporosis en España. Se realizó DXA (absorciometría por rayos X con doble nivel de energía X) a 1.305 mujeres españolas entre 20 y 80 años se encontró una prevalencia de osteoporosis en mujeres > 50 años del 26,07%.

Los estudios en hombres indican que la prevalencia es del 8,1%, en mayores de 50 años¹²⁴ y asciende con la edad hasta el 11,3% en mayores de 70 años¹²⁵. La osteoporosis del varón representa un importante y creciente problema de salud, que se encuentra, infradiagnosticado, en la población general. Se caracteriza por una morbimortalidad mayor que en la mujer y su alta prevalencia de osteoporosis secundaria. En menores de 70 años con osteoporosis entre un 40 y un 60% presenta una osteoporosis secundaria con su origen más frecuente en el consumo de alcohol excesivo, la toma de glucocorticoides y el hipogonadismo primario o secundario.

Si el riesgo inicial de la osteoporosis es la producción de fractura por fragilidad, esta, a su vez, condiciona un mayor riesgo de nuevas fracturas posteriormente^{126,127} y genera una situación de desventaja para el varón. Después de sufrir una fractura vertebral existe un aumento de 7-10 veces para sufrir nuevas fracturas vertebrales y la presencia de deformidad vertebral prevalente predice una fractura de cadera, incidente con un cociente de riesgo de entre 2,8 y 4,5, aumentando éste con el número de deformidades vertebrales¹²⁸⁻¹³⁰. A su vez Lindsay et al. publicaron que el 20% de los pacientes que tienen una fractura vertebral, sufren una nueva fractura de estas características al cabo de 1 año¹³¹. Además no es infrecuente la coexistencia de varios tipos de fracturas por fragilidad, en los pacientes con osteoporosis, lo que quedó patente en un estudio cooperativo multicéntrico nacional, realizado en mujeres ingresadas por presentar una fractura de la extremidad proximal del fémur. En este se observó que al menos en el 62,6% había también una fractura vertebral presente, destacando el hecho de que en, prácticamente en ninguno de los casos, se había realizado previamente al estudio el diagnóstico de fractura vertebral¹³².

Con respecto a la desventaja para el varón comentada hay que señalar que tras una fractura por traumatismo de baja intensidad el riesgo relativo de otra fractura es mayor en hombres (OR: 3,4; 95% IC: 2,68-4,48) comparado con las mujeres (OR: 1,95; 95% IC: 1,7-2,25) mientras que la probabilidad de ser estudiado o tratado tras una fractura de cadera es menor en hombres (4,5%) que en mujeres (49,5%), de forma llamativa¹³³⁻¹³⁷.

Además la mortalidad en el primer año aumenta en personas que han sufrido una fractura de este tipo y se observa, así mismo, que hay mayor mortalidad en hombres. La mortalidad hospitalaria por fractura de cadera y fractura vertebral es el doble en hombres que en mujeres (10% y 4,7%) y la mortalidad al año de la fractura sigue siendo mayor en hombres que en mujeres (35-37% y 28%). Se postula, por algunos autores, que sobre esta diferencia de morbimortalidad podría influir parcialmente la mayor prevalencia de comorbilidades y la menor asistencia terapéutica, observada en hombres que han sufrido estas fracturas por fragilidad.

Tanto en estudios descriptivos como en estudios de cohorte ha quedado demostrado este incremento de mortalidad al comparar pacientes, con este tipo de fractura, con controles de sus mismas características (edad y sexo) que no han tenido fracturas.

El estudio Dubbo, desarrollado en Australia entre 1989 y 2004 en una población de 2.413 mujeres y 1.898 hombres de más de 60 años, se confirman los datos previos y también se observó que los que habían sufrido una fractura osteoporótica tenían una mayor mortalidad en comparación a los que no. En esta cohorte, los hombres presentaron mayor mortalidad que las mujeres en todas las fracturas¹³⁴.

En algunos estudios se recoge la expresión “exceso de mortalidad”, referida a los pacientes con osteoporosis que ya son, por lo general, de edad avanzada, y especialmente aquellos con fractura de la extremidad proximal del fémur, en los que de manera natural tienen una mortalidad elevada¹³⁸⁻¹⁴⁰.

I.1.3.1 EPIDEMIOLOGÍA DE LAS FRACTURAS OSTEOPORÓTICAS

Nos referiremos a continuación a cada una de las fracturas osteoporóticas.

I.1.3.1.A FRACTURA VERTEBRAL

Dada la ausencia de sintomatología y de consenso en la definición radiológica de las deformidades resulta difícil establecer la prevalencia de fractura vertebral. Según datos de estudios europeos, en mujeres mayores de 50 años entre un 20 y 25% se presentará una fractura vertebral por la osteoporosis.

Son, sin embargo, infrecuentes en menores de 50, pero aumentan exponencialmente con la edad¹⁴¹⁻¹⁴³. Las deformidades vertebrales encontradas en radiografías de columna dorsal y lumbar (Figura 6) son tres veces más frecuentes que las fracturas de cadera, aunque solo un tercio de las primeras requieren atención médica y solo en menos del 20% requieren hospitalización. Sin embargo incrementan un 50% el riesgo de fractura de cadera¹⁴⁴⁻¹⁴⁵.

La incidencia anual se considera del 1% en mujeres de 65 años, 2% en las de 75 años y 3% en las mayores de 85 años. Los hombres mayores de 50 años, sin embargo muestran una incidencia de 5,7 a 6,8/1.000 personas/año, lo que equivale aproximadamente a la mitad de la observada en mujeres¹⁴⁶ y permanece prácticamente constante con la edad.

Estudios en población europea como el European Prospective Osteoporotic Study (EPOS) y European Vertebral Osteoporotic Study (EVOS), coinciden aproximadamente, señalando que a los 75-79 años de edad, la incidencia de fractura vertebral es de 29,3/1.000 personas/año para mujeres y de 13,6/1.000 personas/año para hombres y que la incidencia global por edad fue de 10,7/1.000 personas/año en mujeres y 5,7/1.000 personas/año en hombres^{146,147}.

Después de una deformidad vertebral existe un aumento de 7-10 veces para nuevas deformidades vertebrales y la presencia de deformidad vertebral prevalente predice una fractura de cadera incidente con un cociente de riesgo de 2,8-4,5 y este aumenta con el número de deformidades vertebrales¹²⁸⁻¹³⁰.

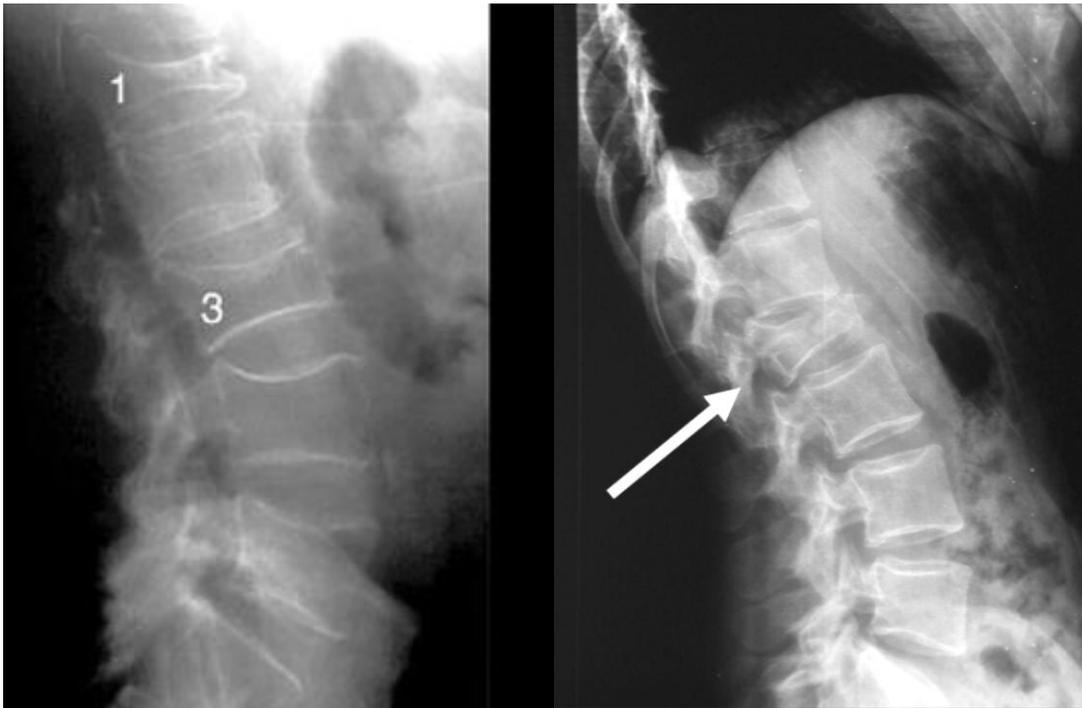


Figura 6. Fracturas vertebrales de columna lumbar

I.1.3.1.B FRACTURA PROXIMAL DE FÉMUR

Este tipo de fractura (Figura 7) es considerada la fractura osteoporótica más importante por su alta morbilidad asociada. La recuperación completa ocurrirá en menos del 50%, mientras que el 25% precisará cuidados domiciliarios y un 20% dependencia continúa tras la fractura.

Son más frecuentes en mujeres, con una proporción 3/1 sobre el varón, y una edad de presentación más frecuente entre los 75 y 80 años. Su incidencia se incrementa con la edad a partir de los 50 años lo hace de forma exponencial pasando de ser de 2/100.000 personas/año en menores de 35 años a 3.000/100.000 en mayores de 85 años¹⁴⁹.

La morbilidad ha quedado ya reflejada anteriormente pero hay que señalar que diferentes estudios realizados sobre la epidemiología de esta fractura, en nuestro país^{134,150,151}, ha mostrado que la mortalidad en su fase aguda, considerada como tal el primer mes tras la fractura, oscila entre el 6-10%¹³⁴, pero aumenta hasta el 30% en el primer año tras la fractura¹⁵⁰ y llega hasta el 40% a los 2 años.



Figura 7. Fractura de cadera

I.1.3.1.C FRACTURA DISTAL DEL RADIO

Es más frecuente en mujeres, con una relación mujer-varón de 4 a 1, en la perimenopausia. En las mujeres estas fracturas son más frecuentes en la perimenopausia y su incidencia aumenta rápidamente tras la menopausia para estabilizarse a los 65 años. Sin embargo en hombres la incidencia permanece constante con la edad.

Este tipo de fractura (Figura 8) solo requiere hospitalización en menos del 20% de los casos, pero incrementan un 50% el riesgo de fractura de cadera^{144,145}.



Figura 8. Fractura de muñeca

I. 1.3.2 SITUACIÓN EN EL ENTORNO EUROPEO Y ESPAÑA

En un estudio publicado en 2013 por Hernlund et al.¹⁵², en el que hacen una revisión de la literatura, de 2010, sobre la incidencia de fracturas osteoporóticas y una estimación del costo en ese año y posteriores, en 27 países de la U E, se recogen datos similares a los ya referidos anteriormente, con variaciones entre países y dentro de cada uno por razones no conocidas pero en parte relacionada con diferencias de prosperidad económica.

Se estimó que 32 millones de mujeres y 5,5 de hombres tenían OP. Se confirmaron 3,5 millones de nuevas fracturas por fragilidad, que comprendían 610.000 de cadera, 520.000 vertebrales, 500.000 de antebrazo y 1.800.000 de otras fracturas. Las más frecuentes fueron las de cadera, columna, antebrazo y húmero. A los 50 años la posibilidad de años de tiempo de vida de una de estas fracturas es del 46% y 22% en mujeres y hombres, respectivamente.

El costo económico del incidente y las más importantes fracturas por fragilidad se estimó en 37 billones de euros (€), de los cuales el incidente supuso el 66%, los cuidados de las fracturas a largo plazo el 29% y la prevención farmacológica el 5%. Además los años de vida perdidos ajustados por la calidad (QUALYs - quality-adjusted life years lost) se calculó en 1.180.000 durante 2010 y los ajustados por discapacidad (DALYs – disability adjusted life years) fueron de 2 millones.

Se espera un incremento de los costos, al menos, en un 25% hasta el 2025.

Para nuestro país estiman como población de riesgo a los mayores de 50 años de ambos sexos (7.277.000 de hombres y 8.628.000 de mujeres) con una expectativa de 2.450.000 de personas con osteoporosis. La estimación de fracturas, basado en estudios previos por no haber datos recientes, fue de 204.000 (40.000 fracturas de cadera, 30.000 fracturas clínicas vertebrales, 30.000 fracturas de antebrazo y 104.000 en otras localizaciones). Un 68% correspondieron a mujeres.

Estudios concretos realizados en España sobre tendencia, se han llevado a cabo solo sobre fractura de cadera, en poblaciones locales de Cantabria¹⁵³ (2006), Valencia (2004)¹⁵⁴, y a nivel nacional mediante ecografía en atención

primaria (ECOSAP)¹⁵⁵ (2006). Ya más recientemente, (2014), tras el alta de pacientes hospitalizados por fractura de cadera mostraban una tendencia en los al aumento progresivo de fracturas, con predominio en hombres¹⁵⁶. En el último en el que hubo seguimiento de dos periodos de años (de la década anterior) la tendencia inicial fue al incremento y la más reciente a la estabilización. Bien es cierto que los periodos que abarcaban los primeros eran anteriores y en el intervalo entre estos y el último ha habido un desarrollo en el estudio y manejo de la osteoporosis.

I.1.3.3 SITUACIÓN EN CANARIAS

En cuanto a los estudios en Canarias, no contamos con un gran número de ellos, pero se han realizado fundamentalmente tres en la Isla de Gran Canaria de Sosa M. et al.¹⁵⁷⁻¹⁵⁹, un primero inicial (1993), otro segundo de seguimiento (2007) y un tercero más reciente (2015), que abarca un periodo más amplio comparando la incidencia de fractura de cadera en dos periodos, 1989–1993 y 2008–2011. La importancia que tiene es que analizan la evolución durante un periodo de 20 años, en el que ha habido un aumento y envejecimiento de población con las implicaciones epidemiológicas consiguientes. Se observó que la incidencia de la fractura de cadera¹⁶⁰, aumentó globalmente en un 24%, siendo de 180.9 casos > 49 años /100.000 habitantes /año/, pero una vez ajustada mostró que hay una tendencia a la estabilización de la misma. Sigue siendo, con diferencia, inferior a la de otras zonas del país y la de otros países.

La proporción mujer/ varón (2,6) se ha mantenido.

I.1.4 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la osteoporosis supone un reto porque si bien se pueden realizar mediciones que concuerdan con la definición estructural de disminución de masa ósea, no se valora de esta forma la globalidad del concepto recogido en la última definición de esta enfermedad. No obstante se acepta que cumple con el criterio clínico operativo que permite asimilarla al grado de afectación.

La posibilidad de fractura está condicionada por dos cualidades del hueso, que le dan su fortaleza, la densidad y la calidad. La densidad está determinada por el pico de masa ósea alcanzado y por el balance entre ganancia y pérdida producida posteriormente. La calidad, sin embargo, lo está por la arquitectura, el recambio, la acumulación de daño (p. ej. microfractura) y la mineralización^{3, 163}. Actualmente dada la falta de generalización de técnicas que permiten estudiar la calidad se sigue basando, el diagnóstico, en estudios sobre la baja densidad mineral ósea (DMO).

No obstante lo anterior, continúa siendo esencial la actuación del clínico con la realización de una anamnesis detallada y en ocasiones exhaustiva, acompañada de una exploración amplia¹⁶³. Esto supone el primer eslabón para el diagnóstico de la osteoporosis y para su estudio y manejo. Interesa llegar a conocer datos que permitan bien sospechar o bien descartar posibles patologías causantes o condicionantes de una posible osteoporosis secundaria, y que también permitirá decidir sobre las exploraciones o pruebas más adecuadas para la valoración en cada caso. Dos conceptos hay que considerar desde el punto de vista clínico y son el de diagnóstico de osteoporosis, por una parte, y el grado de evolución y afectación, por otro. Además actualmente tiene relevancia establecer el riesgo de fractura, como referencia para la toma de decisiones terapéuticas.

Para el estudio inicial, el diagnóstico o el establecimiento de riesgos en relación con la osteoporosis se utilizan, además, técnicas y herramientas que a continuación comentamos.

I.1.4.1 TÉCNICAS DIAGNOSTICAS Y ESCALAS

Abarcan desde realización de analíticas, hasta estudios de imagen o aplicación de ciertas escalas con intención pronóstica de riesgos.

I.1.4.1.A ESTUDIOS DE LABORATORIO

Deben ir orientados por el buen criterio clínico y por supuesto en relación con la posible sospecha derivada del completo interrogatorio y examen físico realizado. En principio, los estudios podrán ser general y específicos, para poder realizar diagnóstico diferencial entre diversas enfermedades sistémicas que pueden afectar al hueso^{163,164}. Además se podrán hacer estudios de laboratorio del metabolismo mineral en concreto.

I.1.4.1.A.a Analítica General

Dentro de esta se contempla el hemograma y la determinación de parámetros bioquímicos que contengan como mínimo la valoración de la función renal y hepática, concentración de calcio (junto con albúmina para su corrección) y fosfatasa alcalina. Para el estudio del metabolismo mineral, que ayuda a descartar patologías específicas del hueso (p. ej. Osteomalacia, hiperparatiroidismo, etc), además se aconseja realizar determinaciones de fosfatemia, magnesemia, calciuria de 24 h, magnesuria y reabsorción tubular de fósforo,

Se considera aconsejable realizar también una determinación de TSH y un proteinograma, ya que puede orientar en ciertas patologías específicas. La determinación de 25-hidroxivitamina D sérica así como de PTH se puede solicitar en base a los datos bioquímicos iniciales y la situación del paciente. Finalmente ante la sospecha de enfermedades concretas (hipercortisolismo, celiaquía, etc.) se solicitarán analíticas específicas.

Lógicamente, si se sospechan enfermedades concretas como causa de la osteoporosis (hipercortisolismo, celiaquía, etc), se deben solicitar los parámetros específicos y realizar los estudios pertinentes.

I.1.4.1.A.b. Marcadores de remodelación ósea

Estos hoy solo se aconsejan para la valoración y seguimiento del tratamiento y no para el diagnóstico de la enfermedad, ni la valoración de su severidad, aunque sin embargo puede resultar útil para identificar, junto a otros factores

de riesgo, los pacientes con un mayor riesgo de fractura¹⁶⁵⁻¹⁶⁸. Se considera que son especialmente útiles para valorar de forma precoz la respuesta al tratamiento, tanto antirresortivo¹⁶⁹⁻¹⁷² como osteoformador^{173,174}.

Indican la dinámica del recambio, estando relacionados con la fase en que producen. Hay marcadores de formación y de resorción.

Entre los marcadores de formación están la fosfatasa alcalina o su isoenzima ósea, la osteocalcina y el propéptido carboxi y amino-terminal del procolágeno tipo I (PICP y PINP). Y entre los de resorción ósea, la desoxipiridinolina urinaria o los telopéptidos carboxi y aminoterminal del colágeno I (CTX en sangre y orina, y NTX en orina)^{175,176} y la fosfatasa ácida tartrato-resistente 5b (FATR 5b).

Recientemente se han identificado reguladores de la diferenciación y de la actividad de las células que participan en el remodelado óseo, como el sistema OPG/RANKL y la esclerostina¹⁷⁷. Así valores séricos elevados de esclerostina se han relacionado con un aumento del riesgo de fractura de cadera en mujeres de edad avanzada¹⁷⁸. Hay que considerar que son factores determinantes de la actividad y no del resultado de ella al interpretar los valores.

Recientemente, la International Osteoporosis Foundation (IOF) y la International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) han recomendado el uso del PINP como marcador de formación y del s-CTX como marcador de resorción en los estudios clínicos¹⁷⁹. Falta llegar a consenso.

I.1.4.1.B. RADIOLOGÍA CONVENCIONAL

No es válida para el diagnóstico de osteoporosis pues no es un método sensible ni específico para valorar los cambios de masa ósea (debe ser >30-50% del total)¹⁸⁰. Sin embargo es imprescindible un estudio radiográfico para la confirmación de la presencia de fracturas. Suele ser suficiente un estudio lateral de columna dorsal (centrado en D7) y de columna lumbar (centrado en

L2), aunque en algunas ocasiones es de ayuda disponer de una radiografía en proyección anteroposterior para la interpretación.

Ante un hallazgo de fractura vertebral antes de atribuirla a osteoporosis, debe realizarse el diagnóstico diferencial con otras posibles etiologías. En ocasiones deberá recurrirse a otras técnicas de imagen, esencialmente TAC y RM, para establecer el diagnóstico de certeza¹⁸¹. Dicha presencia puede influir en la toma de decisiones.

Tiene otra utilidad, la localización de deformidades o ubicar posibles factores de interferencia o de error al realizar una densitometría (espondilosis, calcificaciones vasculares, etc).

La presencia de fracturas vertebrales es un factor predictor de futuras fracturas, tanto vertebrales como de cadera^{180,182,183-185}.

Su indicación está vinculada a molestias o signos sugestivos de trastorno vertebral relacionados con la osteoporosis, y también a presentar valores densitométricos de osteoporosis. Algunos autores sugieren realizarla en cualquier paciente con factores de riesgo suficientes.

I.1.4.1.C. DENSITOMETRÍA ÓSEA

Este término engloba aquellas a todas las pruebas no invasivas que miden la DMO en diferentes regiones del esqueleto mediante distintas técnicas. Se clasifican de acuerdo a la región del esqueleto donde se han realizado. Mediciones centrales (o axiales) son las realizadas en columna lumbar (anteroposterior) o tercio superior del fémur, y mediciones periféricas las que se efectúan en otros sectores de las extremidades.

La osteoporosis estaba descrita previamente a la aparición de la densitometría por lo que esta ha aportado una herramienta de valoración de uno de sus factores de riesgo¹⁶³. La DMO se usa frecuentemente como una medición sustitutiva, ya que permite explicar aproximadamente el 70% de la resistencia ósea¹⁸⁶. Dada la trascendencia de este factor, y la ausencia de otros

procedimientos diagnósticos asequibles, se propuso -y fue aceptado de forma generalizada por la comunidad científica- utilizar la densitometría con este fin.

Los equipos de medición se clasifican según la técnica que utilizan o la región anatómica del esqueleto que analizan¹⁸⁷. Aunque existen varias técnicas disponibles, la técnica de absorciometría por rayos X con doble nivel de energía X (DXA) es el procedimiento óptimo para estimar el riesgo de fractura¹⁸⁸. Otras técnicas de medición (ultrasonometría cuantitativa, radiogrametría, absorciometría radiográfica, etc.) proporcionan valores que guardan relación con el riesgo de fractura, pero no pueden utilizarse como procedimientos diagnósticos¹⁸⁹.

Los resultados de las mediciones de DMO son expresados habitualmente en términos de índice T (o T-score), que es el número de desviaciones estándar (DE) en que la medición de DMO difiere de la densidad ósea de la población sana de 20 a 29 años («pico» de la DMO). Existe el índice Z (o Z-score), que se obtiene al comparar la medición de DMO con valores de referencia de sujetos de igual sexo y edad. Cada uno de estos tiene una indicación y una utilidad. Su validez viene dada por que en 2004 la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció que el diagnóstico de osteoporosis basado en la DMO se hiciera cuando la paciente presentara un valor de índice T igual o inferior a $-2,5$ ^{106, 180}. Entonces quedó con unas limitaciones con respecto a la población a aplicar y la falta de definición de la zona de medición. Sin embargo sirvió como punto de unificación de criterios. Posteriormente en 2008 la propia OMS matizó que la medición de la DMO debe realizarse en cuello de fémur utilizando como referencia el Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III)¹⁹⁰. Se consideraron extensibles los mismos criterios a las mujeres postmenopáusicas de otras razas (e incluso a los hombres, utilizando las referencias femeninas). Si bien la Sociedad Internacional de Densitometría Clínica (ISCD), sin embargo, considera que el diagnóstico puede hacerse cuando el referido valor del índice T se da en cualquiera de las tres siguientes localizaciones: columna lumbar, cadera total o cuello femoral¹⁹¹, no lo hace así la OMS que mantiene que los criterios diagnósticos referidos no son aplicables a otras localizaciones esqueléticas u otras técnicas de densitometría¹⁸⁰.

Diversos factores interfieren el diagnóstico de osteoporosis, como la zona de medición, posibles artefactos, número de zonas exploradas y los valores de referencia por lo que es recomendable explorar al menos dos regiones¹⁹²⁻¹⁹⁷.

El riesgo de fractura se evalúa basándose en el valor más bajo calculado mediante DXA en la columna lumbar, fémur total o cuello de fémur¹⁹⁸.

La capacidad global de predicción de fractura es similar en las diversas localizaciones (riesgo relativo [RR] para una disminución de la DMO de una desviación estándar [DE] = 1,5; intervalo de confianza del 95% [IC 95%] = 1,4-1,6). Pero esta empeora cuando la medición en una zona se relaciona con el riesgo de fractura en otra¹⁹⁹, por ello la predicción de riesgo de fractura de una determinada región esquelética mejora al medirla en la misma región donde se desee evaluar el riesgo de fractura. Dicho de otra forma, la medición de la DMO por DXA en cadera predice sobre todo el riesgo de sufrir una fractura de cadera. La medición de la DMO en fémur proximal y columna lumbar mediante DXA es una prueba útil en la valoración del riesgo de fractura.

Los valores y categorías que establece la OMS con los valores del Tvalor se pueden observar en la tabla 1, más arriba recogida.

Algunas de las técnicas utilizadas para la valoración de la DMO son las siguientes.

I.1.4.1.C.a Ultrasonografía cuantitativa (QUS, quantitative ultrasound)

Utiliza ultrasonidos que también pueden servir para evaluar la calidad ósea, aunque está aún en discusión que aspectos miden: la mineralización, la microarquitectura, las propiedades biomecánicas o más de una. Aporta resultados de los siguientes valores: la velocidad de transmisión del ultrasonido (SOS, speed of sound), la atenuación de la banda de energía (BA, broadband attenuation), y un índice que combina estos dos parámetros (Stiffness, rigidez). Un lugar de cómoda medición es el calcáneo y si bien ni las zonas del esqueleto periférico ni esta técnica son apropiadas para el seguimiento ni para

el diagnóstico, si se utilizan como cribaje de pacientes, para realizar densitometría por DXA.

I.1.4.1.C.b Absorciometría por rayos X con doble nivel de energía X (DXA, dual energy x-ray absorptiometry)

Es el método más ampliamente utilizado por su mayor precisión y muy baja dosis de radiación, que permite mediciones seriadas en condiciones seguras. Es el procedimiento óptimo para estimar el riesgo de fractura¹⁹⁹. Da valores sobre la cantidad de mineral óseo en g/cm². Hemos comentado anteriormente sobre su utilidad y algunas características.

I.1.4.1.D. HERRAMIENTAS DE PREDICCIÓN DE RIESGO DE FRACTURA

Existen una serie de factores de riesgo para padecer fracturas, que son los que condicionan, junto con la DMO esta eventualidad. En función de los estudios realizados respecto a estos y su peso en la incidencia de fracturas se han elaborado unas herramientas predictivas del riesgo.

La utilidad predictiva sobre el riesgo de fracturas de la medición de la DMO, se pueden mejorar aplicando algoritmos que incorporan edad, factores de riesgo hereditario, hábitos, antecedentes personales (fracturas previas), ingesta de corticoides, caídas en los últimos 12 meses, etc.^{200, 201}. Algunos influyen sobre la resistencia ósea y otros están relacionados con la tendencia a las caídas y sus características.

No obstante, la diversidad de factores, los dos con mayor peso son la edad y la DMO, de tal forma que las herramientas con mayor número de componentes no ofrecen un mejor resultado que las que solo incluyen estos dos o alguno más^{202,203}. La edad influye en la trascendencia de la disminución de la masa ósea.

Un tercero que tiene también gran peso es el antecedente de fractura por fragilidad, y añadido a los anteriores parece predecir el riesgo de fractura con

tanta precisión como la herramienta más compleja²⁰⁴, aunque ya tan solamente añadido la edad tiene también una buena capacidad predictiva^{202, 205}.

Hay otros factores independientes de la DMO pero con una influencia estrecha, estos son la fractura por fragilidad en familiar en primer grado, el tabaquismo y el ingesta alcohólica excesiva. El peso corporal (índice de masa corporal [IMC] < 20 kg/m²), que se asocia a la producción de fracturas lo hace de forma indirecta al tener baja DMO^{206,207}. Otros factores reconocidos son enfermedades y tratamientos que pueden producir osteoporosis secundarias (hipogonadismo, menopausia precoz, amenorrea, anorexia nerviosa, malabsorción, artritis reumatoide, la diabetes -en particular la tipo 1-, inmovilización, tratamiento esteroideo, inhibidores de la aromatasas, agonistas de las hormonas liberadoras de gonadotropinas)²⁰⁸.

Además las caídas facilitan la producción de fracturas y son conocidos factores asociados a las mismas por al determinar un mayor riesgo de caídas^{209,210}. Entre ellos están la inestabilidad postural, el haber sufrido dos o más caídas durante el último año, la incapacidad para levantarse de una silla y la pérdida de capacidad visual. También la marcha lenta que denota alteraciones neuromotoras que conducen también al desarrollo de fracturas.

Hay también algunas enfermedades y tratamientos asociados, aunque con menor vínculo, con el desarrollo de osteoporosis, recogidos en la tabla 2.

La asociación de varios factores de riesgo independientes de la DMO supone un efecto sinérgico sobre el riesgo de fractura. Si se añade DMO baja incrementa hasta 12 veces el riesgo.

La valoración clínica combinada con la medición de la DMO resulta un método eficaz de valoración del riesgo de fractura, que ayuda a determinar la necesidad de tomar actitudes terapéuticas, en la mayor parte de los casos, con intención preventiva. Para esta finalidad se han desarrollado estas herramientas, de las que hay de dos tipos. Unas van dirigidas a detectar el riesgo de osteoporosis y otras fracturas.

Tabla 2 Enfermedades y tratamientos que constituyen factores de riesgo de osteoporosis

Factores asociados con mayor constancia	Factores asociados con menor regularidad
Hipogonadismo	Hiperparatiroidismo
Menopausia precoz	Hipertiroidismo
Amenorrea	Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina
Anorexia nerviosa	Inhibidores de la bomba de protones
Malabsorción	Anticonvulsivantes
Artritis reumatoide	Déficit de calcio
Diabetes (particularmente la de tipo 1)	Déficit de vitamina D
Inmovilización	
Corticoides	
Inhibidores de la aromatasa	
Agonistas de las hormonas liberadoras de gonadotropinas	

I.1.4.1.D.a. Escalas de Riesgo de Osteoporosis

Estas escalas que no incluyen el DMO tienen como finalidad predecir el riesgo de osteoporosis, entendido como masa ósea baja. Son útiles para decidir la realización de densitometría.

Cabe mencionar entre ellas, por orden de complejidad, las herramientas OST^{211,212}, ORAI²¹³, OSIRIS²¹⁴, SCORENK²¹⁵, y FRAX^{206,207} sin DMO. Diversos trabajos^{212,216} comparativos de fiabilidad y efectividad de estas herramientas concluyeron que la capacidad para discriminar las mujeres que habrían de sufrir una fractura mayor, valorada por el área bajo las correspondientes curvas ROC, fue similar en todas ellas para la edad considerada de forma aislada. Finalmente la conclusión fue que la capacidad para predecir una DMO baja es similar en todas ellas, y en particular, el factor de más peso lo constituye la edad (mayor de 65 años).

I.1.4.1.D.b Escalas de Riesgo de Fractura

La finalidad con estas herramientas es establecer valores absolutos de riesgo de fractura como criterios terapéuticos (generalmente fractura a 10 años) (v.gr., 3% de riesgo de fractura de cadera en 10 años), en lugar de valores de riesgo relativo (riesgo respecto a otro individuo).

Las herramientas elaboradas para valorar el riesgo de fractura directamente son el FRAX^{206,207}, la del Garvan Medical Research Institute^{200,217,218} (Índice de Garvan) y el QFracture Index^{219,220}. Hay diferencias entre ellas, como que la segunda recoge menos factores de riesgo que la primera y además la utilización de la DMO es opcional, mientras que la tercera recoge muchos más factores (hasta 25).

Diversos estudios comparativos entre la primera y segunda^{203,205,221-223} y con índices más simples combinados encontraron que la capacidad discriminativa es similar entre ambas, con un rendimiento, aunque mayor para fractura de cadera, solo moderado y similar, y que el rendimiento de las más simples (con sólo dos variables, y en un caso tres) es igual al de las otras tres herramientas. También comparaciones entre la primera y la tercera^{219,224}, hallaron similares rendimientos entre ambos.

De todos estos estudios destaca que el rendimiento de las herramientas más sencillas con dos factores de riesgo es similar al de las más complejas con mayor número de factores^{202,225,226}. En general con un número escaso de factores, que tienen una estrecha asociación con la fractura y, además, están ampliamente representados en la población (edad, DMO, IMC, antecedente personal de fractura) se detecta la mayor parte del riesgo.

En cuanto al FRAX cabe decir que es el de uso más generalizado, quizás porque fue auspiciado y extendido por la OMS. Proporciona dos valores de riesgo de fractura: el de fractura de cadera, y el de fractura osteoporótica mayor (conjunto de la fractura clínica vertebral, fractura de húmero, fractura de radio distal, además de la fractura de cadera).

Ha precisado la adaptación a cada país y esta se ha realizado en función de las características epidemiológicas de las fracturas osteoporóticas de los mismos, cuando estos datos estaban disponibles. La versión española proporciona un riesgo de fractura mayor muy inferior al que le corresponde, por una estimación inadecuada de la relación fractura mayor/fractura de cadera con otro país, lo que se pone de manifiesto en varios estudios²²⁷⁻²²⁹.

I.2 ANDRÓGENOS, RECEPTOR DE ANDRÓGENOS Y POLIMORFISMOS DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENOS

Los andrógenos influyen sobre el proceso de modelado y de remodelado óseo, y por tanto también en la DMO, mediante su participación en la transmisión de la información necesaria, codificada genéticamente²³⁰. Este proceso ha quedado patente en pacientes con hipogonadismo hipogonadotrópico^{231,232}, en los que se constató menor DMO, además de masa muscular y falta de cierre de las epífisis, con mayor crecimiento radial. Así mismo en roedores manipulados genéticamente se ha podido probar entre otros este efecto²³³⁻²³⁵.

Para que esto tenga lugar es precisa la presencia de una serie de elementos indispensable pero que básicamente son las sustancias hormonales y su receptor, los que van a dar lugar al comienzo de este proceso.

I.2.1 ANDRÓGENOS

Los andrógenos o androstanos son sustancias que pertenecen al grupo de las hormonas esteroideas²³⁶, en concreto a los esteroides sexuales. Derivan de la pregnenolona que a su vez procede del metabolismo del colesterol y es la precursora de todas ellas. Están formadas por 19 carbonos con lo que se clasifican como tipo C₁₉.

Los andrógenos son los esteroides sexuales más abundantes en el torrente circulatorio. Son además precursores necesarios para la síntesis de parte de los estrógenos en el ovario, y se encuentran asociados a la masculinidad y a sus caracteres sexuales.

Son producidos preferentemente en los testículos, ovarios y en las glándulas suprarrenales. En los primeros, en las células de Leydig, bajo el control de la hormona luteinizante (LH), se produce testosterona (T). En las células de Sertoli también se produce T pero bajo la influencia de la hormona foliculoestimulante (FSH). A estas últimas células, llega la T, producida por las anteriores, unida a una proteína ligadora de andrógenos (ABP) específica. Se lleva a cabo en ellas, además, la transformación de parte esa T a

dihidrotestosterona (DHT) que es 10 veces más activa que la primera (Figura 9).

En los ovarios la producción de andrógenos la llevan a cabo las células tecales, regulada por la LH, dando como productos la androstenediona y la T. Una parte de ambos es transformada mediante un complejo enzimático, aromatasa, a los productos finales activos estradiol y estrona, que son los esteroides sexuales femeninos. En las células granulosas ováricas se transforman también los andrógenos producidos en las anteriores una vez han difundido a ellas. Este proceso lo controla, en principio la FSH, si bien a medida que maduran pasa a haber mayor control de la LH. Los estrógenos producidos por las últimas van, mayoritariamente a los folículos, mientras que los producidos por las primeras a la circulación general para llegar a sus órganos o células diana.

A nivel de la corteza de las glándulas suprarrenales también se producen andrógenos. Lo hacen las células de la zona fasciculada y reticularis, que contienen una enzima, liasa, que les da la capacidad de producir dehidroepiandrosterona (DHEA) y androstenediona (A), Aunque también un producto final resulta de la sulfatación de la DHEA dando DHEA sulfatada (DHEA-S).

Los esteroides sexuales viajan en el plasma hacia sus dianas ligados a globulinas específicas que las transportan. Estas son las globulinas ligadoras de hormonas sexuales (SHBG).

Si bien la producción es esencialmente donde ha quedado reseñado también sufren transformación en otros tejidos de órganos concretos. El metabolismo principal de los andrógenos, así como de los estrógenos tiene lugar en el ovario, la corteza adrenal y el tejido adiposo, con alguna participación del metabolismo esteroideo en el músculo. El hígado tiene una participación importante también. Además de transformar estrógenos a varias formas, con diferente actividad, realiza la sulfatación del DHEA a DHEA-S y produce las SHBG, que condicionan el transporte de todas ellas.

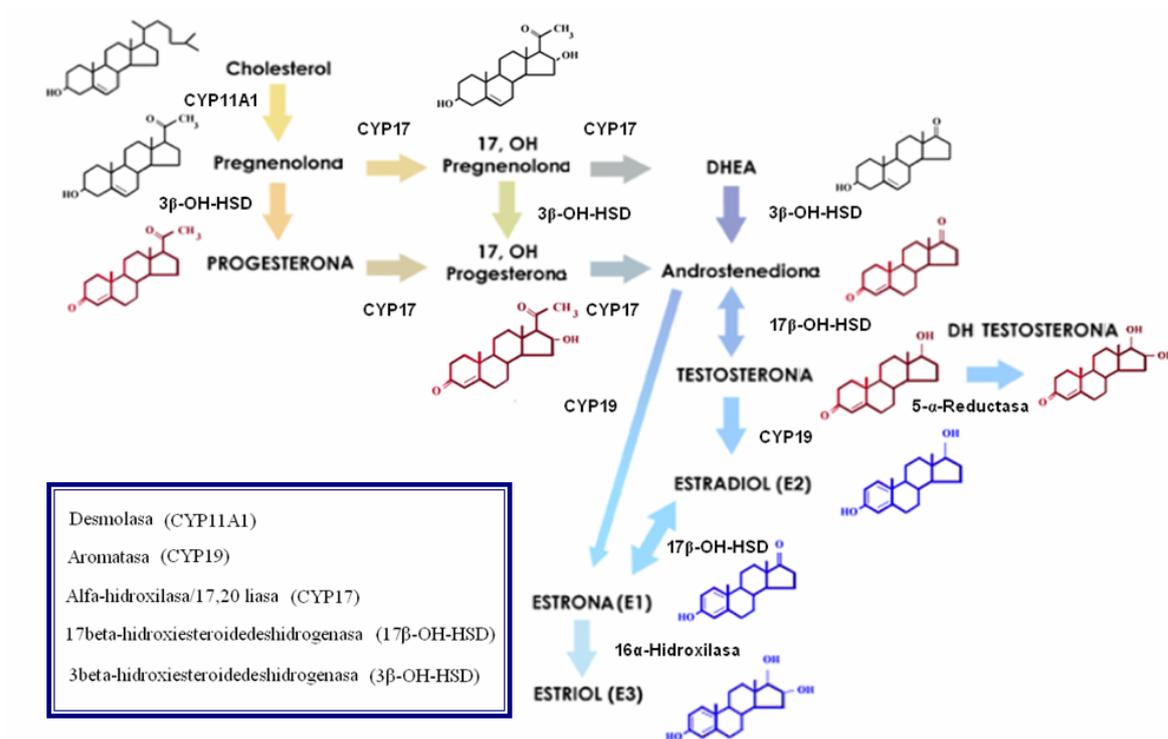


Figura 9. Ruta de síntesis de las hormonas esteroideas

Con respecto a la mujer y los andrógenos cabe decir que estos son secretados en mayor cantidad, que los estrógenos, hormonas sexuales femeninas por excelencia. Además de ser precursores hormonales para las segundas, tienen importantes efectos fisiológicos al unirse a sus receptores en las células diana, produciendo todo un proceso de cambios metabólicos celulares con repercusiones generales^{237,238}.

Según la concentración circulante los principales andrógenos en orden decreciente son la DHEA-S, la DHEA, la A, la T y la DHT²³⁹.

La T deriva en 50% de los ovarios y las glándulas adrenales a partes iguales, mientras el restante 50%, procede de la conversión periférica de la androstendiona. Además la última también es producida por las glándulas adrenales y los ovarios en una proporción similar.

La DHEA también la producen las glándulas suprarrenales (50%) y ovarios (20%), aun que pueden provenir de síntesis a partir de la DHEA-S circulante (20%) mediante el concurso de sulfatasas esteroideas.

La DHT resulta de la conversión periférica de T y como comentamos es la que en menor concentración circula. Estas dos son las únicas capaces de unirse al receptor específico de andrógenos. Las demás sirven de sustrato para la producción de estas.

I.2.2 RECEPTOR DE ANDRÓGENO

Como ha quedado ya reseñado los andrógenos se unen a receptores específicos, que se encuentran en células determinadas y que tiene unas características concretas.

El receptor de andrógeno (AR) es una proteína que está formada por 917 aminoácidos y posee varios dominios con diferentes funciones²⁴⁰. Forma parte de la superfamilia de los receptores nucleares de hormonas esteroideas. Otros miembros de esta familia son los receptores de estrógenos (ER) α y β , mineralocorticoides (MR), glucocorticoides (GR), progesterona (PR) Vitamina D y hormona tiroidea²⁴¹. También es conocido como NRC4 (subfamilia de receptores nucleares 3, grupo C, miembro 4). Se activa por la unión con la T o la DHT²⁴². Tiene proximidad funcional al receptor de la progesterona hasta el punto que dosis elevadas de esta pueden bloquearlo²⁴³. Los miembros de esta superfamilia son factores de transcripción que presentan extensiones con zinc, caracterizadas por tener un dominio N-terminal, un dominio central de unión con ADN (DBD)²⁴⁴ y un dominio C-terminal de unión con el ligando (LBD)²⁴⁵. Además poseen dos zonas con función de activación de la transcripción (TAD), situadas, una en el dominio N-terminal (AF-1) y otra en el dominio de unión con el ligando (AF-2), e igualmente, una región bisagra (HD) que le permite adoptar la conformación adecuada para interactuar con el ADN (Figura 10).

La función principal del receptor de andrógenos es actuar como un factor de transcripción de genes mediante la unión directa al ADN²⁴². Su efecto es la regulación de ciertos procesos como la proliferación y la diferenciación celular en tejidos diana²⁴⁶.

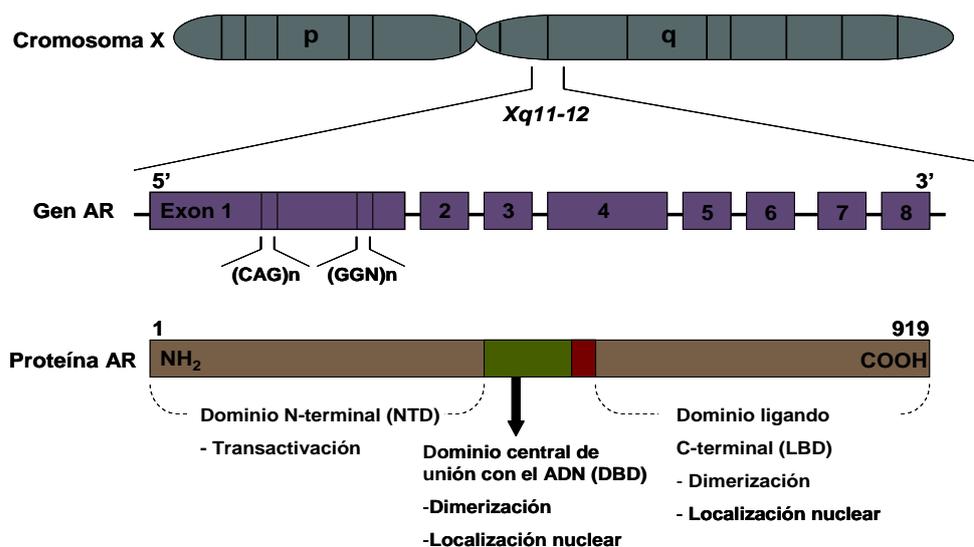


Figura 10. Organización genética del gen del receptor de andrógenos (AR) en el cromosoma X y principales dominios funcionales de la proteína codificada. Adaptado de Rajender S., Singh L., Thangaraj K. Phenotypic heterogeneity of mutations in androgen receptor gene. Asian J Androl. 2007; 9:147-79.²⁵⁰

En cuanto a su presencia y distribución en las células que se encuentran y participan en el metabolismo del tejido óseo habría que decir que es universal. Se encuentra en todas ellas, OB, OC y Osteocitos, aunque en diferente cantidad²⁴⁷. Su máxima expresión la tiene en los OB y mayor en los corticales que los trabeculares. Además en cultivos de los mismos se ha observado que su expresión es máxima en los provenientes de hueso juvenil frente al de la senectud y que predominan en OB en zonas de formación ósea²⁴⁸.

También se encuentran en las células de la médula ósea que regulan la osteoclastogénesis²³⁴.

La regulación por parte de las hormonas esteroideas de la función de los OC está controlada por el estradiol (E₂) y el ER, aunque se considera la posibilidad de la participación de la T a través de su aromatización y conversión a E₂.

En los osteocitos incluidos en la matriz ósea también se encuentran AR^{230,247}.

La amplitud de la actuación de la T directamente o por aromatización a E₂ es incierta y puede que varíe con los polimorfismos del AR. La posible importancia de la aromatización de T a E₂ en el hueso queda reforzada por el hecho de que hombres con mutaciones en los genes de ER o de la aromatasa

desarrollan osteoporosis. Hay que considerar además que la DHEA no es aromatizable, aunque pudiera ser que otros compuestos androgénicos más débiles, tengan también receptores específicos²⁴⁹.

I.2.3 POLIMORFISMOS DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENOS

El AR está codificado por un gen que se encuentra en el brazo largo del cromosoma X, en la posición 11 y12 (Xq11.2-12)²⁵¹. Tiene un tamaño de 90 kilobases y contiene 8 exones²⁵¹⁻²⁵³. Cada uno participa en la codificación de dominios en el AR. (Figura 10)

El exón 1 codifica el dominio de transactivación N-terminal de la proteína AR, indispensable para su actividad genómica, y que contiene la región de activación de la transcripción independiente de ligando (TAF-1), lugar de interacción con ciertos correguladores^{253,254}.

Los exones 2 y3 codifican el dominio de unión al ADN (BDB), que contiene dos prolongaciones de zinc capaces de interactuar específicamente con pequeñas secuencias denominadas elementos de respuesta a andrógenos (AREs).

El 4 codifica el dominio de localización nuclear (NLD) que ayuda a la localización del AR en el núcleo celular.

El 5 codifica la región bisagra (HD), con la función que ya reseñamos.

Los 6,7 y 8 codifican el dominio de unión al ligando (LDB), zona de importancia crucial pues es donde se unen los andrógenos. Contiene la región de activación de la transcripción dependiente de ligando (TAF-2).

En el primer exón, además se sitúan unas secuencias repetidas de trinucleotidos y que codifican para poliglutamina y poliglicina²⁵⁵. Las repeticiones, en número variable, dan como resultado el polimorfismo del AR, que se presenta como secuencias de longitud variable en la región N-terminal, en la región de transactivación (TAD)^{252,256}. Estas cadenas de repetición de aminoácidos son conocido como microsatélites, y en este caso son funcionales.

El tracto poliglutamina está codificado por repeticiones $(CAG)_nCAA$. El de poliglicina $(GGN)_n$ por $(GGT)_3GGG(GGT)_2(GGC)_n$ ²⁵⁷. Con respecto a este último habría que aclarar que la mayoría de autores se refieren a la poliglicina como estando codificada por repeticiones $(GGN)_n$, lo que equivale a un tracto invariable de seis glicinas (GGT/GGG) seguido por una repetición polimórfica GGC, o a la repetición de GGC más seis triplete²⁵⁸. Habitualmente se expresa como $(GGC)_n$ o $(GGN)_n$.

El microsatélite poliglutamida $(CAG)_n$ es altamente polimórfico en longitud, y su tamaño oscila generalmente entre 8 y 39 repeticiones de aminoácido en la proteína AR^{257,259}, habiendo diferencias entre autores, probablemente relacionadas con variaciones entre poblaciones. Se han determinado diferencias en las repeticiones entre africanos, caucásicos y asiáticos, siendo los primeros los de menor número y los últimos los de mayor²⁶⁰⁻²⁶⁴.

El microsatélite poliglicina no es tan polimórfico como el anterior, con un tamaño que va de 10 a 30 repeticiones²⁵⁹, aunque también variable, según autores.

Ambas regiones están separadas por 248 aminoácidos de una secuencia no polimórfica.

I.2.4 MECANISMO DE ACCIÓN DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENOS

Ya se comentó la función principal del AR, actuando como un factor de transcripción del ADN y facilitando la producción proteica celular. La formación del complejo andrógeno-AR puede activar o reprimir la expresión de las proteínas reguladas por andrógenos²⁶⁵. Por tanto los AR son interruptores moleculares clave controlando la transcripción de las proteínas andrógeno dependientes desde la etapa embrionaria hasta la vejez. Median la acción periférica de los andrógenos.

Los AR son específicos para la T y la DHT con la misma afinidad para ambos, aunque también se han hallado receptores para la DHEA²⁴⁸.

El AR, normalmente se encuentra en forma inactiva en el citoplasma celular. Forma un complejo con varias proteínas que se denominan heat shock²⁶⁶, entre las que se encuentran la Hsp90, Hsp70 y Hsp56.

El AR puede llevar a cabo su función por dos vías diferentes. Una es la vía clásica pasando al núcleo y la otra es a través de una vía no genómica y que realiza directamente en el citosol.

El mecanismo de acción clásico o genómico del AR es el que produce la transcripción al RNAm en el osteoblasto. Es el principal. El andrógeno puede difundir libremente a través de la membrana celular al citosol por ser lipofílico (Figura 11). Comienza, el mecanismo, con la unión específica con su ligando, T o DHT. Esto causa la disociación de las proteínas heat shock, la translocación al núcleo y el cambio de conformación que le permite formar un homodímero²⁶⁷. A continuación estos se unen a unas secuencias específicas del ADN en las zonas reguladoras de los genes andrógenodependientes, denominadas elementos de respuesta a andrógenos (AREs), activando o inhibiendo la transcripción de estos genes regulados por andrógenos. Esta unión promueve el reclutamiento de otras proteínas, que son cofactores o elementos de la maquinaria de transcripción²⁶⁸ indispensables para la expresión de estos genes.

Cuando ha habido activación se produce ARNm, que pasará al citoplasma, y actuará en los ribosomas en la producción de las proteínas específicas²⁶⁹ codificadas ejerciendo por esta vía su función.

Además a través de otra vía no genómica, más rápida, los andrógenos pueden actuar, p-ej., en los osteoblastos, activando la cascada de señales de las quinasas con la modulación de los niveles intracelulares de calcio. Se lleva a cabo mediante receptores de membrana^{266,267}.

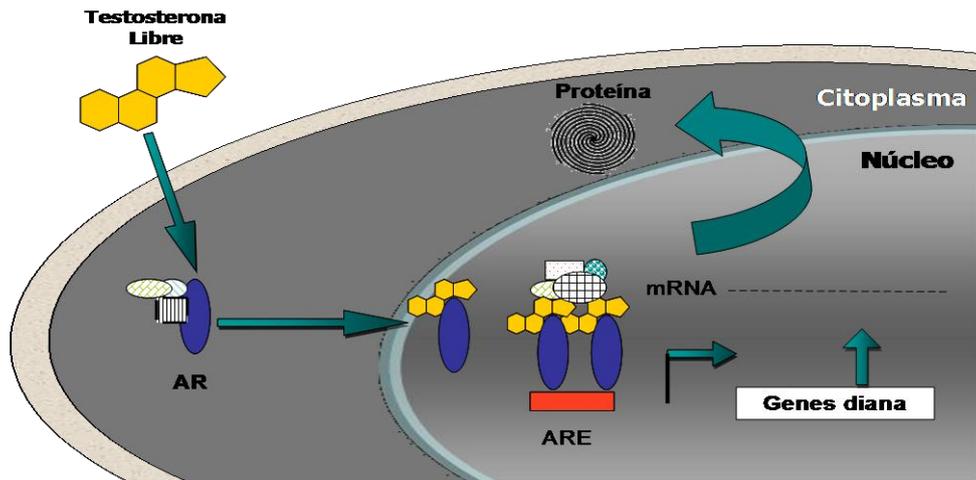


Figura 11. Mecanismo de acción clásico o genómico del receptor de andrógenos. ARE, elementos de respuesta androgénica. Fuente: Heemers H.V., Tindall D.J. Androgen receptor (AR) coregulators: a diversity of functions converging on and regulating the AR transcriptional complex. *Endocr Rev.* 2007; 28:778-808. ²⁶⁹

I.2.5 EFECTOS DE LOS POLIMORFISMOS DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENOS

Una vez relacionados ciertos polimorfismos de los AR con alteraciones clínicas importantes se abrió un campo de estudio que ha llevado a establecer toda una serie de efectos y trastornos vinculados con estos.

Los polimorfismos tienen, individualmente, efectos, que en ocasiones se ven potenciados o atenuados por otros. En ocasiones pueden verse condicionados por otra serie de efectos o condiciones para poder manifestar su potencial.

I.2.5.1 EFECTOS DEL POLIMORFISMO (CAG)_N Y (GGN)_N

Lo que abrió paso a relacionar la longitud de ciertos polimorfismos del AR y sus repercusiones fue la demostración de la presencia de repeticiones por encima de 40 en paciente con la atrofia muscular espino-bulbar ligada al cromosoma X (enfermedad de Kennedy). Se trata de una enfermedad de inicio en la etapa adulta con una degeneración de la motoneurona y una serie de manifestaciones, entre otras, de feminización secundarias a insensibilidad a los andrógenos, como ginecomastia, atrofia testicular, alteración de la espermatogénesis y gonadotropinas elevadas^{270,271}. La longitud de repetición

de las cadenas está directamente asociada con la severidad de los síntomas de hiperandrogenismo y con el inicio precoz de la enfermedad^{272,273}.

En la última década ha quedado demostrada la creciente importancia del polimorfismo del AR. LA variación condiciona los efectos periféricos de la T influyendo sobre la función sexual y la fertilidad, riesgos cardiovasculares, composición corporal, el metabolismo óseo, el riesgo y evolución del cáncer de próstata y testículo, riesgo y evolución de cáncer de mama, estado psiquiátrico y la aparición y curso de trastornos neurodegenerativos.

Diferentes estudios han descrito el comportamiento entre la longitud de repetición del (CAG)_n, dentro de rangos normales por debajo de 40, y sus efectos. Chamberlain y cols.²⁷⁴, señalan que la actividad transcripcional del AR disminuye a medida que aumenta el número de repeticiones, en un experimento en células de riñón de momo, in vitro. Así mismo al eliminar los trectos repetidos aumentaba nuevamente, lo que se confirmó en estudios posteriores de otros autores²⁷⁵.

Además de confirmar estos resultados Ding y cols.²⁷⁶ encontraron menor cantidad de proteína AR para repeticiones más largas.

No se conocen enfermedades asociadas al polimorfismo poliglicina, (GGN)_n, aunque si se ha asociado la longitud del tracto con el riesgo de desarrollar criptorquidia e hipospadia²⁷⁷ (consideradas consecuencia de baja androgenicidad). También apuntan algunos estudios que variaciones en el número de repeticiones tendrían influencia sobre la función y la concentración de proteína AR. Tanto Gao y cols.²⁷⁸ como Lundin y col.²⁷⁹ hallaron un descenso en la actividad transactivadora con la delección del tracto (GGN)_n. Posteriormente, Ding y cols.²⁷⁶, encontraron una correlación inversa entre el número de repeticiones (GGN)_n y la concentraciones de proteína AR, aunque no la disminución de la actividad transcripcional. Sugieren, como mecanismo, que el incremento en la longitud de este microsatélite podría favorecer la formación de estructuras en asa en el ARNm que podrían afectar a su estabilidad y a la traducción.

En cuanto a efectos concretos fisiopatológicos podemos decir que no hay en todas las esferas en estudio claras evidencias, si bien en algunas hay hecho relacionados.

Con respecto a la relación de la repetición $(CAG)_n$ con la función sexual no hay claros resultados, si bien tampoco estudios comparables. No obstante, estudios en Australia, Norteamérica y Japón hallan una asociación entre infertilidad masculina y estas repeticiones²⁸⁰⁻²⁸³, mientras no se halla esta en Europa^{284,285}. En 2004, Ferlin et al.²⁶⁴ encontraron una diferencia significativa entre casos y controles analizando la combinación de polimorfismos $(CAG)_n / (GGN)_n$, hallando que la combinación más frecuente fue $(CAG)_n = 21 / (GGN)_n = 18$, en pacientes infértiles. Por lo que concluyen que el número de tripletes tiene un efecto combinado sobre la función del receptor AR, entre otros.

La próstata es un órgano regulado por los andrógenos, que juegan un papel importante en la patogénesis del cáncer de próstata (CP). Aunque parece que la génesis del CP no está inducida por los andrógenos, la estimulación más potente de los AR con repeticiones $(CAG)_n$ más cortas pueden contribuir al desarrollo acelerado de células malignas. Esto podría explicar el riesgo más elevado y la edad más temprana de aparición²⁶². Según algunos estudios esta continua estimulación produciría proliferación aumentada e inducción de mutaciones somáticas^{286,287}. Se han asociado formas más agresivas de CP con repeticiones menores de $(CAG)_n$ ^{259,287}. En 2004 Coetzee y Ross²⁸⁸ demostraron esta asociación por primera vez, lo que posteriormente ha quedado confirmado por varios metaanálisis^{289,290}.

Parece haber también una relación entre repeticiones cortas de $(CAG)_n$ e hipertrofia benigna de próstata (HBP)²⁹¹.

Otro aspecto controvertido es el papel de los andrógenos sobre la salud cardiovascular (CV). Hay evidencias que muestran que el hipogonadismo puede estar asociado con un peor perfil metabólico y riesgo cardiovascular²⁹². Por otra parte se ha demostrado asociación independiente entre la longitud de repetición $(CAG)_n$ y factores adversos de riesgo CV, tales como LDL alto²⁹³, HDL bajo²⁹⁴ y tensión arterial alta²⁹⁵⁻²⁹⁷. Sin embargo la asociación de repeticiones más largas de $(CAG)_n$ y concentraciones bajas de T total se halló

que producían un empeoramiento del perfil metabólico^{297,298}. Se ha sugerido una relación entre las repeticiones y la composición corporal, de tal forma que en hombres adolescentes menor número de ellas puede ser un factor de riesgo genético de acumulación de grasa²⁹⁹, especialmente intrabdominal²⁹⁵.

Algunos autores apuntan que la longitud de repetición (CAG)_n podría ser un predictor, aunque débil, del índice de masa corporal³⁰⁰ y la masa gras libre³⁰¹⁻³⁰⁴.

Varios estudios epidemiológicos han demostrado que diferentes longitudes de repetición pueden jugar un papel importante en la aparición del cáncer de testículo (CT). Así, hombres de origen africano tienen menor número de repeticiones (CAG)_n e incidencia de este cáncer que los caucásicos, aunque también hay estudios contradictorios al respecto^{305,306}. Un número de repeticiones mayor de 25 debe ser considerado un factor de riesgo de aparición de CT dada su mayor frecuencia en pacientes que en controles³⁰⁷. El mecanismo biológico subyacente no está claro.

Además de los referidos otros procesos oncológicos han sido relacionados con la longitud de las repeticiones de (CAG)_n y (GGN)_n y los polimorfismos del AR, como el de endometrio, ovario, colon, esófago y mama³⁰⁸⁻³¹³. El cáncer de mama, manifiesta un comportamiento contrario al de otros tumores al tener un factor protector en repeticiones más cortas (CAG)_n^{314,315}.

La relación de las repeticiones de (CAG)_n con ciertas alteraciones psiquiátricas o conductuales, como la tendencia a la conductas violentas y la impulsividad, se han estudiado, hallando significativas las menores repeticiones, aunque es cierto que también otros investigadores lo niegan³¹⁶⁻³¹⁹. Se han estudiado y con similares hallazgos aspectos como la tendencia a la depresión, la autoestima, conductas de riesgo, etc., relacionándolos con los niveles de andrógenos y las repeticiones cortas como rasgo de mayor actividad masculina hallándose también una asociación positiva^{265,320,321}. Hay que resaltar que ciertos estudios han mostrado que la presencia de repeticiones más cortas de (CAG)_n están ligadas al trastorno de déficit de atención e hiperactividad (TDAH)³²².

El metabolismo óseo se ve condicionado por las variaciones de longitud de las repeticiones de ambos polimorfismos. Zitzmann et al.³²³ ya recogía la disminución de masa óseas, preferentemente, en mujeres con largas repeticiones fundamentalmente de (CAG)_n. Ocurría, igualmente, en hombres entre 20 y 50 años en los que se asociaba de forma inversa e independiente el número de repeticiones con DMO. Recogían un incremento de la pérdida ósea dependiente de la edad en sujetos con longitudes de 23-31 comparados con los de menor. Este resultado se confirma en un estudio en mujeres perimenopáusicas (Sowers et al., 1999)³²⁴.

En pacientes con hipogonadismo hipogonadotrófico y tractos más cortos de (CAG)_n se evidenció una asociación independiente con mayor incremento de la DMO tras tratamiento sustitutivo con T³²⁵.

B. L. Langdahl et al.³²⁶ (2002) en un estudio sobre repeticiones de (CAG)_n, DMO y riesgo de fracturas encuentra en las de mujeres de la población que estudia que tanto la media de repeticiones (CAG)_n como la longitud de los alelos fueron predictores significativos de fracturas osteoporóticas. Un incremento de 5 repeticiones (CAG)_n en la media de repeticiones o de repeticiones en el alelo, individualmente, aumentaban el riesgo de fractura osteoporótica en 3,1 y 7,3% respectivamente. La DMO medida en todas las regiones fue menor en mujeres con un promedio de de repeticiones por encima de la media, aunque la diferencia no resultó significativa. Y concluyen que demuestran que el polimorfismo de repetición de (CAG)_n del primer exón del gen del AR está asociado con masa ósea reducida y con riesgo incrementado de fracturas osteoporóticas en mujeres.

Zitzmann et al.³²³ encontraron, así mismo, que el número de repeticiones en el alelo largo y el promedio de repeticiones de (CAG)_n en el AR era mayor en mujeres osteoporóticas y que la DMO se correlacionaba negativamente con el número de repeticiones y la longitud de alelo.. Esto se ve apoyado por la estimación, basada en estudios in vitro de Kazemi-Esfarjani et al.²⁷⁵, de que una disminución de 6 repeticiones de (CAG)_n causa un 12% de incremento de la activación transcripcional. Además, Westberg et al.³²⁷ demostraron que un menor número de repeticiones de (CAG)_n están asociadas con niveles séricos

elevados de andrógenos. Ambos mecanismos podrían, por tanto, estar contribuyendo al efecto positivo de las bajas repeticiones de (CAG)_n sobre la masa ósea y la protección contra fracturas en mujeres ancianas.

Guadalupe-Grau, et al.³²⁸ (2010), en un estudio sobre polimorfismos CAG, GGN y masa ósea en hombres jóvenes encuentran una asociación entre el polimorfismo CAG del AR (y por extensión el GGN), la masa ósea y la DMO, que está modulada en relación con la edad, la osteocalcina y la concentración sérica de T. Encuentran mayor DMO en hombres con (CAG)_n +(GGN)_n cortos, mientras los que tiene ambos haplotipos largos tienen la mayor DMO y contenido mineral óseo.

En estudios en ratones con delección del gen del AR se demostró baja masa ósea junto alto remodelamiento, reproduciendo, en cierta medida, los efectos de la deficiencia de andrógenos en humanos.^{329,330}

Sobre estos efectos cabe reiterar que se ha demostrado que el polimorfismo de repetición (CAG)_n, está correlacionado con la actividad transcripcional del gen de AR. La secuencia de repetición corta se asoció con un incremento en la capacidad del receptor de activar la transcripción de genes, en estudios in vitro^{274,275,331}, mientras no se alteró la unión del andrógeno al AR³³².

I.2.6 ANDRÓGENOS Y HUESO

I.2.6.1 ANDRÓGENOS Y ACCIÓN EN EL HUESO

Las hormonas sexuales tienen un papel fundamental en el desarrollo y mantenimiento del esqueleto. Tanto los estrógenos como los andrógenos influyen en el metabolismo del hueso, afectando en diferente medida tanto al hueso cortical como al trabecular³³³. Es sabido que participan en la fisiología ósea, tanto en la adquisición del pico de masa ósea, como en la remodelación del hueso maduro y en la inhibición de la pérdida ósea.

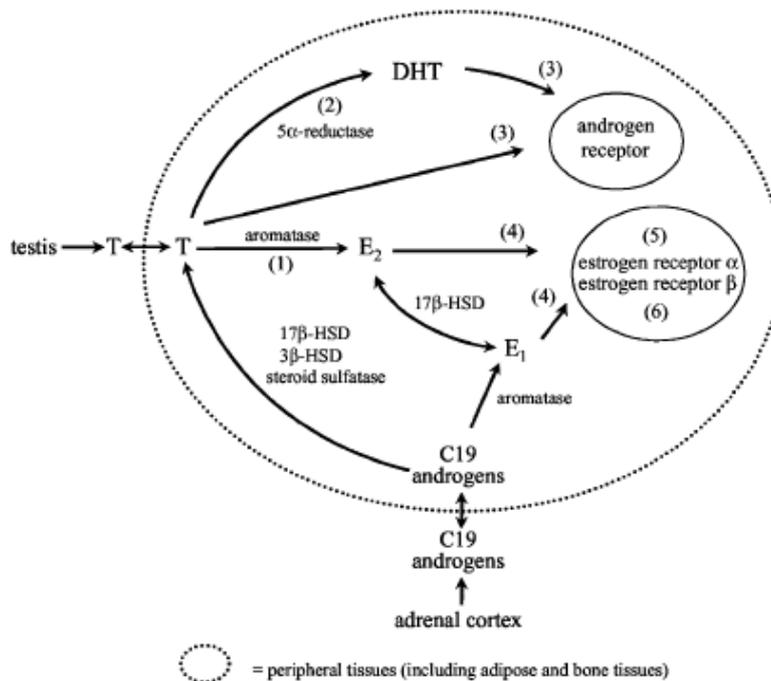


Figura 12. Metabolismo y mecanismos de acción de los andrógenos en el hueso. Los andrógenos en el hombre son producidos en los testículos y en las glándulas suprarrenales, y en la mujer en las glándulas suprarrenales y en el ovario. El testículo del hombre adulto produce cantidades importantes de testosterona, pero éstas varían ampliamente a lo largo de la vida. Las suprarrenales en ambos sexos producen precursores de la testosterona, que son convertidos en testosterona periféricamente, y también experimentan importantes cambios a lo largo de la vida. Los ovarios producen también cantidades pequeñas de precursores de testosterona, pero durante la menopausia su secreción viene a ser equivalente a la de las suprarrenales. La Testosterona es convertida en DHT (Dihidrotestosterona) localmente, en las células sobre las que actúa. La DHT tiene 10 veces más afinidad por el Receptor de Andrógenos (AR) que la Testosterona. La testosterona, así como sus precursores (pero no la DHT) pueden ser transformados en estrógenos por la acción de la aromatasa, presente localmente en las células diana, pero también abundante en el tejido adiposo y otros tejidos. Los andrógenos convertidos es estrógenos activan los receptores estrogénicos ER α y ER β , pero en hueso sólo parece importante el ER α . Todos los tipos celulares óseos expresan AR y ER. Fuente: Vanderschueren D., Vandenput L., Boonen S., Lindberg M.K., Bouillon R., Ohlsson C. Androgens and bone. *Endocr Rev.* 2004; 25:389-425.³³⁴

Las acciones de los andrógenos en el hueso se dividen en dos tipos principales (Figura 12) que denominaremos directas e indirectas para simplificar su estudio³³⁴.

Las acciones directas de los andrógenos son las que se ejercen a través del receptor de andrógenos (AR) mediante la regulación de la expresión génica de proteínas concretas, frecuentemente tras la conversión de la Testosterona en Dihidrotestosterona por la acción local de la 5-hidroxi-reductasa.

Las acciones indirectas de los andrógenos son de dos tipos, las derivadas de la conversión local en estrógenos por la acción de la aromatasa, y las derivadas de la activación del eje Hormona de crecimiento – Insulin-like growth factor 1 (GH-IGF1) por los andrógenos.

La aromatasa, codificada por el gen CYP19³³⁵ (pertenece a la familia de los P450) (Figura 13), es la enzima convertidora de Androstendiona o Testosterona en los compuestos con el primer anillo aromático Androstendiol (Estrona = E₁) o Estradiol (E₂) respectivamente (Figura 9). Estos estrógenos actuarán a través de sus propios receptores intracelulares, los Receptores de Estrógenos (ER), que también ejercen un efecto transcripcional sobre un conjunto de proteínas diferente de las reguladas por el RA. Las acciones de los estrógenos en el hueso han sido recientemente revisadas en profundidad, pero no serán objeto del presente estudio³³⁶.

Por otra parte, la hormona hipofisaria GH es sabido que tiene un ritmo de secreción pulsátil, siendo los pulsos más potentes y menos frecuentes en los machos que en las hembras, en un efecto claramente dependiente de los andrógenos. La GH a nivel de hígado incrementa la IGF-1, cuya abundancia en plasma es dependiente de los pulsos de andrógenos y es más abundante en hombres que en mujeres. Finalmente, la GH de modo directo, y a través de la acción a nivel del cartílago epifisario produce un alargamiento en longitud de los huesos, y también contribuye al aumento de la masa ósea radial durante la pubertad. Este factor es importante, pues contribuye a establecer el pico de densidad mineral ósea que alcanza un individuo, contribuyendo de ese modo a protegerle de la osteoporosis.

En tal sentido, en las mujeres los estrógenos a baja concentración al inicio de la pubertad contribuyen a la actividad GH-IGF1 a nivel de la placa de crecimiento, y las niñas experimentan un rápido crecimiento longitudinal. A medida que los niveles estrogénicos aumentan con la madurez sexual, el efecto de los estrógenos es el de contrarrestar el efecto estimulador del eje GH/IGF1, y provocan la desaparición de la placa de crecimiento y la detención del crecimiento en longitud de los huesos largos.

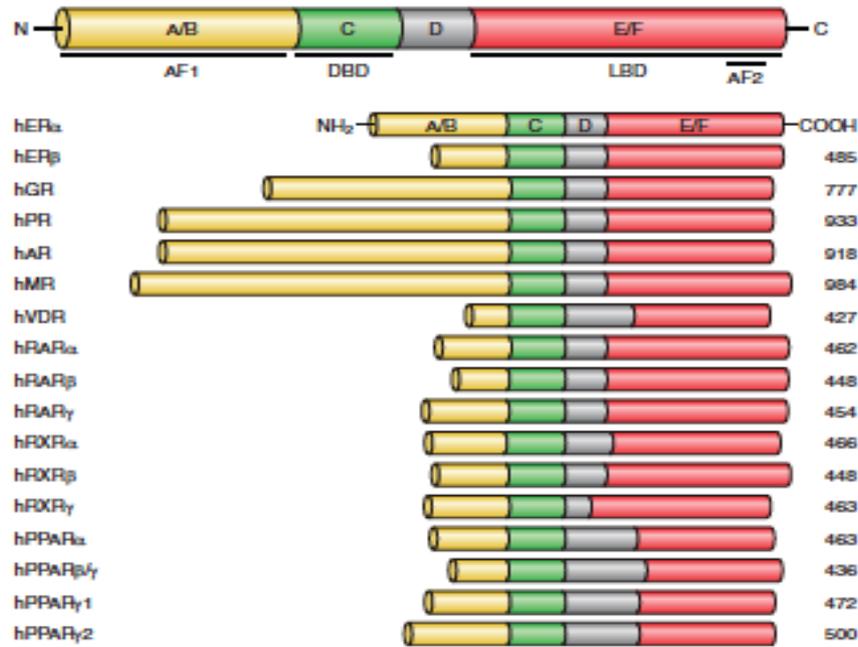


Figura 13. Familia de los receptores hormonales y su actividad en hueso. Los receptores de estrógenos y los receptores de andrógenos son miembros de la superfamilia de receptores nucleares. Desde el punto de vista bioquímico los receptores nucleares son proteínas que actúan como factores reguladores de la transcripción génica (reguladores de la lectura de los genes desde DNA a RNA-mensajero) con la peculiaridad de que son dependientes de ligando (cumplen su función tras unirse a hormonas esteroideas, vitamina D3, retinol, hormonas tiroideas, ácidos grasos específicos, etc.). La mayor parte de la familia tiene ligandos que aún están por descubrir (son receptores huérfanos). Las células óseas, además de expresar receptores de andrógenos y de estrógenos expresan muchos otros tipos de receptores nucleares. Entre ellos el receptor de vitamina D3 es particularmente importante en la fisiología ósea. Pero también expresan receptores de hormonas tiroideas, receptores de retinol y un número creciente de otros receptores nucleares. Las funciones en la fisiología ósea que ejercen los receptores nucleares distintos de los receptores para hormonas sexuales, con la excepción de los RvitD3, es ampliamente desconocido. Fuente: Imai Y., Youn M.Y., Inoue K., Takada I., Kouzmenko A., Kato S. Nuclear receptors in bone physiology and diseases. *Physiol Rev.* 2013; 93:481–523.³³⁵

Otro efecto indirecto de los andrógenos es el derivado de su acción anabolizante sobre la masa muscular. Al aumentar la cantidad de músculo lo hace también su peso y el esfuerzo mecánico que se ejerce sobre el hueso. Sin duda la estimulación mecánica es el factor más importante que afecta a la modelación de todo el esqueleto. La importancia de este fenómeno es claramente deducible de la pérdida de masa ósea y consiguiente osteoporosis en los pacientes de cáncer de próstata sometidos a orquidectomía (o bloqueo androgénico total). Es interesante destacar que los estímulos derivados de la estimulación mecánica del hueso convergen sobre el RE α , posiblemente por vías no genómicas.

Los tres tipos principales de células óseas –osteocitos, osteoblastos y osteoclastos – expresan el AR³³⁷ (Figura14). Como ya quedó dicho anteriormente, los andrógenos son capaces de atravesar la membrana plasmática de la célula donde se unen al AR y generan una serie de reacciones en cascada, que culminan con la regulación transcripcional de proteínas específicas.

Las proteínas dependientes total o parcialmente de andrógenos para su expresión son varios cientos. Pero no todas ellas se expresan en todas las células que contienen AR. En realidad las proteínas expresadas bajo la acción de los andrógenos son bastante distintas entre diferentes tipos celulares, pues no todos los genes están disponibles en todo momento para expresarse. De hecho, las proteínas inducidas a su expresión varían entre osteocitos, osteoclastos y osteoblastos.

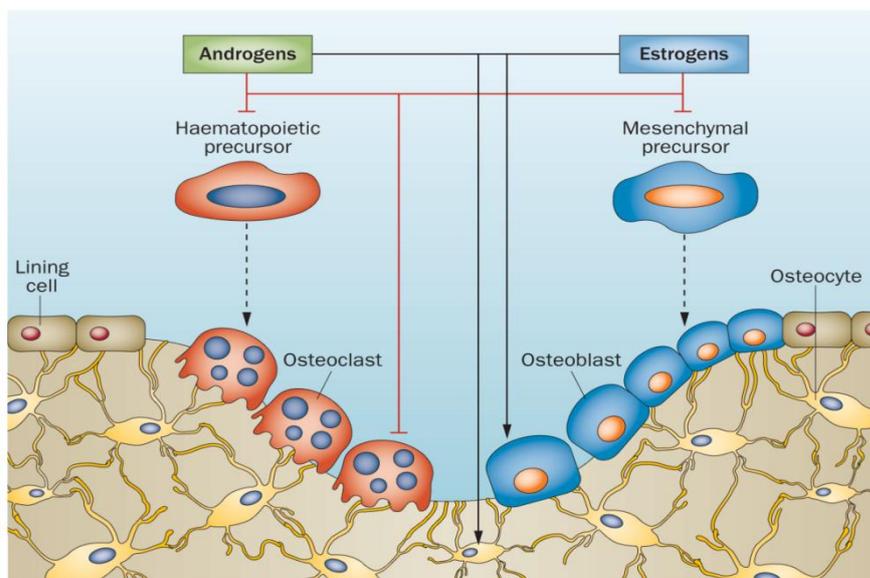


Figura 14. Efectos de los estrógenos y de los andrógenos en la remodelación ósea. Los osteoblastos y osteoclastos tienen un origen embriológico distinto: los osteoblastos tienen un origen mesenquimal, mientras que los osteoclastos proceden de precursores hematológicos (monocitos/macrófagos). Durante el proceso de remodelado óseo, la matriz ósea es excavada por los osteoclastos y reemplazada por matriz nueva producida por los osteoblastos. Tanto los estrógenos como los andrógenos influyen en la maduración de los precursores de osteoblastos y osteoclastos e influyen en la vida media de los osteoblastos y osteoclastos maduros, así como en la vida media de los osteocitos. Las flechas azules indican los efectos positivos, las barras rojas efectos negativos, y las líneas de puntos las influencias diferenciadoras. Estas influencias pueden tener variantes regionales dependientes del tipo de hueso y del esfuerzo mecánico que le sea requerido. Fuente: Manolagas S.C., O'Brien C.A., Almeida M. The role of estrogen and androgen receptors in bone health and disease. *Nat Rev Endocrinol.* 2013; 9: 699–712.³³⁷

Innumerables experimentos en ratones han puesto de manifiesto algunas claves referidas al papel de los andrógenos en las tres estirpes celulares óseas. Las principales conclusiones de los efectos directos de los andrógenos en ratones son las siguientes:

- Al igual que ocurre con hombres con hipogonadismo hipogonadotrópico o con insensibilidad androgénica completa (portadores de mutaciones inactivantes del gen AR), la ausencia total del gen AR (ARKO mice) tienen bajo BMI, elevado índice de resorción y de remodelación óseas, así como disminución tanto del hueso trabecular como del cortical.
- Los ratones carentes del gen AR presentan una disminución notable en la formación de hueso perióstico, en línea con la observación en hombres y en ratones que los andrógenos estimulan la formación de esa parte del hueso (Figura 15).

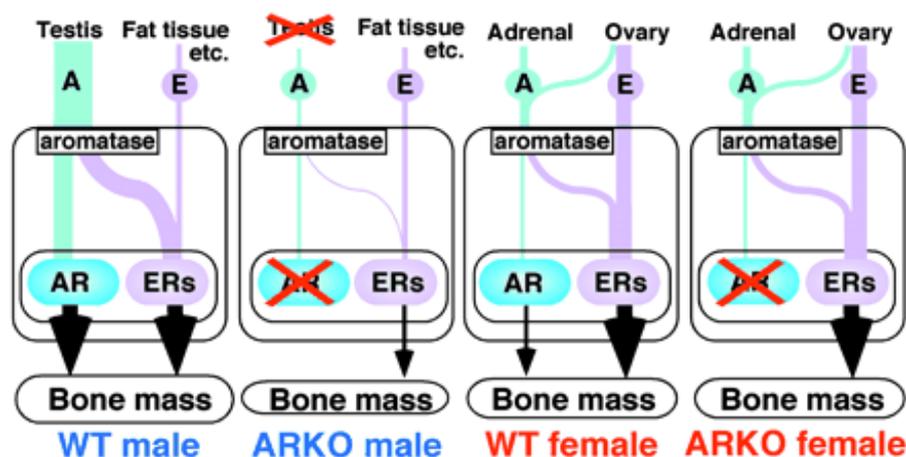


Figura 15. Esquema de las acciones de las hormonas sexuales en hueso derivadas de modelos de ratón. En los ratones macho de genotipo salvaje (intacto) las actividades óseas de las hormonas sexuales son medidas por los receptores de andrógenos (AR) y por los receptores de estrógenos (ER). En las hembras salvajes maduras, la función predominante en hueso es ejercida por el ER, pues los niveles plasmáticos de andrógenos en estos animales son bajos, y además son aromatizables a estrógenos. En ratones a los que se ha suprimido el gen AR (ARKO) la producción de andrógenos testiculares es baja, debido a hipoplasia testicular, y la poca testosterona remanente no puede actuar por ausencia de AR, por lo que disminuye significativamente la masa ósea. Las hembras ARKO no presentan variaciones significativas de masa ósea Fuente: Manolagas S.C., O'Brien C.A., Almeida M. The role of estrogen and androgen receptors in bone health and disease. Nat Rev Endocrinol. 2013; 9: 699–712.³³⁷

- Los ratones carentes del gen que codifica la 5- α -reductasa (3-oxo-5- α -esteroide 4-deshidrogenasa 1) presentan una reducción importante en el grosor del hueso cortical, lo que indica claramente que la expansión perióstica está bajo control androgénico directo, pues la DHT no es aromatizable a estrógenos.

- Curiosamente cuando el gen del AR se elimina selectivamente en los osteocitos, los osteoblastos o los percursoros de sus linajes, estos ratones presentan un hueso cortical normal. Esto indica que probablemente los efectos descritos de andrógenos sobre el hueso no sean debidos acciones directas de los andrógenos sobre los osteoblastos y los osteocitos a través del AR. Este hallazgo se interpreta en términos de que los andrógenos estimulan mucho la producción de factores de crecimiento y/o el desarrollo muscular, que indirectamente incrementan la formación de hueso perióstico en respuesta al esfuerzo mecánico.
- En contraste con lo descrito para hueso cortical, la delección del gen AR en los osteoblastos maduros o en los osteocitos disminuye la masa de hueso trabecular en ratones macho. Los mecanismos celulares y moleculares tras este efecto son desconocidos. Pero la ausencia de AR no altera la respuesta estimuladora del esfuerzo mecánico sobre la formación del hueso trabecular.
- La activación de AR por DHT previene la apoptosis en los osteoblastos inducida por la gonadectomía en ratones macho. Por ello se considera que la disminución de hueso trabecular en ratones macho con AR inactivado puede ser debida al aumento de apoptosis en los osteoblastos.
- La DHT suprime la osteoclastogénesis y protege contra la disminución de masa ósea inducida por la orquidectomía. Los ratones que carecen por completo del gen AR (ARKO) muestran un importante aumento en los osteoclastos en el hueso trabecular. Sin embargo el número de osteoclastos no varía en los ratones en que el gen AR es eliminado selectivamente en los osteocitos y osteoblastos. Este hallazgo sugiere que el AR en los osteoclastos juega un papel relevante en el efecto protector de los andrógenos en la masa ósea.
- En ratas, la castración induce un estado óseo similar a la menopausia en las mujeres, en ambos géneros, y de manera independiente a la edad en el hueso trabecular. El compartimento intracortical del hueso es resistente a la castración. Las respuestas del hueso cortical perióstico y la placa de crecimiento son sexualmente dimórficas, con andrógenos estimulando y estrógenos inhibiendo la expansión perióstica (Figura 16).

En el ser humano³³⁸, los andrógenos, aunque también los estrógenos, mantienen la masa y la integridad del hueso calloso, un efecto que se ha observado tanto en mujeres como en hombres. La pérdida de estrógenos o de andrógenos aumenta la velocidad de remodelación ósea pues se eliminan las restricciones sobre la osteoblastogénesis así como sobre la osteoclastogénesis, causando un desequilibrio local entre la resorción y la

formación, prolongando la vida de los osteoclastos y disminuyendo la de los osteoblastos.

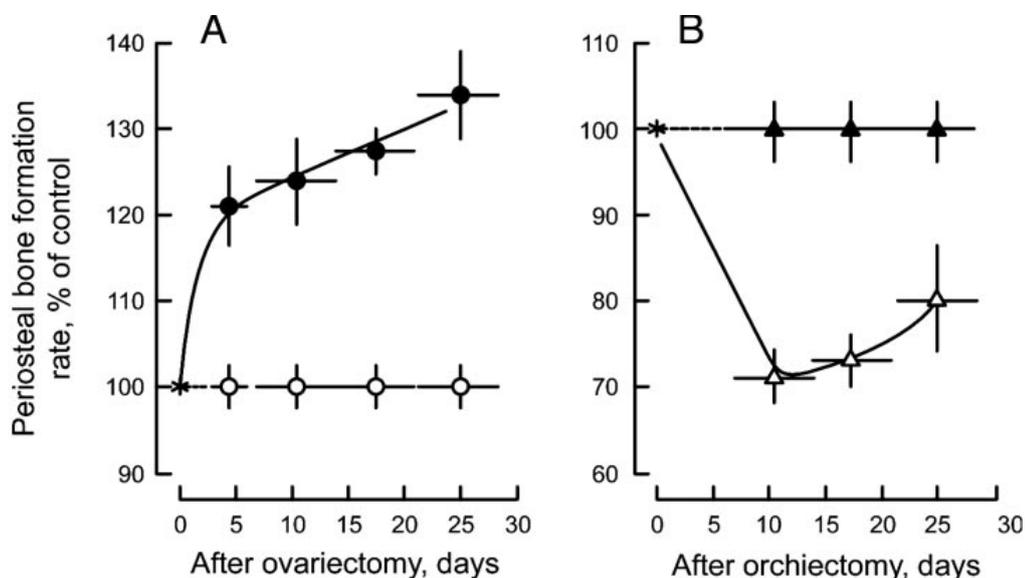


Figura 16. Efecto de la castración sobre la acumulación de hueso perióstico en la rata.

El hueso perióstico es territorio esencialmente controlado por los andrógenos, y representa la mayor diferencia de mineralización ósea entre hombres y mujeres. En modelos de rata se ha comprobado que la aposición de hueso cortical perióstico presenta un claro dimorfismo sexual, que se pone de manifiesto tras la castración. La figura muestra cómo en la rata hembra la ovariectomía es seguida de una potente acumulación de hueso cortical perióstico, mientras que el efecto opuesto es observado en el macho tras la orquiectomía. Los resultados se muestran en porcentaje de cambio, pero debe tenerse en cuenta que el punto de partida en ratas hembras y machos maduros es muy diferente, con mucha mayor densidad ósea cortical perióstico en el macho que en la hembra. La castración tiende a suprimir esas diferencias tan notorias en los animales sexualmente maduros. La figura indica claramente que los andrógenos ejercen un potente efecto anabolizante sobre el hueso cortical perióstico que es modulado a la baja por los estrógenos. Fuente: Vanderschueren D., Vandendput L., Boonen S., Lindberg M.K., Bouillon R., Ohlsson C. Androgens and bone. *Endocr Rev.* 2004; 25:389-425.³³⁴

Aunque los andrógenos y los estrógenos ejercen sus papeles respectivos a través de sus receptores específicos, AR y ER, la contribución exacta de cada uno de ellos es desconocida por tratarse de efectos intrincados, y por ser difíciles de deslindar debido a la conversión intracelular de andrógenos en estrógenos. Por ejemplo, el efecto bien definido de andrógenos sobre el hueso calloso en humanos se ha descrito que puede ser debido a la presencia de aromatasa que convierte andrógenos en estrógenos. En cambio, en roedores el efecto de los andrógenos sobre el hueso calloso es debido a la acción directa a través de AR, pues ocurre incluso en ausencia de ER.

Los andrógenos también incrementan el hueso cortical vía estimulación tanto del crecimiento radial como del longitudinal. Los andrógenos (al igual que

ocurre con los estrógenos) tienen un efecto bifásico sobre la formación del hueso endocondral, mientras que inducen un cierre epifisario al final de la pubertad. Es un efecto menos potente que el de los estrógenos, y en gran medida es debido a la aromatización de los andrógenos y su interacción con el ER, pues las personas genéticamente deficientes en aromatasa o en ER no experimentan la consolidación epifisaria de manera completa.

Los andrógenos actuando a través del AR aumentan el crecimiento radial, de modo que los huesos masculinos tienen un periostio más denso. Este efecto de los andrógenos es importante y confiere a los huesos masculinos mayor masa, mayor resistencia y mayores dimensiones a cualquier edad, sobre los huesos femeninos (Figura 17). Los estrógenos en cambio disminuyen la formación de hueso perióstico, pero aumentan la formación de trabecular.

Experimentos en ratones, no siempre trasladables a los humanos, pues no tienen el fenómeno de cierre epifisario tras la madurez sexual, sugieren que tanto los AR como los ER actúan en la conformación de hueso radial. El ER parece implicado en la determinación limitante del crecimiento óseo en las mujeres, pero tiene un papel más modesto en la regulación del tamaño de los huesos en el hombre.

Una importante aportación al papel de los andrógenos en el metabolismo óseo se deduce de las observaciones realizadas en hombres con hipogonadismo hipogonadotrópico idiopático, o con insensibilidad completa a los andrógenos debido a mutaciones que causan la pérdida de función del RE. En estos pacientes se ha descrito una importante disminución en la masa ósea, y una disminución del volumen trabecular y cortical de los huesos. Los modelos experimentales en ratones han confirmado esos hallazgos, y han añadido que cuando los ratones carecen del enzima 5^a-reductasa, que transforma la testosterona en Dihidrotestosterona (con mayor afinidad por el RA) tienen disminuido el grosor de la capa cortical del hueso, demostrando que es la DHT y no la T la hormona que lleva a cabo tal acción, además de que no se deba a un efecto debido a la aromatización (la DHT no es aromatizable) a estrógenos y actuación vía ER.

Finalmente, los andrógenos parecen proteger al hombre de la osteoporosis vía mantenimiento de la masa de hueso caloso y la expansión del hueso cortical. Tales acciones de los andrógenos en hueso son mediadas por un equilibrio entre las acciones directas a través del AR e indirectas a través del ER.

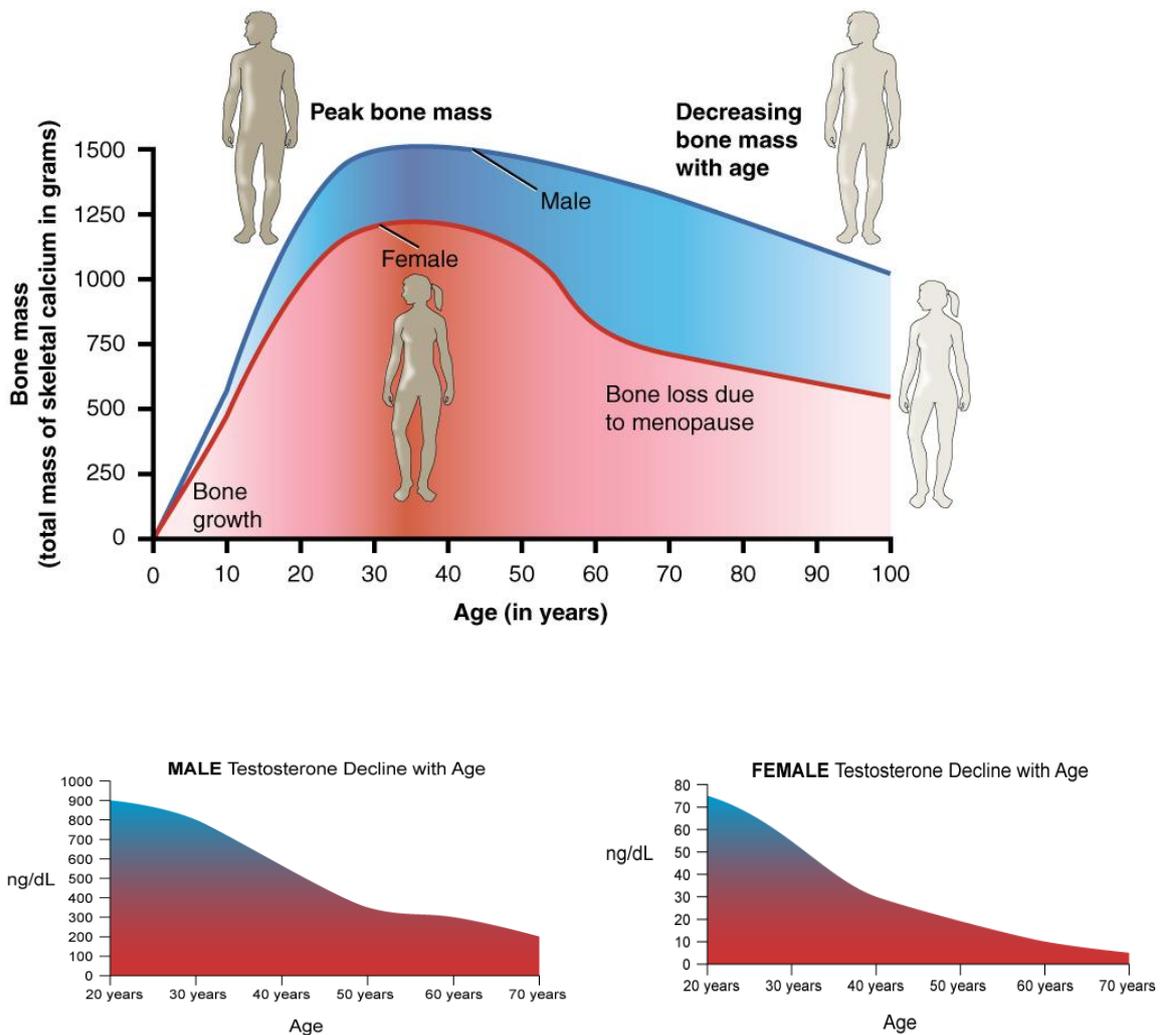


Figura 17. Cambios en la densidad mineral ósea y niveles de andrógenos en hombres y mujeres.

La acumulación de masa ósea se produce principalmente durante la pubertad, alcanzándose el pico masa ósea entre los 20 y los 30 años en ambos sexos, pero en el hombre el grado de mineralización es mayor, posiblemente debido a la respuesta ósea al mayor peso y actividad física del hombre. La pérdida de masa ósea comienza lentamente a partir del pico central, y es más acusada en la mujer que en el hombre. En particular, la caída al inicio de la menopausia en la mujer es muy notable, pero también en el hombre hay un rápido descenso en función de la disminución de andrógenos circulantes. En la parte inferior de la figura se ilustran los cambios en la testosterona circulante a partir de su pico máximo alrededor de los 20 años (nótese que es más de 10 veces mayor en los hombres que en las mujeres). El descenso de los niveles de testosterona a partir del pico máximo sigue patrones de extinción similares en ambos sexos.

I.2.6. 2 ANDRÓGENOS Y HUESO FEMENINO

Los andrógenos clásicamente se han considerado como las hormonas masculinas, de manera que, en la mujer, siempre se ha dado una mayor importancia al efecto que tenía un exceso de estas hormonas que su déficit. Pero en la mujer hay una producción de andrógenos en el ovario (androstenediona, testosterona y dehidroepiandrosterona (DHEA) y en la suprarrenal (sulfato de dehidroepiandrosterona ([DHEA-S). Al menos el 50% de la testosterona circulante proviene de la conversión periférica de los principales preandrógenos (sobre todo la androstenediona).

Los andrógenos ováricos son secretados por las células de la teca bajo el control de la hormona luteinizante (LH), de forma que en una mujer con ciclos ovulatorios la secreción de los mismos tiene un ritmo cíclico. Las suprarrenales liberan grandes cantidades de DHEA y DHEA-S que, a nivel periférico, se convierten en androstenediona y ésta a su vez en testosterona y dihidrotestosterona (DHT), así como en estrógenos por la acción de la aromatasa presente en numerosos tejidos, notablemente en el tejido adiposo. Sólo el 1-2% de la Testosterona circulante es biológicamente activa; el resto está unida a la proteína ligadora de hormonas sexuales (SHBG) y a la albúmina.

Existen bastantes pruebas que sugieren un papel importante de los andrógenos en la mujer durante la pubertad. Así debería ser, pues las pacientes con ovarios poliquísticos, con hipersecreción de andrógenos, tienen una masa ósea significativamente mayor que las normales y también alcanzan un mayor pico de densidad ósea. Los cambios en masa ósea en las mujeres con hipersecreción androgénica son más importantes en los huesos de los brazos y en las costillas, de modo que la hiperandrogenicidad no necesariamente afecta al conjunto del esqueleto, sino que existen diferencias regionales³³⁹.

Los diferentes papeles de ER y AR, descritos más arriba, en hueso trabecular y cortical sugieren que las señales hormonales son modificadas e integradas con diferentes estímulos locales, como las citoquinas y factores de crecimiento producidas localmente por las células óseas y linfocitos (Figura. 18). También

tienen importancia las señales procedentes de las acciones mecánicas, provenientes de las tensiones musculares y los efectos de la gravedad sobre el hueso, que incitan la producción local de citoquinas y factores de crecimiento.

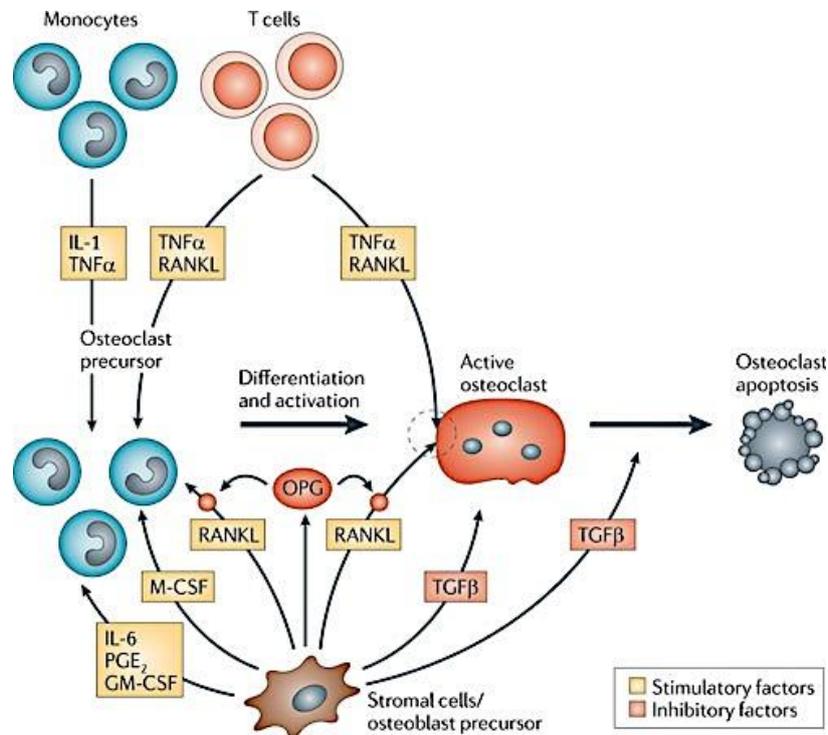


Figura 18. Factores de diferenciación celular ósea distintos de las hormonas sexuales.

El hueso ofrece un complejo panorama de interacciones entre muy diferentes agentes que utilizan muchos mediadores intracelulares, distintos de los receptores de hormonas sexuales. La remodelación ósea comienza con la liberación de citoquinas (IL-6, PGE₂, GM-CSF) por los precursores estromales de osteoblastos, que llevan a cabo el reclutamiento y diferenciación de los osteoclastos multinucleados, que comienzan el ataque a la matriz ósea. La reabsorción de la matriz libera factores de crecimiento, como IGF-1 y TGFβ que a su vez recluta nuevos precursores de osteoblastos destinados a la formación de nueva matriz ósea. Los osteoblastos que no llegan a experimentar apoptosis al final de su trabajo quedan enterrados en la matriz ósea y se transforman en osteocitos. Éstos cumplen papeles determinantes como mantener el contacto señalizador con las células óseas superficiales, y responder a las demandas del esfuerzo físico sobre el hueso. Símbolos: IL-1, interleukin-1; GM-CSF, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; M-CSF, macrophage colony-stimulating factor; OPG, osteoprotegerin; PGE₂, prostaglandin E₂; RANKL, receptor activator of NF-κB ligand; TNFα, tumour necrosis factor-α. Fuente: Kawai M., Mödder U.I., Khosla S., Rosen C.F. Emerging therapeutic opportunities for skeletal restoration. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2011; 10(2):141-56.³⁴⁰

En general, el diferente papel de AR y ER en ambos sexos y en cuanto a la respuesta del hueso cortical vs trabecular puede ser debido a cambios adaptativos de los osteoblastos a lo largo de la vida. Así los cambios en el hueso trabecular se acomodan mejor a la remodelación, mientras que los del hueso cortical se adaptan mejor al modelado.

Algunos autores han encontrado un descenso (aproximadamente del 15%) en los valores de testosterona y androstenediona en los primeros seis meses de la menopausia. Tras una ooforectomía, tanto la testosterona como la androstenediona descienden en un 50%, lo que pone de manifiesto que la aportación de suprarrenales y ovario es equivalente.

Este descenso de la producción de andrógenos en la mujer, con la edad o bien tras una menopausia quirúrgica, se manifiesta como alteraciones en la actividad sexual – no en vano la libido femenina, al igual que la masculina, es inducida por los andrógenos circulantes -, afectación del estado de bienestar, pérdida de energía y un efecto negativo sobre la masa ósea. Dado que este descenso de las cifras plasmáticas de andrógenos comienza en la década que precede a la menopausia, es por lo que estos síntomas se pueden observar ya en los primeros años tras el cese de la menstruación.

En los años que preceden a la menopausia la masa ósea está correlacionada con el peso mientras la obesidad lleva a una disminución de los niveles de SHBG de forma que aumenta el porcentaje de testosterona libre. En mujeres premenopáusicas esto puede explicar la relación existente entre obesidad, testosterona libre y aumento de masa ósea.

En la mujer postmenopáusica, el papel de los andrógenos está poco documentado. Hay que tener en cuenta que la menopausia está asociada con una caída importante (hasta el 70%) en el nivel circulante de DHEA-S, el principal andrógeno suprarrenal, pero la importancia real de esta caída en la aparición de la osteoporosis es desconocida. No se han encontrado relaciones consistentes entre el nivel circulante de DHEA-S y la densidad mineral ósea. Tampoco se sabe si los potenciales efectos de los andrógenos en el hueso de la mujer postmenopáusica son debidos a la acción directa a través de AR o debidos a la aromatización, y acción indirecta a través de los ER.

Es evidente que la influencia relativa de andrógenos y estrógenos y sus respectivos receptores en los procesos de fisiopatología ósea distan mucho aún de ser comprendidos. La enorme demanda de atención por parte de la osteoporosis galopante en la población envejecida, obesa y sedentaria de los

países desarrollados exige respuestas que no son fáciles cuando se trata de cuestiones tan intrincadas.

Una de las cuestiones importantes a resolver es deslindar las funciones reales del AR en el metabolismo óseo. Esta posibilidad es abordable desde el punto de vista genético, mediante el estudio de los polimorfismos de longitud $(CAG)_n$ y $(GGC)_n$ del RA, que aportan una visión única sobre la influencia androgénica pura en el hueso, y puede facilitar una imagen excepcional sobre la participación de los andrógenos en la patología de la osteoporosis.

I.3 PLANTEAMIENTO E HIPÓTESIS

I.3.1 PLANTEAMIENTO DE ESTE ESTUDIO

I.3.1.1 POLIMORFISMOS DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENOS Y METABOLISMO ÓSEO

La participación de los andrógenos en el metabolismo óseo es compleja, y frecuentemente difícil de separar en cuanto que sus acciones pueden ser directas, a través del AR, o indirectas, tras aromatización a estrógenos y acción a través del ER, o de su capacidad anabolizante general a través del eje GH/IGF-1 ya descritas anteriormente.

El AR ofrece una posibilidad única de estudio que permite deslindar claramente acciones atribuibles solamente a los andrógenos. Se trata de una condición genética, y por tanto invariable, basada en la existencia de dos polimorfismos de longitud en el gen del RA: un tracto repetitivo del triplete CAG (codifica para glutamina) y un tracto GGN (codifica para poliglicina).

El polimorfismo $(CAG)_n$, presente en el exón 1 del gen RA, ha sido estudiado en relación casi con cualquier función androgénica³⁴¹. Por lo que se refiere al metabolismo óseo, la participación del $(CAG)_n$ ha sido estudiada por varios autores con resultados no concluyentes. Han descrito que el $(CAG)_n$ tiene una participación que va desde despreciable a positiva sobre la masa ósea.

La androgenización ciertamente podría afectar a la asociación entre el polimorfismo AR y la densidad mineral ósea (DMO). Así mientras en 229 hombres sanos, la menor DMO en cuello femoral, ajustado por la menor edad e IMC, se encontró entre los hombres en el tercil más bajo tanto para la longitud de repetición AR como la T libre, mientras que los hombres en las categorías más altas de estas variables muestran las mayores DMO³⁴². En contraste, Zitzmann et al.³²³ sugirió que un alto número de repeticiones de (CAG)_n en el gen AR podría atenuar los efectos de la T sobre la DMO y el metabolismo óseo. Encontró que el número de (CAG)_n se asociaba inversa e independientemente con la DMO en 110 hombres sanos de 20-50 años, y describe un aumento de pérdida ósea dependiente de la edad en sujetos con una longitud (CAG)_n de 22 hasta 31 repeticiones en comparación con los de 14 - 21 (CAG)_n³⁴³.

En hombres ancianos sanos, el polimorfismo de repetición de (CAG)_n del gen AR ha demostrado tener un efecto neutro sobre las condiciones del recambio óseo y la densidad mineral ósea³⁴⁴. Mediciones de DMO en la cadera y el antebrazo no se asociaron con la longitud de repetición (CAG)_n del AR y no había ninguna asociación del polimorfismo con cualquiera de los marcadores bioquímicos de recambio óseo³⁴⁴ o la DMO del cuello femoral en hombres mayores tanto con DMO normal y baja, como con historia de fracturas de fémur³⁴⁵.

Por último, la tasa de fracturas vertebrales³²⁶ o femoral³⁴⁵ en los hombres eran independientes de las repeticiones (CAG)_n. Sin embargo, si bien es discutible si el polimorfismo de repetición de (CAG)_n puede afectar el metabolismo óseo en condiciones fisiológicas, se encontró que los trectos más cortos de (CAG)_n del AR se asociaron independientemente con una mayor mejoría de la DMO en hipogonadismo hipogonadotrópico tras la terapia de sustitución con T³²⁵.

Quedan, pues, estudios pendientes para dilucidar tanto en sujetos normales como en pacientes con enfermedades específicas (p.ej.: hipogonadismo de inicio tardío, hipogonadismo hipogonadotrópico quirúrgico y el síndrome de Klinefelter) si podrían beneficiarse del cribado de las repeticiones de (CAG)_n y

el conocimiento de sus efectos, y así mismo la evaluación de una terapia de reemplazo con T.

I.3.1.2 PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO.

El presente trabajo relaciona hormonas esteroideas con osteoporosis en seres humanos. Los puntos clave del planteamiento del trabajo son los siguientes:

- El receptor estrogénico (ER α , único que consideraremos aquí) media los efectos de los estrógenos sobre los osteoclastos, y ejerce efectos de manera directa o indirecta también sobre los linfocitos B locales, de modo que su efecto resulta en la atenuación de la reabsorción de hueso trabecular.
- El ER también media los efectos de los estrógenos sobre los progenitores de los osteoblastos, que indirectamente atenúan la resorción de la superficie endocortical, vía un mecanismo estrogénico no transcripcional mediado por ER asociado a membranas celulares.
- El ER de los precursores de los osteoblastos estimula la formación de hueso cortical en respuesta a la actividad mecánica, en un mecanismo mediado por WNT de manera independiente de los estrógenos.
- El receptor de andrógenos (AR) se expresa en osteoclastos y osteoblastos, y media en un efecto androgénico protector en el hueso trabecular en los mamíferos machos, que implica tanto a osteoblastos como los osteoclastos.
- El papel de los AR en los huesos de las mujeres está por determinar, pero es probable que ejerza también un efecto protector del hueso trabecular, en diálogo inacabable entre las señales iniciadas por ambos tipos de receptores de hormonas esteroideas.

- Además, las señales hormonales iniciadas por ER y AR son modificadas e integradas con las iniciadas por varios agentes que actúan en el microambiente local en los compartimentos óseos. Estos agentes incluyen las fuerzas mecánicas, las citoquinas y los factores de crecimiento.
- La participación de los andrógenos en el metabolismo óseo es intrincada por dos posibles conversiones a nivel local. La testosterona se convierte intracelularmente en Dihidrotestosterona por acción de la 5- α -reductasa, más activa que la propia Testosterona sobre osteoclastos y osteoblastos. Ambos tipos celulares expresan, además, aromatasa que convierte los andrógenos en estrógenos.

La posibilidad de deslindar las funciones reales del AR en el metabolismo óseo, y su contribución a la patogénesis de la osteoporosis que se realiza en el presente estudio se basa en el abordaje desde el punto de vista genético, mediante el estudio de los polimorfismos de longitud (CAG)_n y (GGN)_n del AR, que aportan una visión única sobre la influencia androgénica en el hueso, y en particular en la patología de la osteoporosis.

El presente estudio incluye aproximaciones metodológicas distintas de las llevadas a cabo en estudios anteriores por otros autores y también por nuestro propio grupo de investigación, para tratar de comprender mejor el potencial efecto de los polimorfismos (CAG)_n y (GGN)_n del AR sobre la osteoporosis en hombres y en mujeres:

1. Además del polimorfismo (CAG)_n, aquí se estudia el polimorfismo (GGN)_n (poliglicina) que también está presente en el exón 1 del Receptor de Andrógenos. El (GGN)_n ha sido poco estudiado, y menos en relación con la masa ósea, en el cual nuestro equipo ha sido pionero (Guadalupe-Grau, et al. 2010), y prácticamente nada en relación con la osteoporosis masculina y femenina.
2. La realización del estudio con los dos polimorfismos (CAG)_n y (GGN)_n permite llevar a cabo comparaciones entre los efectos relativos de los

tramos largos o cortos de ambos polimorfismos e incluso buscar la combinación con mayor actuación sobre el hueso así como posibles inferencias – adiciones, sinergias, interferencias...- entre ellos, pues no en vano ambos están presentes en el exón 1 del gen del AR, y cuando son transcritos a la proteína AR ambos se encuentran en la región con la que esa proteína interactúa con otras de la maquinaria transcripcional, con posibilidades demostradas de interferir su eficacia.

3. El estudio se centra en un grupo representativo de la población canaria, que incluye pacientes masculinos y femeninos con osteoporosis en diverso grado de evolución, en lo que constituye una serie amplia y extremadamente valiosa. Las frecuencias de los diversos alelos de ambos polimorfismos serán comparadas con las referencias de una extensa base de datos de personas normales de Canarias, genotipadas para diversos estudios anteriores. De ese modo, si existieran influencias en algún sentido de uno o ambos polimorfismos en la osteoporosis se podrían poner claramente de manifiesto.
4. Pretendemos llevar a cabo un análisis estadístico que incluye aproximaciones novedosas, como es, primero, la introducción de medias ponderadas de las longitudes de repetición de los polimorfismos $(CAG)_n$ y $(GGN)_n$ para cada subclasificación de los sujetos. Seguidamente se realizará el estudio mediante la generación de un modelo aditivo que evalúe asociación de los polimorfismos con los principales factores que afectan la osteoporosis (edad y masa corporal) y su consecuencia (la alteración de la DMO), de modo que se pueda inferir claramente si existe una contribución efectiva de $(CAG)_n$ y/o $(GGN)_n$ a la osteoporosis.

I.3.2 HIPÓTESIS

Los polimorfismos de longitud $(CAG)_n$ (poliglutamina) y $(GGN)_n$ (poliglicina) presentes en el exón 1 del gen del Receptor de Andrógenos, cuyo número de repeticiones está inversamente relacionado con la intensidad de la actividad

androgénica mediada por el receptor en las células que lo expresan, incluyendo osteoclastos y osteoblastos, tienen la capacidad de influir en los cambios de densidad mineral ósea a lo largo de la vida, y de contribuir de manera significativa en la patología de la osteoporosis en la especie humana.

II. OBJETIVOS

II. OBJETIVOS

Es conocida la influencia de los andrógenos en los fenómenos de remodelamiento óseo y también que su participación la realiza actuando en las células del hueso en las que se encuentran sus receptores. Lo que no está inequívocamente descrito, porque no se conoce detalladamente, es el mecanismo íntimo por el que actúan. Los AR son esenciales para que se lleve a cabo la acción. Estos no son homogéneos y uniformes en la especie humana, sino variables en su longitud con numerosos alelos en la población, lo que condiciona su funcionalidad, y lo que es más importante la efectividad del efecto androgénico en las funciones de los genes que regulan.

Por otra parte la osteoporosis, enfermedad ampliamente distribuida, y con mayor incidencia en mujeres menopáusicas, supone un escenario con características particulares en el que apreciar y estudiar la influencia de los andrógenos, dado el cambio hormonal propio que condiciona su inicio y evolución.

La suma de estos hechos nos sugirieron los siguientes objetivos que planteamos para este estudio.

1. Analizar las características de una muestra poblacional representativa de Canarias en cuanto a factores de riesgo reconocidos de metabolismo óseo y relacionadas con la osteoporosis.
2. Comparar las características anteriores y valorar diferencias, si las hubiera, con los datos obtenidos de estudios de poblaciones caucásicas, tanto de la población general de las Islas Canarias como de otras localizaciones geográficas mundiales.
3. Analizar tanto en hombres como en mujeres, en nuestra población de estudio, la variabilidad de repeticiones de microsatélites $(CAG)_n$ y $(GGN)_n$ en el gen del AR y por tanto el polimorfismo del AR.

4. Comparar la variabilidad de las repeticiones $(CAG)_n$ y $(GGN)_n$ con la de la población general de Canarias, descrita en estudios realizados sobre la misma, y también con la de otras localizaciones geográficas mundiales.
5. Valorar posibles influencias de las variaciones de longitud de repetición de $(CAG)_n$ y $(GGN)_n$ sobre los parámetros de estudio de osteoporosis.
6. Analizar el efecto de la combinación de dos longitudes de repetición de $(CAG)_n$ y de $(GGN)_n$ en las mujeres y especialmente en menopáusicas mediante metodología estadística novedosa en este tipo de estudios.
7. Analizar la influencia de algunos factores de riesgo y de las repeticiones de los microsatélites estudiados sobre la probabilidad de desarrollar osteoporosis en mujeres menopáusicas.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III. MATERIAL Y MÉTODOS

III.1 PARTICIPANTES

Para la realización del presente trabajo hemos incluido a un grupo de personas que participaron como voluntarios en varios estudios de normalidad, realizados en la Unidad Metabólica Ósea (UMO) del Hospital Universitario Insular de Gran Canaria, y a un grupo de pacientes que fueron estudiados en la misma para descartar o confirmar la existencia de osteoporosis, todo ello en el período comprendido entre el 1 de diciembre de 2011 y el 15 de marzo de 2015.

El total de pacientes reclutados para el estudio fue de 371, entre ambos sexos. Todos eran caucásicos.

III.1.1 PERMISOS

Todos los sujetos fueron detenidamente informados de los objetivos del estudio, el cual fue aprobado por la Comisión de Ética del Hospital Universitario Insular de Gran Canaria y se desarrolló siguiendo las normas de la Declaración de Helsinki³⁴⁶. A todos se les solicitó su consentimiento informado por escrito.

III.1.2 OBTENCIÓN DE INFORMACIÓN RELEVANTE DE LOS PARTICIPANTES Y EXPLORACIÓN FÍSICA

A los participantes del estudio se les aplicó un cuestionario estandarizado y previamente validado³⁴⁷. La recogida de datos se completó revisando la historia clínica hospitalaria, cuando la había. También se realizó una exploración física completa que incluyó la recogida de datos antropométricos, talla y pesar a los participantes, con ropa ligera.

La talla se midió en bipedestación con los talones, los glúteos, la espalda y la región occipital en contacto con el plano del tallímetro. Estas medidas se efectuaron mediante un tallímetro de 1mm de precisión (Atlántida, Año Sayol,

Barcelona, España), manteniendo la cabeza en el plano de Francfort. La masa corporal se midió mediante una báscula (Atlántida, Año Sayol, Barcelona, España) de 50 g de precisión, calibrada a 50.0, 70.0 ó 90.0 Kg, mediante masas patrón de la clase M1.

El IMC se obtuvo dividiendo el peso en kilos por el cuadrado de la talla en metros.

III.1.3 DIAGNÓSTICO DE LAS FRACTURAS

Las fracturas vertebrales fueron diagnosticadas por medio de una radiografía lateral de columna dorsolumbar, desde D3 a L5 (Figura 19), aplicando los criterios diagnósticos de Genant³⁴⁸.



Figura 19. Radiografía lateral de columna dorsal y lumbar mostrando varias fracturas vertebrales.

La presencia de fracturas no vertebrales fue recogida por los informes aportados por los pacientes y posteriormente comprobados por los registros hospitalarios, de nuevo cuando existían. Se consideraron fracturas por fragilidad aquellas producidas por un traumatismo menor o por una caída al suelo como máximo desde la altura de la persona. Se excluyeron las fracturas producidas en accidentes de tráfico y caídas desde una altura elevada, así como las fracturas de cráneo, cara, metacarpo y falanges.

III.2 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA

III.2.1 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA POR

ABSORCIOMETRÍA RADIOLÓGICA DUAL (DXA)

La medición de la densidad mineral ósea (DMO) se efectuó tanto en la columna lumbar (L2-L4) como en la extremidad proximal del fémur, utilizando un densitómetro Hologic® QDR-4500 Discovery. Para calcular la T-score se aplicó la fórmula:

$$T\text{-score} = (\text{Valor observado} - \text{Valor del pico de DMO}) / \text{desviación típica del pico de DMO}.$$

Los valores del pico de DMO fueron los obtenidos como normales para la población canaria y previamente publicados^{349,350}. Se obtuvo un coeficiente de variación del $0,75 \pm 0,16\%$. Todas las determinaciones de la DMO fueron realizadas por el mismo técnico (JS).

III.2.2 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE ULTRASONOGRAFÍA

CUANTITATIVA (QUS)

La ultrasonografía cuantitativa (QUS) se realizó en calcáneo utilizando un ultrasonógrafo Sahara® Hologic. Los parámetros medidos mediante esta técnica fueron:

- La atenuación de la onda de ultrasonidos (BUA - *Broad-band Ultrasound Attenuation*)
- La velocidad de la onda (SOS - *Speed of Sound*)
- El índice cuantitativo ultrasonográfico (QUI - *Cuantitative Ultrasound Index*), también llamado *Stiffness*, que relaciona mediante un algoritmo los anteriores parámetros, BUA y SOS.

III.3 ESTUDIOS DE BIOQUÍMICOS

Se obtuvo sangre tras 12 h de ayuno y fue inmediatamente congelada a - 20° grados Celsius (°C). Se extrajo de esta muestra una alícuota de 200 microlitros (µl) para el estudio de ADN, que también fue congelada a - 80°C. La descripción de su manejo se describe más adelante.

Los parámetros bioquímicos fueron medidos por métodos estandarizados en el laboratorio de bioquímica clínica del Hospital Universitario Insular de Gran Canaria.

Los niveles séricos de vitamina D se midieron por inmunoquimioluminiscencia, mediante el método de Nichols (Nichols Institute Diagnostics, San Clemente, CA). Este tiene un coeficiente de variación intraensayo del 3,0-4,5% e interensayo del 7,1-10,0%. Los valores dados por el laboratorio como normales oscilan entre 10 y 68 nanogramos /ml (ng/ml).

Las concentraciones de parathormona (PTH) sérica para la molécula intacta se determinaron por inmunoquimioluminiscencia, mediante el método de Nichols Advantage. El rango de normalidad en los adultos oscila entre los 6 y los 40 pg/ml, con un coeficiente de variación interensayo del 7,0-9,2%.

La medición de los propéptidos de la fracción amino-terminal del colágeno tipo I y los beta-crosslaps en sangre se realizaron por técnicas previamente descritas^{351,352}.

Los restantes parámetros bioquímicos fueron determinados por técnicas colorimétricas.

III.4 ANÁLISIS DE LOS POLIMORFISMOS (CAG)_N Y (GGC)_N

La muestra utilizada fue la alícuota obtenida previamente en la extracción realizada para el estudio bioquímico y de marcadores de metabolismo óseo. Procedimos de la siguiente forma.

En primer lugar procedimos a la extracción de ADN a partir de 200 μ l de sangre usando el kit comercial PCR Template preparation (Roche Applied Science). Seguidamente amplificamos, mediante PCR los fragmentos de los genes del receptor de andrógenos donde se encuentran localizados los microsatélites (CAG)_n, (GGC)_n. Para esta amplificación usamos parejas de primers que habían sido empleadas con anterioridad en otros estudios^{353,355}.

La reacción de amplificación se llevó a cabo en un volumen final de 25 μ L, y conteniendo aproximadamente 60 ng de ADN, 200 μ M de cada dNTP, 1X Fast Start Taq DNA polymerase buffer (Roche Applied Science), 1X GC-rich buffer, 1 unidad de Fast Start Taq DNA polymerase, 2.5 mM MgCl₂, y 1.2 μ M de cada primer (un primer de cada pareja marcado con un fluorocromo).

Las condiciones bajo las que llevamos a cabo la amplificación fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 95 °C durante 5' seguido por 30 ciclos a 95 °C durante 45", 56 °C 30" y 72 °C 30" en el caso de (CAG)_n, y 30 ciclos a 95 °C durante 1', 55 °C 2' y 72 °C 2' para (GGC)_n. Finalizó con una extensión a 72 °C durante 7'. A continuación diluimos el producto de PCR 1:50-1:100 en agua destilada. Un microlitro de esta dilución se mezcló con 10 μ L de formamida y 0.3 μ L de GeneScan 500 LIZ Size Standard (Applied Biosystems). La mezcla se desnaturalizó a 95 °C durante 3' y se dejó enfriar en hielo. Separamos los fragmentos mediante electroforesis capilar usando el analizador ABI Prism 3100 (Applied Biosystems). El tamaño de los fragmentos fue estimado con ayuda del software Gene Scan Analysis V 3.7 (Applied Biosystems).

Posteriormente se procedió a la amplificación y secuenciación de estos microsatélites en 48 muestras para las que los fragmentos amplificados mostraron tamaños diferentes.

Las condiciones de amplificación fueron idénticas a las descritas anteriormente, a excepción de que los primers utilizados no estaban marcados con fluorocromos. Para la reacción de secuenciación empleamos el kit comercial Big Dye Terminator Sequencing V 3.1 (Applied Biosystems). La electroforesis capilar la llevamos a cabo en un secuenciador automático ABI Prism 3100.

Los resultados fueron analizados con el programa sequencing análisis 3.7 (Applied Biosystems).

A partir de los resultados obtenidos establecimos la correspondiente relación entre el tamaño de los fragmentos amplificados y el número de repeticiones para cada microsatélite.

Considerando esta relación estimamos en las restantes muestras el número de repeticiones de los microsatélites, asignándoles el alelo correspondiente.

III.5 ANÁLISIS DE DATOS

III.5.1 DISEÑO

Este estudio se diseñó como un estudio transversal en el que se incluyeron 371 personas de ambos sexos (51 varones y 320 mujeres). Los datos se analizaron separadamente para varones y mujeres. Fueron incluidos para el análisis aquellos sujetos que tenían determinaciones de repeticiones de CAG ó GGN.

III.5.2 DATOS ANALIZADOS

Recogimos datos sobre la edad, actividad física, condiciones socioeconómicas y residencia. A partir de las mediciones antropométricas calculamos el IMC, de la forma que quedó ya recogida. Registramos los valores de la analítica clínica de marcadores bioquímicos relacionados con la actividad metabólica ósea. Así mismo obtuvimos determinaciones de DXA en zona lumbar (L2-L4), cuello femoral, total de cadera, trocánter e intertrocánter. Igualmente, realizamos las determinaciones QUS: BUA (dB/MHz) y SOS (m/s) y finalmente, a partir de estas, calculamos el Qui-Stiffness mediante la expresión:

$$QUI = 0.41 \times (BUA + SOS) - 571$$

III.5.3 DEFINICIONES Y VALORES DE REFERENCIA PARA EL ANÁLISIS

Para la categorización de los casos y su inclusión en subgrupos utilizamos las definiciones de aquellos parámetros establecidas y aceptadas de forma general. Entre otras nos guiamos por las siguientes.

III.5.3.1 T-SCORES

Consisten en la estandarización de los marcadores DXA y QUS en relación con la desviación que presenta con respecto a la medición del pico de masas ósea de una población. Se utilizan las mismas para varones y mujeres. El cálculo se realiza, como ya se comentó, restando al valor observado el valor de pico de masa ósea y dividiéndolo por la desviación estándar. Se consideran criterios de osteoporosis valores menores de -2,5 DE (es decir valores que superan este valor). Sus determinaciones para mujeres se resumen en la tabla 3.

Tabla 3. Definiciones de los T-scores para los marcadores DXA y QUS

Determinación	Zona	T-score
DXA	L2-L4, g/cm ²	$(L2L4 - 1.040)/0.104$
	Cuello femoral, g/cm ²	$(Cuello - 0.840)/0.109$
	Total de cadera, g/cm ²	$(Cadera - 0.919)/0.097$
	Trocánter, g/cm ²	$(Trocánter - 0.668)/0.085$
	Intertrocánter, g/cm ²	$(Intertrocánter - 1.062)/0.116$
QUS	BUA, dB/MHz	$(BUA - 77.8)/15.9$
	SOS, m/s	$(SOS - 1568.8)/30.7$
	Qui-Stiffness	$(QUI - 103)/18.4$

III.5.3.2 OSTEOPOROSIS

Adoptamos la definición de la OMS de osteoporosis, a saber: un sujeto es osteoporótico si su T-score en L2-L4 ó en cuello femoral es inferior a -2.5.

III.5.3.3 POLIMORFISMOS CAG Y GGN

Dado que en los varones sólo existe una copia del AR, las variables CAG y GGN se corresponden con los números de repeticiones de los correspondientes aminoácidos (ó codones)³²⁸.

En las mujeres, sin embargo, al existir dos copias del gen AR, se ha determinado un valor $sCAG$ con el que se representa el mínimo de repeticiones del CAG entre ambas copias, mientras que $lCAG$ representa el máximo de ambas copias. De forma análoga se definen las variables $sGGN$ y $lGGN$ para las repeticiones del GGN. Proponemos resumir los valores $sCAG$ y $lCAG$ mediante combinaciones lineales convexas definidas por:

$$CAG_q = q \times sCAG + (1 - q) \times lCAG$$

donde $0 \leq q \leq 1$. Nótese que para $CAG_{q=1} = sCAG$, mientras que $CAG_{q=0} = lCAG$.

En orden a determinar en qué modo el vector $(sCAG, lCAG)$ se asociaba (pueda influir) sobre un determinado marcador DXA ó QUS, seleccionamos aquel valor de q que maximizó su asociación con la media ponderada CAG_q . Si el valor seleccionado fue nulo ó próximo a cero significaba que la copia del AR que influía era la que contenía la mayor cadena de réplicas. Recíprocamente, valores de q iguales a la unidad o próximos a ella indicaron que eran los de brazos cortos los que mantenían la asociación con el marcador considerado. Valores distantes de ambos extremos podrían interpretarse en el sentido que

en ocasiones habría sido el brazo largo el influyente, pero en otras, el corto. En la sección de los métodos estadísticos se concretará el modo de elección del parámetro q de ponderación.

III.5.3.4 CLASIFICACIÓN DE MUJERES BASADA EN LAS REPETICIONES

CAG EN LAS COPIAS DEL AR

De acuerdo con Yamada et al.³⁵⁶, definimos una cadena CAG como corta (S) ó larga (L) según el número de repeticiones fuera o no menor a 23. Ello dio lugar a la siguiente clasificación de mujeres, a saber: 122 mujeres con repeticiones cortas en ambas copias del AR (SS), 152 con una repetición corta en una copia del AR y larga en la otra copia (SL) y 44 con repeticiones largas en ambas copias (LL).

III.5.3.5 CLASIFICACIÓN DE MUJERES BASADA EN LAS REPETICIONES

GGN EN LAS COPIAS DEL RA

De igual forma, y de acuerdo a lo que se puede observar en la figura 1, definimos una cadena GGN como corta (S) ó larga (L) según el número de repeticiones fuera o no menor a 24. Ello dio lugar a la siguiente clasificación de mujeres, a saber: 152 mujeres con repeticiones cortas en ambas copias del AR (SS), 121 con una repeticiones cortas en una copia del AR y largas en la otra (SL) y 44 con repeticiones largas en ambas copias (LL).

III.5.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

III.5.4.1 ANÁLISIS UNIVARIADOS

Las variables categóricas se resumieron en frecuencias y porcentajes y las numéricas en medias y desviaciones estándar (SD) ó en medianas y rangos intercuartílicos (IQR) según se diesen o no los supuestos de normalidad.

Los porcentajes se compararon, según procediera, con el test de la χ^2 ó el test exacto de Fisher, las medias con el t-test y las medianas con el test de Wilcoxon para datos independientes.

III.5.4.2 CORRELACIONES

En orden a determinar las eventuales asociaciones entre las repeticiones CAG y GGN con los marcadores bioquímicos (especialmente aquellos relacionados con la formación destrucción de hueso) se realizaron diversos análisis de correlaciones³⁵⁷.

Para los varones se obtuvieron las correlaciones de cada uno de los referidos marcadores con las repeticiones CAG y GGN.

En el subgrupo de mujeres se obtuvieron por separado correlaciones de los marcadores las variables sCAG, ICAG y la media aritmética de ambas. Igualmente se realizó para GGN.

En todos los casos se utilizó el método de Spearman.

III.5.4.3 ASOCIACIÓN DE LOS MARCADORES BMD (DXA Y QUS) CON LAS VARIABLES CAG_q Y GGN_q Para cada uno de los marcadores DXA se consideró la familia de modelos aditivos (Hastie y Tibshirani, 1986)^{358,359}, los cuales dependen del coeficiente de ponderación q :

$$DMO = \mu + s_a(Edad) + s_b(IMC) + s_c(CAG_q) + e$$

donde supondremos que la variable de error e tiene esperanza cero. En general, las funciones s_a , s_b y s_c son funciones no lineales que se estimarán no paramétricamente a partir de los mínimos cuadrados penalizados. La solución a este problema conduce a splines-cúbicos. Los parámetros de suavizado se

elegirán mediante un método de validación cruzada. Para más detalles, ver Hastie *et al*, 2008, páginas 297-298.

Cada estimación proveerá un p-valor correspondiente al efecto de la variable CAG_q , el cual dependerá del coeficiente de ponderación q . De esta forma se dispondrá de una función de p-valores $pv(q)$. Finalmente elegiremos como coeficiente de ponderación aquel que satisface:

$$q_0 = \arg \min_q pv(q)$$

Los modelos aditivos obtenidos se resumirán mediante un panel de gráficos en el que se mostrarán las estimaciones de las referidas funciones s_a , s_b y s_c mediante intervalos de confianza al 95%.

III.5.4.4 MODELO LOGÍSTICO ADITIVO PARA LA OSTEOPOROSIS

En orden a determinar la eventual asociación entre la presencia de osteoporosis y las repeticiones CAG, ajustando por edad e IMC, consideramos la familia de modelos logísticos aditivos de la forma:

$$\text{logit}\{Pr(\text{osteoporosis})\} = \theta + s_a(\text{Edad}) + s_b(\text{IMC}) + s_c(CAG_q)$$

El valor de q se determinará como aquel que maximice la asociación con la probabilidad de osteoporosis. Para aquellos predictores (*Edad*, *IMC* y CAG_q) cuyo efecto sea lineal ($edf=1$), se estimarán las correspondientes odd-ratios mediante intervalos de confianza al 95%.

Un contraste de hipótesis se considerará estadísticamente significativo cuando el correspondiente p-valor sea menor o igual a 0.05.

Los datos se analizaron mediante el paquete R, versión 3.1.0 (R Development Core Team, 2014)³⁶⁰.

IV. RESULTADOS

IV. RESULTADOS

En este estudio transversal el análisis comparativo de las mediciones realizadas y cada uno de los parámetros característicos de los casos no ha mostrado diferencias significativas entre grupos. Sin embargo la búsqueda de asociaciones entre repeticiones de $(CAG)_n$ y $(GGN)_n$, con las mediciones de DMO, en el grupo de mujeres y dentro de ellas además en las postmenopáusicas, ha dado como resultado una correlación entre las repeticiones largas del primero y mayor DMO a nivel trocantereo, total de cadera e intertrocantereo. Así mismo, buscando probabilidad de osteoporosis en este grupo concreto se halló una asociación entre cadenas largas y menor probabilidad de la misma.

IV.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS CASOS

De la población recogida en este estudio, 51 fueron hombres, con edades entre los 33 y 74 años. Las mujeres fueron 320, de edades entre 45 y 75 años. De ellas 263 (82,2%) eran postmenopáusicas, mientras que 14 (4,4%) eran perimenopáusicas y el resto, 43 (13,4%), premenopáusicas. De las postmenopáusicas a tres les faltaba algún parámetro de medición por lo que fueron excluidas para el análisis de la relación de estos con los polimorfismos, quedando 126 (48,5%) que presentaban osteoporosis y 134 (51,5%) que no lo hacían.

Del estudio de los datos epidemiológicos recogidos, por sexos, se desprenden ligeras diferencias en algunos aspectos relacionados con características, hábitos y factores de riesgo. Excepto en cuatro de ellos en los que se observó diferencia significativa ($p < 0,05$), los restantes mostraban solamente pequeñas diferencias porcentuales, estadísticamente no significativas, como se puede ver en las tablas 4.1 a 4.3.

La edad resultó tener diferencia significativa entre hombres y mujeres, lo que se comprende por los intervalos antes referidos ($p < 0,01$).

En cuanto a la actividad física, hábito que tiene influencia sobre la osteoporosis, mostró cierta diferencia que llegó a ser significativa ($p=0,023$), vinculada a dos de sus aspectos. La actividad ligera fue un 71% superior en

hombres (39,2% vs 22,9%), mientras el sedentarismo lo fue en un 38% para mujeres (70,2% vs 51%), dando la impresión que respecto a este factor hay actitud más adecuada (protectora) por parte de los hombres.

En el consumo de alcohol el comportamiento y el resultado es el opuesto, y también muestra diferencias significativas ($p=0,025$). Mantienen los hombres este hábito un 52% más (60,8% vs 43,9%).

El tabaquismo sí arrojó poderosas diferencias, altamente significativas ($p<0,001$). Resulta curioso que casi el doble de hombres han tenido o mantienen el consumo (60,8% vs 33,1%) y concuerda con esto que resultan casi un 71% mayor de mujeres no fumadoras (66,9% vs 39,2%). Recordemos que el tabaco en consumo superior a 10 cigarrillos / día se considera un factor de riesgo de osteoporosis^{361,362}.

En cuanto a las caídas en el último año resulta llamativo, con alta significación ($p=0,014$), que superan ligeramente el doble en las mujeres que en los hombres (15,7% vs 32,7%).

Con las fracturas se aprecia que hay diferencia porcentual que no resulta estadísticamente significativa, y concretamente en cuanto a las no vertebrales en las que las mujeres superan el doble (21,2% vs 9,8%) de incidencia.

En los resultados de las analíticas obtenidas la comparación muestra diferencias estadísticamente significativas en algunos de los datos bioquímicos, de los de actividad de remodelado óseo y del metabolismo cálcico. En concreto hay diferencia entre sexos en el colesterol sérico total siendo algo superior a un 10% en mujeres ($p<0,001$). Con los parámetros de función renal, creatinina y ácido úrico, sin embargo, ocurrió a la inversa y estaban aumentados significativamente ($p<0,001$) en hombres. En cuanto a los marcadores de actividad de remodelado solo uno mostró diferencia y fue la fosfatasa ácida tartrato resistente (FATR), indicativa de actividad osteoclástica. Fue superior, fundamentalmente en el rango intercuartílico superior, además de forma significativa ($p=0,035$). De los parámetros de metabolismo cálcico solo la hormona paratiroidea mostró diferencia significativa ($p=0,028$), con valores superiores en mujeres incluso en ambos rangos intercuartílicos.

De las mediciones de densitometría, tanto por DXA como QUS cabe decir que concuerdan con lo esperable ya que todas son superiores en hombres, con valores de $p < 0,001$, excepto a nivel lumbar donde es de $p = 0,002$.

Finalmente, con respecto a los fármacos utilizados por los sujetos, solo los hipnóticos, mostraron diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, este grupo de fármacos no parece tener relación con la etiopatogenia de la osteoporosis, aunque sí con las caídas y con ellas con el riesgo de fractura.

Tabla 4.1 Descripción de la población total y según sexos

	Total n = 371	Hombres n = 51	Mujeres n = 320	P
Edad, años	58.8 ± 15.6	47.4 ± 16.2	60.6 ± 14.7	< .001
Índice de masa corporal, kg/m ² ,	26.9 ± 5.1	27.1 ± 5.2	26.8 ± 5.1	.717
Actividad física				.023
Sedentario	247 (67.5)	26 (51.0)	221 (70.2)	
Ligera	92 (25.1)	20 (39.2)	72 (22.9)	
Moderada	27 (7.4)	5 (9.8)	22 (7.0)	
Nivel socioeconómico				.092
Bajo	116 (32.2)	10 (20.0)	106 (34.2)	
Medio	172 (47.8)	26 (52.0)	146 (47.1)	
Alto	72 (20.0)	14 (28.0)	58 (18.7)	
Residencia				.937
Rural	84 (22.9)	11 (22.4)	73 (23.0)	
Urbana	283 (77.1)	38 (77.6)	245 (77.0)	
Postmenopausia	-	-	263 (82.2)	-
Consumo de café	297 (80.1)	41 (80.4)	256 (80.0)	.948
Consumo actual de alcohol	171 (46.2)	31 (60.8)	140 (43.9)	.025
Tabaquismo, n (%)				< .001
Fumador actual	71 (19.1)	14 (27.5)	57 (17.8)	
No fumador	234 (63.1)	20 (39.2)	214 (66.9)	
Ex – fumador	66 (17.8)	17 (33.3)	49 (15.3)	
Hipertensión arterial	134 (36.1)	15 (29.4)	119 (37.2)	.283
Diabetes mellitus, n (%)	43 (11.6)	9 (17.6)	34 (10.6)	.146
Cardiopatía isquémica	36 (9.7)	3 (5.9)	33 (10.3)	.447
Artritis reumatoide	8 (2.2)	1 (2.0)	7 (2.2)	1
Urolitiasis	49 (13.2)	7 (13.7)	42 (13.2)	.913
Caídas último año	111 (30.3)	8 (15.7)	103 (32.7)	.014
Fracturas				.137
No fracturas	254 (68.5)	38 (74.5)	216 (67.5)	
Sólo no vertebrales	73 (19.7)	5 (9.8)	68 (21.2)	
Vertebrales	36 (11.2)	8 (15.7)	36 (11.2)	

Los datos son medias ± SD, medianas (IQR), frecuencias (%).

Tabla 4.2 Descripción de la población total y según sexos (continuación)

	Total n = 371	Hombres n = 51	Mujeres n = 320	P
Colesterol sérico total, mg/dL	215.5 ± 43.2	195.4 ± 47.3	218.7 ± 41.6	< .001
Colesterol LDL, mg/dL	132.9 ± 38.2	120.5 ± 34.2	134.7 ± 38.5	.020
Bajo HDL, mg/dL	76 (20.6)	15 (29.4)	61 (19.2)	.094
Triglicéridos, mg/dL	101 (76 ; 141)	104 (81 ; 161)	100 (76 ; 139)	.132
Glucemia, mg/dL	94 (88 ; 102)	93 (87 ; 105)	94 (88 ; 102)	.748
Urea, mg/dL	34 (28 ; 41)	32 (26 ; 40)	34 (28 ; 41)	.382
Creatinina, mg/dL	0.89 (0.8 ; 1)	1.1 (0.90 ; 1.1)	0.9 (0.79 ; 1)	< .001
Ácido úrico, mg/dL	4.3 (3.6 ; 5.2)	5.3 (4.9 ; 6.3)	4.1 (3.5 ; 5.0)	< .001
Calcio, mg/dL	9.8 (9.5 ; 10.2)	10 (9.4 ; 10.4)	9.8 (9.5 ; 10.1)	.113
Fósforo sérico, mg/dL	3.5 (3.1 ; 3.8)	3.3 (2.9 ; 3.7)	3.6 (3.1 ; 3.9)	.067
Fosfatasa alcalina, U/L	82.5 (68 ; 103.2)	81.5 (67.4 ; 111.8)	82.5 (68.0 ; 98.8)	.933
Fosfatasa ácida tartrato resistente, U/L	2.4 (2.1 ; 2.8)	2.2 (2.0 ; 2.4)	2.4 (2.1 ; 2.8)	.035
Proteínas totales, g/dL	7.2 (6.9 ; 7.5)	7.4 (7.0 ; 7.7)	7.2 (6.9 ; 7.5)	.057
TSH, mUI/L	1.80 (1.23 ; 2.33)	1.80 (1.35 ; 2.20)	1.80 (1.22 ; 2.40)	.721
25-HCC, ng/mL	22 (16 ; 28)	22 (18 ; 26)	22 (16 ; 28)	.802
Osteocalcina, ng/mL	18.8 (11.4 ; 27.2)	18.5 (11.0 ; 26.7)	18.8 (11.5 ; 27.2)	.889
Beta-CrossLaps, ng/mL	0.38 (0.23 ; 0.58)	0.40 (0.22 ; 0.50)	0.40 (0.23 ; 0.60)	.967
Hormona paratiroidea, pg/mL	44.6 (32.4 ; 61.3)	39.9 (28.4 ; 49.5)	45.9 (33.0 ; 63.7)	.028
PINP procolágeno, ng/mL	42.1 (26.0 ; 58.5)	46.6 (25.4 ; 63.9)	41.8 (26.2 ; 58.2)	.589
L2-L4, g/cm ²	0.866 ± 0.198	0.939 ± 0.189	0.854 ± 0.177	.002
Cuello femoral, g/cm ²	0.698 ± 0.147	0.803 ± 0.174	0.681 ± 0.135	< .001
Total de cadera, g/cm ²	0.815 ± 0.172	0.941 ± 0.203	0.795 ± 0.157	< .001
Trocánter, g/cm ²	0.610 ± 0.137	0.711 ± 0.156	0.593 ± 0.126	< .001
Intertrocánter, g/cm ²	0.953 ± 0.197	1.090 ± 0.232	0.931 ± 0.182	< .001
BUA, dB/MHz *	63.2 ± 19.9	76.8 ± 19.2	61.0 ± 19.2	< .001
SOS, m/s *	1530 ± 32.6	1548 ± 30.3	1527 ± 32.0	< .001
Qui-Stiffness *	82.3 ± 21.5	94.7 ± 20.1	80.3 ± 21.0	< .001

Los datos son medias ± SD, medianas (IQR), frecuencias (%).

(*) Las determinaciones QUS

Tabla 4.3 Tratamientos

	Total n = 371	Hombres n = 51	Mujeres n = 320	P
Tiazidas				1
Ahora	38 (10.3)	5 (9.8)	33 (10.3)	
Alguna vez	16 (4.3)	2 (3.9)	14 (4.4)	
Nunca	316 (85.4)	44 (86.3)	272 (85.3)	
Estatinas				.512
Ahora	99 (26.8)	13 (25.5)	86 (27.0)	
Alguna vez	21 (5.7)	1 (2.0)	20 (6.3)	
Nunca	250 (67.6)	37 (72.5)	213 (66.8)	
Beta-bloqueantes				.805
Ahora	28 (7.6)	3 (5.9)	25 (7.9)	
Alguna vez	13 (3.5)	1 (2.0)	12 (3.8)	
Nunca	326 (88.8)	47 (92.2)	279 (88.3)	
Esteroides orales				.808
Ahora	16 (4.3)	2 (3.9)	14 (4.4)	
Alguna vez	23 (6.2)	4 (7.8)	19 (6.0)	
Nunca	331 (89.5)	45 (88.2)	286 (89.7)	
Esteroides inhalados				.161
Ahora	5 (1.3)	2 (3.9)	3 (0.9)	
Alguna vez	12 (3.2)	2 (3.9)	10 (3.1)	
Nunca	353 (95.5)	47 (92.2)	306 (95.9)	
Sintrom				.882
Ahora	13 (3.5)	2 (4.0)	11 (3.4)	
Alguna vez	9 (2.4)	1 (2.0)	8 (2.5)	
Nunca	347 (94.1)	47 (94.0)	300 (94.0)	
Hipnóticos				< .001
Ahora	169 (45.9)	12 (24.0)	157 (49.4)	
Alguna vez	112 (30.4)	17 (34.0)	95 (29.9)	
Nunca	87 (23.6)	21 (42.0)	66 (20.8)	

Los datos son frecuencias (%)

IV.2 DISTRIBUCIÓN ALÉLICA PARA LOS MICROSATÉLITES (CAG)_N Y (GGN)_N

Dado que en los hombres sólo existe un cromosoma X, y por tanto una única copia del AR, las variables (CAG)_n y (GGN)_n se corresponden con los números de repeticiones de los correspondientes aminoácidos (ó codones), directamente. Sin embargo, en las mujeres hay dos cromosomas, de los cuales posteriormente se inactiva uno aleatoriamente en cada célula. Así en cada mujer encontramos dos posibles copias del gen AR, con dos posibles longitudes de repetición o polimorfismos del AR. Considerando esto podemos ver en la figura 20 la distribución que hemos obtenido de la medición realizada en nuestro estudio.

Se obtuvieron datos genotípicos, válidos para el estudio, de 371 casos (51 hombres y 320 mujeres), hallándose, conjuntamente, 22 alelos de longitudes comprendidas entre las 10 y 33 repeticiones para (CAG)_n. El alelo con mayor frecuencia de presentación fue el de 19 repeticiones, seguido por los de 21 y 24. La distribución del alelo (CAG)_n se ajusta a una distribución normal.

Para (GGN)_n el número de alelos fue de 18, con longitudes entre 12 y 30 repeticiones. El de mayor frecuencia fue el de 23 seguido del de 24. En este caso, la distribución del alelo (GGN)_n no se ajustó a una distribución normal.

Respecto a esta distribución cabe señalar que destaca la amplitud de variabilidad en longitudes de las repeticiones (CAG)_n frente a la limitación de las mismas en el caso de las (GGN)_n, lo que después veremos tiene una importancia sobre la asociación de la variabilidad y la DMO.

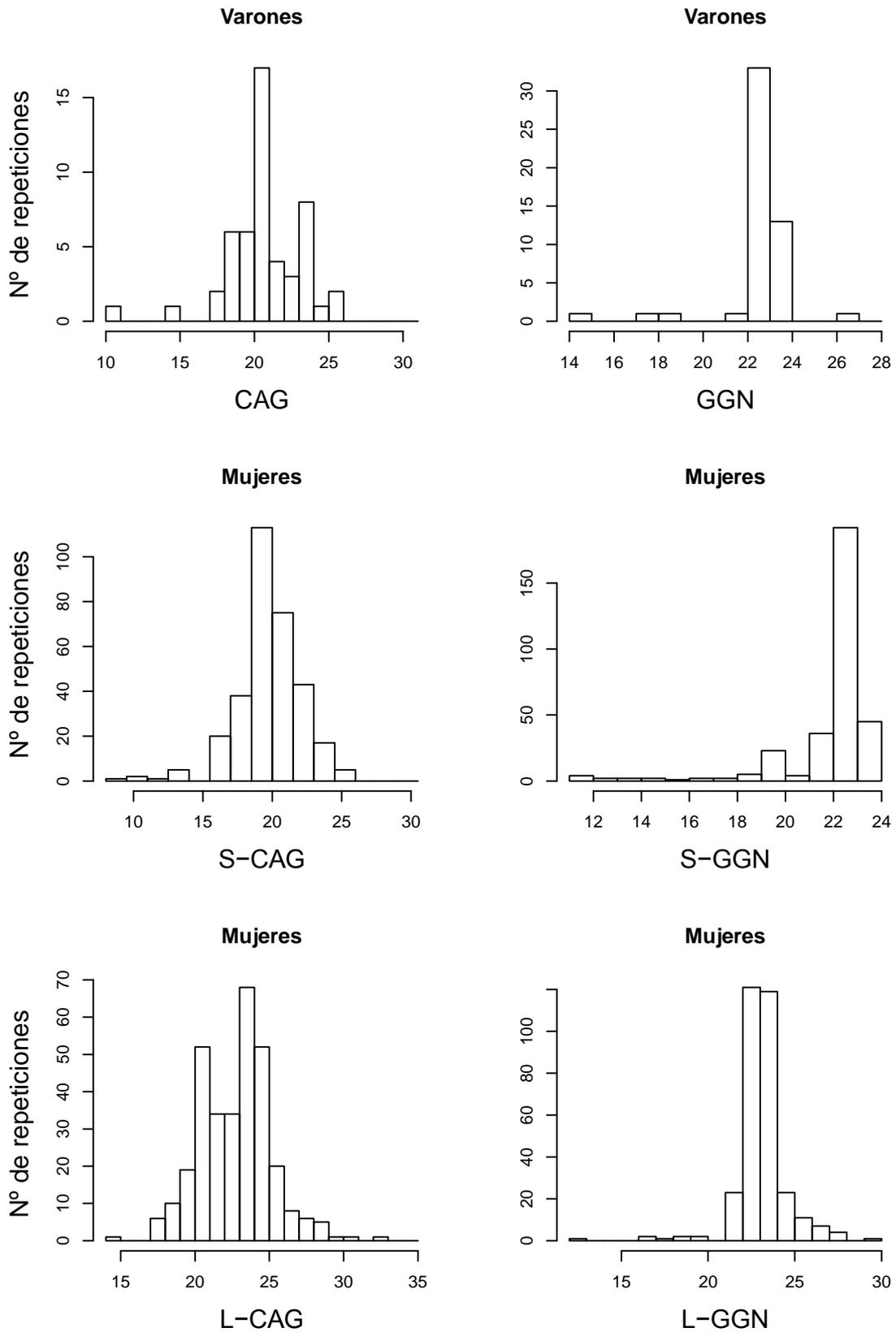


Figura 20. Distribución de las repeticiones $(CAG)_n$ y $(GGN)_n$ según sexos. Esta representación sugiere analizar las repeticiones $(CAG)_n$ en escala original y categorizar las $(GGN)_n$.

Los hombres presentaron 11 alelos diferentes para $(CAG)_n$ y 7 para $(GGN)_n$. De los primeros el más frecuente fue el de 21 repeticiones seguido del de 24, 18 y 19 y de los segundos el de 23 seguido del de 24.

Las mujeres presentaron para ambos tipos de microsatélites, tanto de $(CAG)_n$ como de $(GGN)_n$, también 11 variaciones, pero, por la condición reseñada anteriormente de poseer 2 tipos de alelos, además con posible diferencia en número de repeticiones.

En el primer análisis realizado, siguiendo el trabajo de Yamada et al. (2005)³⁶³ en el que evalúan la asociación entre repeticiones de $(CAG)_n$ y osteoporosis y siguiendo además la distribución encontrada en nuestro trabajo para $(CAG)_n$ en las mujeres, hemos considerado dos categorías de alelos. Definimos una cadena $(CAG)_n$ como corta (S) ó larga (L) según el número de repeticiones fuera o no menor a 23. Ello dio lugar a tres posibles combinaciones de longitudes y la siguiente distribución de las mujeres: 122 mujeres con repeticiones cortas en ambas copias del AR (SS), 152 con una repetición corta en una copia y larga en la otra (SL) y 44 con repeticiones largas en ambas copias, lo que se aprecia en la tabla 5.1.

Para las repeticiones del $(GGN)_n$ definimos la longitud según la media de la distribución de la frecuencia de las repeticiones que encontramos, y que se encuentra en la fig. 20. De acuerdo a esto definimos una cadena $(GGN)_n$ como corta (S) ó larga (L) según el número de repeticiones sea o no menor a 24. La distribución de las mujeres obtenida fue la siguiente: 152 mujeres con repeticiones cortas en ambas copias del AR (SS), 121 con una corta en una y larga en la otra (SL) y 44 largas en ambas copias. Tabla 5.1 y 5.2.

Tabla 5.1. Subgrupo de mujeres: clasificación según las longitudes de las repeticiones (CAG)_n

	SS N = 122	SL N = 152	LL N = 44	P
Edad, años	59.2 ± 15.0	60.8 ± 15.2	64.0 ± 11.9	.183
Índice de masa corporal, kg/m ² ,	26.9 ± 4.7	26.6 ± 5.2	27.7 ± 5.2	.451
Postmenopáusicas	100 (82.0)	124 (81.6)	37 (84.1)	.929
Calcio, mg/dL	9.8 (9.4 ; 10.1)	9.8 (9.5 ; 10.1)	9.8 (9.5 ; 10.1)	.951
Fósforo sérico, mg/dL	3.6 (3.1 ; 3.9)	3.5 ; 3.1 ; 3.8)	3.6 (3.2 ; 3.9)	.577
Fosfatasa alcalina, U/L	84 (66 ; 105)	80 (68 ; 96)	86 (78 ; 104)	.827
Fosfatasa ácida tartrato resistente, U/L	2.4 (2.1 ; 2.6)	2.4 (2.1 ; 2.9)	2.5 (2.1 ; 3.0)	.094
Proteínas totales, g/dL	7.1 (6.9 ; 7.4)	7.3 (6.9 ; 7.5)	7.2 (6.2 ; 7.6)	.328
TSH, mUI/L	1.9 (1.2 ; 2.3)	1.8 (1.2 ; 2.7)	1.8 (1.3 ; 2.3)	.936
25-HCC, ng/mL	20.9 (16.0 ; 26.9)	22.0 (16.0 ; 29.0)	23.1 (16.0 ; 29.3)	.750
Osteocalcina, ng/mL	19.0 (9.9 ; 26.0)	18.9 (12.9 ; 27.9)	17.9 (11.4 ; 25.6)	.656
Beta-CrossLaps, ng/mL	0.4 (0.23 ; 0.50)	0.4 (0.24 ; 0.6)	0.3 (0.25 ; 0.6)	.840
PTH, pg/mL	40.8 (30.7 ; 60.8)	47.1 (36.0 ; 66.5)	46.6 (34.5 ; 68.4)	.117
PINP procolágeno, ng/mL	42.6 (25.5 ; 58.5)	41.5 (31.1 ; 57.6)	38.4 (22.6 ; 51.9)	.666
L2-L4, g/cm ²	0.844 ± 0.166	0.861 ± 0.188	0.860 ± 0.167	.731
Cuello femoral, g/cm ²	0.681 ± 0.123	0.685 ± 0.148	0.666 ± 0.123	.713
Total de cadera, g/cm ²	0.791 ± 0.158	0.800 ± 0.165	0.786 ± 0.122	.847
Trocánter, g/cm ²	0.587 ± 0.127	0.597 ± 0.131	0.594 ± 0.109	.828
Intertrocánter, g/cm ²	0.925 ± 0.166	0.937 ± 0.201	0.925 ± 0.151	.856
Bua, dB/MHz	61.4 ± 17.1	62.0 ± 19.9	59.5 ± 15.8	.805
SOS, m/s	1528 ± 32.2	1527 ± 32.9	1522 ± 27.6	.608
Qui-Stiffness	81.9 ± 22.1	79.9 ± 21.1	77.2 ± 17.5	.564
Caídas en el último año	35 (28.7)	49 (33.1)	19 (44.2)	.177
Fracturas				.530
No fracturas	79 (64.8)	106 (69.7)	29 (65.9)	
Sólo no vertebrales	29 (32.8)	27 (17.8)	12 (27.3)	
Vertebrales	14 (11.5)	19 (12.5)	3 (6.8)	

Longitud de las repeticiones (CAG)_n: SS = Ambas copias < 23; SL = sólo una copia < 23; LL = Ambas copias ≥ 23. Los datos son medias ± SD, medianas (IQR), frecuencias (%).

Tabla 5.2. Subgrupo de mujeres: clasificación según las longitudes de las repeticiones (GGN)_n

	SS N = 152	SL N = 121	LL N = 44	P
Edad, años	60.5 ± 14.8	60.4 ± 14.2	62.6 ± 15.2	.663
Índice de masa corporal, kg/m ² ,	26.5 ± 4.9	27.0 ± 5.1	27.6 ± 5.6	.418
Postmenopáusicas	125 (82.2)	97 (80.2)	39 (88.6)	.451
Calcio, mg/dL	9.8 (9.5 ; 10.1)	9.8 (9.4 ; 10.2)	9.8 (9.3 ; 10.1)	.931
Fósforo sérico, mg/dL	3.6 (3.2 ; 3.9)	3.5 (3.1 ; 3.8)	3.5 (3.0 ; 3.7)	.061
Fosfatasa alcalina, U/L	81.4 (64.0 ; 103)	86.0 (73 ; 103.5)	82.0 (69.5 ; 94.0)	.726
Fosfatasa ácida tartrato resistente, U/L	2.3 (2.1 ; 2.6)	2.5 (2.1 ; 3.0)	2.4 (2.1 ; 2.8)	.057
Proteínas totales, g/dL	7.2 (6.9 ; 7.5)	7.2 (6.9 ; 7.5)	7.1 (6.9 ; 7.4)	.496
TSH, mUI/L	1.9 (1.2 ; 2.6)	1.6 (1.2 ; 2.3)	2.1 (1.2 ; 2.4)	.323
25-HCC, ng/mL	22.1 (16.0 ; 29.4)	21.0 (16.0 ; 26.6)	20.9 (16.0 ; 26.2)	.560
Osteocalcina, ng/mL	19.2 (12.0 ; 27.8)	18.7 (11.8 ; 27.1)	17.0 (8.3 ; 23.1)	.393
Beta-CrossLaps, ng/mL	0.4 (0.22 ; 0.6)	0.4 (0.26 ; 0.6)	0.3 (0.23 ; 0.5)	.690
PTH, pg/mL	45.3 (32.2 ; 62.5)	47.0 (30.8 ; 64.2)	43.7 (33.5 ; 78.0)	.711
PINP procolágeno, ng/mL	40.5 (29.0 ; 56.9)	43.8 (26.3 ; 58.7)	42.1 (21.0 ; 57.2)	.766
L2-L4, g/cm ²	0.850 ± 0.166	0.858 ± 0.192	0.855 ± 0.169	.926
Cuello femoral, g/cm ²	0.671 ± 0.131	0.693 ± 0.144	0.677 ± 0.129	.411
Total de cadera, g/cm ²	0.790 ± 0.160	0.799 ± 0.158	0.796 ± 0.146	.912
Trocánter, g/cm ²	0.593 ± 0.127	0.592 ± 0.131	0.592 ± 0.108	.995
Intertrocánter, g/cm ²	0.925 ± 0.176	0.935 ± 0.190	0.936 ± 0.180	.882
Bua, dB/MHz	62.3 ± 19.3	62.2 ± 18.5	56.1 ± 13.4	.239
SOS, m/s	1526 ± 32.6	1529 ± 31.4	1520 ± 31.0	.373
Qui-Stiffness	80.0 ± 22.6	81.1 ± 20.0	75.1 ± 17.5	.363
Caídas en el último año	56 (37.6)	38 (31.7)	9 (20.9)	.114
Fracturas				.741
No fracturas	104 (68.4)	81 (66.9)	28 (63.6)	
Sólo no vertebrales	29 (19.1)	29 (24.0)	10 (22.7)	
Vertebrales	19 (12.5)	11 (9.1)	6 (13.6)	

Longitud de las repeticiones (CAG)_n: SS = Ambas copias < 24; SL = sólo una copia < 24; LL = Ambas copias ≥ 24. Los datos son medias ± SD, medianas (IQR), frecuencias (%).

Tabla 5.3. Subgrupo de hombres: clasificación según las longitudes de las repeticiones (CAG)_n

	Número de repeticiones CAG		P
	≤ 22 (corto) N = 37	≥ 23 (largo) N = 14	
Edad, años	49.1 ± 16.3	43.0 ± 15.6	.235
Índice de masa corporal, kg/m ² ,	27.0 ± 5.2	27.3 ± 5.6	.862
Calcio, mg/dL	9.9 (9.4 ; 10.2)	10.1 (9.7 ; 10.5)	.285
Fósforo sérico, mg/dL	3.2 (2.8 ; 3.8)	3.4 (3.0 ; 3.7)	.727
Fosfatasa alcalina, U/L	82.0 (52.7 ; 112)	79.5 (70.4 ; 127)	.733
Fosfatasa ácida tartrato resistente, U/L	2.3 (2.1 ; 2.6)	2.0 (1.7 ; 2.3)	.028
Proteínas totales, g/dL	7.4 (7.0 ; 7.7)	7.3 (7.1 ; 7.7)	.931
TSH, mUI/L	1.7 (1.3 ; 2.2)	1.8 (1.3 ; 2.1)	.602
25-HCC, ng/mL	22.0 (18.4 ; 24.3)	22.6 (16.2 ; 26.8)	.965
Osteocalcina, ng/mL	18.5 (11.6 ; 27.3)	18.2 (10.4 ; 25.7)	.631
Beta-CrossLaps, ng/mL	0.4 (0.23 ; 0.5)	0.3 (0.22 ; 0.7)	.922
PTH, pg/mL	43.0 (30.6 ; 53.6)	38.1 (22.2 ; 45.7)	.184
PINP procolágeno, ng/mL	46.6 (24.7 ; 63.7)	44.0 (27.1 ; 67.3)	.858
L2-L4, g/cm ²	0.927 ± 0.194	0.970 ± 0.180	.473
Cuello femoral, g/cm ²	0.784 ± 0.176	0.852 ± 0.167	.220
Total de cadera, g/cm ²	0.931 ± 0.202	0.969 ± 0.210	.563
Trocánter, g/cm ²	0.702 ± 0.152	0.735 ± 0.169	.513
Intertrocánter, g/cm ²	1.083 ± 0.235	1.107 ± 0.233	.758
Bua, dB/MHz	74.9 ± 19.8	82.2 ± 17.1	.306
SOS, m/s	1547 ± 29.1	1553 ± 34.7	.587
Qui-Stiffness	93.9 ± 19.5	96.9 ± 22.8	.690
Caídas en el último año	6 (16.2)	2 (14.3)	1
Fracturas			.436
No fracturas	26 (70.3)	12 (85.7)	
Sólo no vertebrales	5 (13.5)	0	
Vertebrales	6 (16.2)	2 (14.3)	

Los datos son medias ± SD, medianas (IQR), frecuencias (%).

Tabla 5.4. Subgrupo de hombres: clasificación según las longitudes de las repeticiones (GGN)_n

	Número de repeticiones GGN		P
	< 24 (corto) N = 37	≥ 24 (largo) N = 14	
Edad, años	46.3 ± 16.8	50.2 ± 14.5	.455
Índice de masa corporal, kg/m ² ,	27.7 ± 5.0	25.6 ± 5.7	.221
Calcio, mg/dL	10.0 (9.7 ; 10.5)	9.9 (9.3 ; 10.1)	.258
Fósforo sérico, mg/dL	3.2 (2.7 ; 3.7)	3.7 (3.1 ; 3.9)	.088
Fosfatasa alcalina, U/L	69.9 (62.2 ; 101)	98.0 (78.2 ; 112)	.573
Fosfatasa ácida tartrato resistente, U/L	2.1 (1.9 ; 2.4)	2.4 (2.1 ; 3.3)	.070
Proteínas totales, g/dL	7.4 (7.0 ; 7.7)	7.4 (7.0 ; 7.6)	.938
TSH, mUI/L	1.6 (1.2 ; 2.1)	1.9 (1.7 ; 2.3)	.094
25-HCC, ng/mL	22 (18.1 ; 24.8)	22 (17 ; 27)	.973
Osteocalcina, ng/mL	19.5 (13.0 ; 28.9)	14.0 (8.6 ; 22.2)	.146
Beta-CrossLaps, ng/mL	0.4 (0.24 ; 0.5)	0.3 (0.22 ; 0.5)	.811
PTH, pg/mL	41.8 (28.0 ; 56.1)	32.0 (30.4 ; 44.2)	.130
PINP procolágeno, ng/mL	47.7 (25.4 ; 64.4)	43.3 (20.0 ; 52.5)	.792
L2-L4, g/cm ²	0.949 ± 0.195	0.911 ± 0.178	.532
Cuello femoral, g/cm ²	0.823 ± 0.176	0.748 ± 0.163	.176
Total de cadera, g/cm ²	0.963 ± 0.206	0.884 ± 0.189	.213
Trocánter, g/cm ²	0.725 ± 0.158	0.674 ± 0.148	.300
Intertrocánter, g/cm ²	1.115 ± 0.240	1.022 ± 0.205	.204
Bua, dB/MHz	76.7 ± 20.8	77.4 ± 9.95	.929
SOS, m/s	1550 ± 32.1	1543 ± 21.7	.584
Qui-Stiffness	95.8 ± 21.2	90.1 ± 14.4	.507
Caídas en el último año	8 (21.6)	0	.088
Fracturas			.513
No fracturas	27 (73.0)	11 (78.6)	
Sólo no vertebrales	3 (8.1)	2 (14.3)	
Vertebrales	7 (18.9)	1 (7.1)	

Los datos son medias ± SD, medianas (IQR), frecuencias (%).

Según estos criterios anteriores los hombres también fueron clasificados en una u otra categoría, atendiendo al número de repeticiones en ambos alelos. Fueron 40 los que presentaron cadenas cortas de $(CAG)_n$ y 11 largas, mientras 37 mostraron cadenas cortas y 14 largas para $(GGN)_n$, tal como se ve en las tablas 5.3 y 5.4.

Tanto en el grupo de mujeres como en el de hombres no destacan diferencias significativas en ninguno de las variables consideradas en relación con la longitud de las diferentes cadenas. No parece sostenerse ninguna asociación a tenor de los datos reflejados en las cuatro tablas anteriores con la metodología aplicada de considerar cada una de las repeticiones $(CAG)_n$ o $(GGN)_n$ por separado, y categorizar la longitud de los tractos acorde a la media de la distribución de cada uno las repeticiones en la población estudiada³⁵⁶.

IV.3 ANÁLISIS DE LA INFLUENCIA DE LOS ALELOS $(CAG)_N$ Y $(GGN)_N$ DEL GEN DEL RECEPTOR ANDROGÉNICO PRESENTES EN CADA INDIVIDUO CON VARIABLES RELEVANTES EN OSTEOPOROSIS

En orden a determinar la influencia de las eventuales asociaciones entre las longitudes de las repeticiones $(CAG)_n$ y $(GGN)_n$ presentes en el gen del AR en cada individuo con la edad, IMC, los marcadores bioquímicos (especialmente aquellos relacionados con la formación y destrucción de hueso) y las mediciones de DMO, se realizaron diversos análisis de correlaciones.

Para los hombres se obtuvieron las correlaciones de cada uno de los referidos marcadores con ambas repeticiones $(CAG)_n$ y $(GGN)_n$. En el subgrupo de mujeres se obtuvieron por separado correlaciones de los marcadores con las variables $sCAG$, $ICAG$ y la media aritmética de ambas.

En todos los casos se utilizó el método de Spearman y los resultados pueden verse para mujeres en las tablas 6.1 a 6.3. Se puede apreciar en estas que, aunque mayoritariamente no se hallaron correlaciones significativas, algunas variables si las presentaron. En el caso de las mujeres y las $ICAG$ con la DXA de trocánter mostró tendencia a la significancia ($p=0,073$). Con las $sGGN$ hubo

dos variables con correlación significativa y una tercera con tendencia a ella. Las dos primeras fueron la Osteocalcina ($p=0,015$) y el PINP procolágeno ($p=0,047$) y la tercera el BUA ($p=0,079$). Las /GGN si mostraron una correlación con alta significación ($p=0,014$). En el caso de las repeticiones medias de las mujeres hubo una única correlación con tendencia a la significación. Curiosamente coincide con las CAG y la DXA de trocánter ($p=0,073$).

Para los hombres los datos se recogen en la tabla 6.4. Solo aparece un dato con significación ($p=0,037$) y correlaciona el ácido úrico con el GGN. Hay cuatro variables más que presentan tendencia a la significación, las tres primeras con el CAG y son Colesterol-HDL ($p=0,086$), Urea ($p=0,084$) y FATR ($p=0,077$).

Tabla 6.1. Correlaciones de Spearman entre las repeticiones (CAG)_n y los marcadores (**mujeres**)

	S-CAG		L-CAG	
	Correlación	P	Correlación	P
IMC	0.025	0.651	-0.033	0.563
Glucemia	0.077	0.168	0.024	0.665
Colesterol total	0.055	0.326	-0.043	0.451
Colesterol-LDL	0.053	0.360	-0.050	0.383
Triglicéridos	0.003	0.957	-0.034	0.544
Colesterol-HDL	0.046	0.413	0.043	0.448
Urea	0.002	0.978	0.004	0.940
Creatinina	0.016	0.778	-0.009	0.870
Ácido úrico	-0.037	0.507	-0.019	0.740
Calcio	0.047	0.400	-0.040	0.478
Fósforo	0.093	0.100	0.028	0.615
Fosfatasa alcalina	0.159	0.117	-0.016	0.878
Fosfatasa ácida tartrato resistente	0.031	0.594	0.054	0.350
Proteínas totales	0.062	0.268	0.078	0.165
TSH	-0.030	0.600	-0.030	0.609
25-HCC	0.023	0.702	0.032	0.599
Osteocalcina	0.035	0.543	0.044	0.439
Beta-crosslaps	0.037	0.549	0.020	0.752
PTH	0.039	0.491	0.068	0.235
PINP procolágeno	-0.026	0.698	-0.021	0.761
L2-L4	0.027	0.637	0.059	0.297
Cuello femoral	-0.002	0.976	0.029	0.610
Total de cadera	0.030	0.594	0.082	0.148
Trocánter	0.047	0.406	0.101	0.073
Intertrocánter	0.022	0.698	0.071	0.215
Bua	0.057	0.386	0.052	0.431
SOS	0.057	0.386	0.017	0.798
Qui-Stiffness	0.053	0.426	0.007	0.916

Tabla 6.2. Correlaciones de Spearman entre las repeticiones (GGN)_n y los marcadores (**mujeres**)

	S-GGN		L-GGN	
	Correlación	P	Correlación	P
IMC	0.089	0.113	0.075	0.182
Glucemia	-0.084	0.134	-0.008	0.882
Colesterol total	0.051	0.365	-0.017	0.767
Colesterol-LDL	0.018	0.758	-0.025	0.664
Triglicéridos	0.015	0.784	-0.029	0.613
Colesterol-HDL	0.016	0.778	-0.014	0.800
Urea	0.001	0.991	-0.084	0.139
Creatinina	0.012	0.826	-0.053	0.352
Ácido úrico	-0.004	0.944	-0.061	0.281
Calcio	-0.018	0.748	-0.010	0.863
Fósforo	-0.069	0.222	-0.085	0.133
Fosfatasa alcalina	-0.128	0.209	-0.015	0.883
Fosfatasa ácida tartrato resistente	-0.057	0.321	0.141	0.014
Proteínas totales	-0.089	0.113	-0.042	0.454
TSH	0.123	0.034	0.033	0.567
25-HCC	-0.004	0.947	-0.080	0.186
Osteocalcina	-0.138	0.015	-0.083	0.146
Beta-crosslaps	-0.106	0.089	-0.001	0.984
PTH	0.023	0.683	-0.011	0.842
PINP procolágeno	-0.134	0.047	-0.061	0.371
L2-L4	0.007	0.908	0.040	0.483
Cuello femoral	0.002	0.974	0.088	0.119
Total de cadera	-0.030	0.599	0.054	0.343
Trocanter	-0.022	0.696	0.007	0.903
Intertrocanter	-0.037	0.511	0.053	0.353
Bua	-0.116	0.079	-0.071	0.287
SOS	-0.068	0.302	0.007	0.911
Qui-Stiffness	-0.087	0.186	-0.024	0.720

Tabla 6.3. Correlaciones de Spearman entre las repeticiones medias (CAG)_n y (GGN)_n y los marcadores (mujeres)

	CAG		GGN	
	Correlación	P	Correlación	P
IMC	-0.015	0.797	0.078	0.166
Glucemia	0.049	0.382	-0.060	0.289
Colesterol total	0.003	0.959	-0.005	0.934
Colesterol-LDL	0.001	0.987	-0.027	0.639
Triglicéridos	-0.028	0.617	-0.004	0.941
Colesterol-HDL	0.061	0.280	-0.009	0.878
Urea	0.000	0.998	-0.030	0.591
Creatinina	-0.008	0.887	-0.029	0.605
Ácido úrico	-0.047	0.403	-0.036	0.530
Calcio	0.003	0.961	0.001	0.982
Fósforo	0.073	0.199	-0.071	0.211
Fosfatasa alcalina	0.069	0.502	-0.101	0.324
Fosfatasa ácida tartrato resistente	0.048	0.405	0.072	0.213
Proteínas totales	0.084	0.137	-0.067	0.237
TSH	-0.027	0.648	0.089	0.125
25-HCC	0.045	0.454	-0.050	0.405
Osteocalcina	0.059	0.301	-0.096	0.093
Beta-crosslaps	0.045	0.475	-0.016	0.799
PTH	0.066	0.245	0.028	0.627
PINP procolágeno	-0.025	0.709	-0.048	0.483
L2-L4	0.052	0.357	0.034	0.543
Cuello femoral	0.029	0.610	0.055	0.331
Total de cadera	0.075	0.183	0.015	0.787
Trocanter	0.101	0.073	-0.012	0.835
Intertrocanter	0.061	0.286	0.012	0.839
Bua	0.073	0.268	-0.094	0.157
SOS	0.047	0.482	-0.017	0.794
Qui-Stiffness	0.041	0.538	-0.048	0.473

Tabla 6.4. Correlaciones de Spearman entre las repeticiones (CAG)_n y (GGN)_n y los marcadores (hombres)

	CAG		GGN	
	Correlación	P	Correlación	P
IMC	-0.006	0.967	-0.081	0.571
Glucemia	-0.102	0.479	0.079	0.586
Colesterol total	0.180	0.206	-0.053	0.712
Colesterol-LDL	-0.049	0.751	0.081	0.599
Triglicéridos	0.049	0.731	-0.142	0.322
Colesterol-HDL	0.243	0.086	-0.138	0.335
Urea	-0.245	0.084	0.089	0.536
Creatinina	0.048	0.736	-0.050	0.727
Ácido úrico	0.036	0.805	-0.293	0.037
Calcio	0.229	0.107	-0.231	0.103
Fósforo	0.021	0.883	0.257	0.069
Fosfatasa alcalina	-0.174	0.552	0.084	0.776
Fosfatasa ácida tartrato resistente	-0.252	0.077	0.193	0.180
Proteínas totales	0.093	0.520	-0.104	0.472
TSH	0.016	0.913	0.099	0.501
25-HCC	-0.072	0.622	-0.059	0.686
Osteocalcina	0.159	0.270	-0.173	0.229
Beta-crosslaps	0.184	0.237	-0.057	0.715
PTH	-0.174	0.226	-0.171	0.237
PINP procolágeno	0.173	0.300	-0.033	0.843
L2-L4	0.083	0.564	0.084	0.559
Cuello femoral	0.133	0.353	-0.038	0.790
Total de cadera	0.056	0.698	-0.021	0.885
Trocanter	0.012	0.933	-0.008	0.956
Intertrocanter	0.020	0.891	-0.035	0.809
Bua	0.126	0.453	0.140	0.402
SOS	-0.118	0.481	-0.016	0.927
Qui-Stiffness	-0.097	0.561	-0.004	0.982

En los hombres, como se puede apreciar (figuras 23.1 y 23.2), no hubo variabilidad suficiente de alelos $(GGN)_n$, lo que hizo casi imposible poder establecer una asociación de estos con la DMO, en las zonas medidas. Tampoco mostró asociación la longitud de repetición de $(CGA)_n$ con la DMO, a pesar de si mostrar mayor variabilidad.

Centrándonos en el estudio del subgrupo de mujeres, por la mayor calidad de los datos, establecimos un valor $sCAG$, con el que se representa el mínimo de repeticiones del $(CAG)_n$ entre ambas copias, y otro, $lCAG$, que representa el máximo de las mismas, se realizaron medias aritméticas ponderadas.

De su análisis se obtuvo un vector determinado por el número de repeticiones y por un factor de ponderación, q .

En orden a establecer en qué modo el vector $(sCAG, lCAG)$ se asociaba, o podía influir sobre un determinado marcador DXA ó QUS, seleccionamos aquel valor de q que maximizaba su asociación con la media ponderada, CAG_q , de ambos valores extremos antes referidos.

Si el valor fue nulo ó próximo a cero significó que la copia del AR que influye fue la de mayor número de réplicas. Al contrario valores iguales o próximos a la unidad indicaron que son los alelos cortos los que tenían asociación con el marcador considerado.

Valores distantes de ambos extremos podrían interpretarse en el sentido que en ocasiones sería el brazo largo el influyente, pero en otras, el corto.

En la figura 21 se muestran las funciones $pv(q)$ para la asociación CAG con los marcadores DXA L2-L4, total de cadera, trocánter e intertrocánter (para el cuello femoral no se encontró asociación). Salvo para la L2-L4, se encontró que para valores de $q = 0$ (total de cadera e intertrocánter) ó $q = 0,23$ (trocánter), la asociación fue significativa (muy clara en el caso del trocánter). Para la L2-L4 no se obtuvo significación para el nivel de .05, pero el p-valor fue inferior a 0,1. Estos resultados sugieren que es la cadena larga de repeticiones la que influye sobre los referidos marcadores. Se dan con las mediciones de DMO por DXA pero no por QUS (no mostrados).

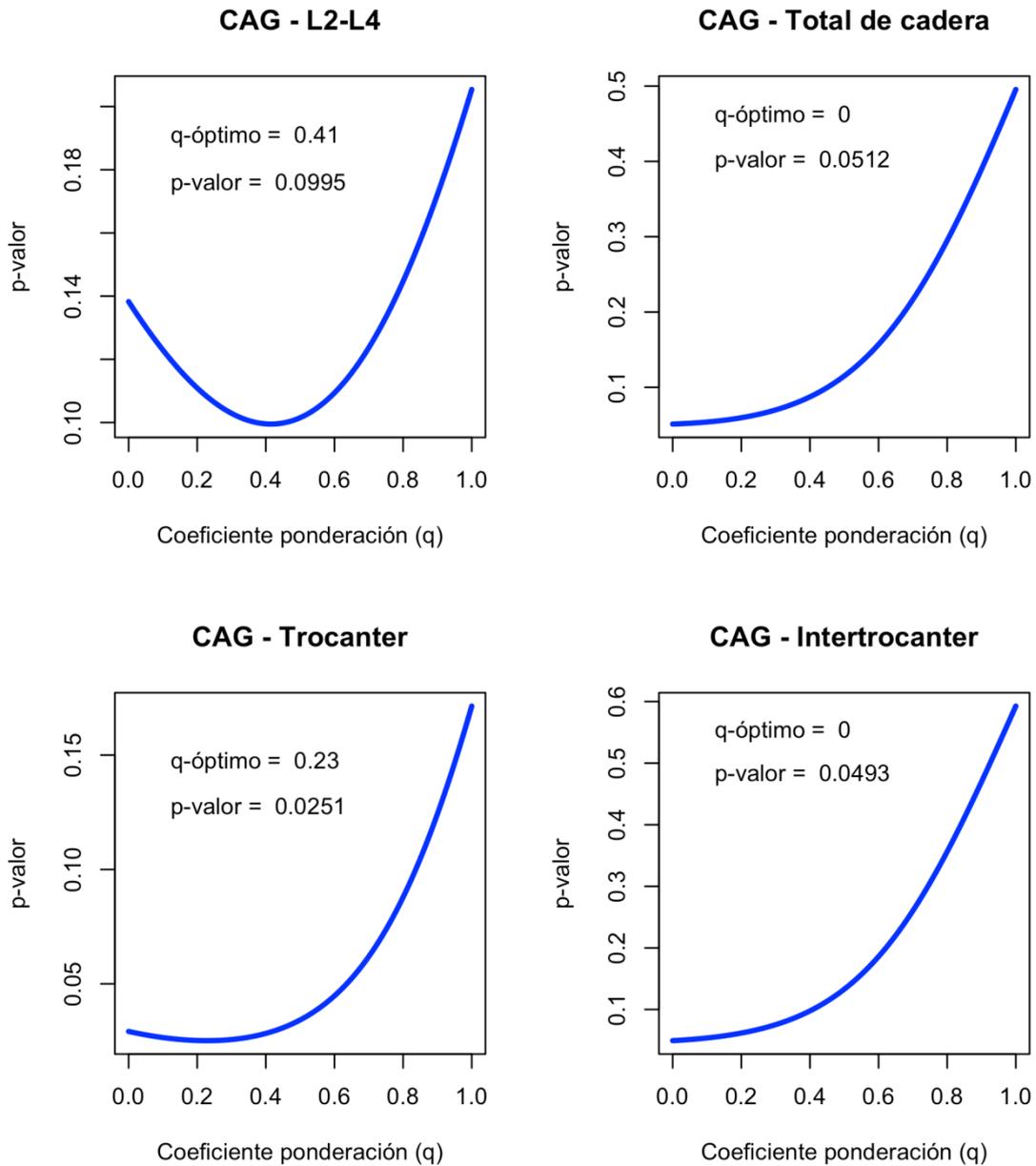


Figura 21. Modelos aditivos para los marcadores DXA en mujeres según edad, índice de masa corporal y media ponderada de las repeticiones $(CAG)_n$.

Los gráficos muestran los p-valores correspondiente al efecto de las medias ponderadas de las repeticiones $(CAG)_n$ según coeficiente de ponderación q . Nótese que las asociaciones máximas se obtienen para valores de q nulos o próximos a cero. Ello significa que el efecto de las cadenas largas de repeticiones $(CAG)_n$ es mayor que el de las cortas, siendo el de las últimas no significativo en todos los casos.

Además con intención de determinar la eventual asociación entre la presencia de osteoporosis y repeticiones de $(CAG)_n$, ajustado por edad e IMC se utilizó un modelo logístico aditivo para la osteoporosis. Se consideró para cada uno de los marcadores de DMO (DXA y QUS) la familia de modelos aditivos, que dependen del coeficiente de ponderación q . Los modelos estimados se muestran en las figuras 22.1, a 22.4. En todos los casos (localizaciones de medición), el aumento de la edad se asocia con decrecimiento del marcador DXA.

El aumento del IMC lo hace con crecimiento de la DXA (resultados recogidos en la literatura). Las repeticiones $(CAG)_n$ muestran un efecto protector débil, pero estadísticamente significativo, de la DMO, ya que se observa un suave crecimiento de la función con el incremento del número de cadenas.

Nótese además que los *splines* resultantes son lineales para las repeticiones $(CAG)_n$. Lo son para todas excepto para la asociación de edad en L2-L4.

La asociación de las repeticiones largas con las mediciones de DMO, en concreto mediante DXA, se aprecia en la tabla 7. Se puede constatar como la mejor asociación se obtiene para $q=0$, lo que recordemos significa que la mayor asociación corresponde con las repeticiones largas y por tanto es exclusiva de ella. Las próximas a cero tienen la mayor influencia de las mismas repeticiones. Lo primero ocurre con las mediciones de total de cadera e intertrocanter y lo segundo en trocánter. En la medición lumbar la asociación no es significativa y la $q= 0,41$ habla de una asociación mixta entre ambos tipos de repeticiones.

Entre QUS y las repeticiones de $(CAG)_n$ no se obtiene asociación por ninguno de los métodos empleados.

Tabla 7. Modelos aditivos para los marcadores DXA en mujeres según edad, índice de masa corporal y media ponderada de las repeticiones $(CAG)_n$.

La tabla muestra el coeficiente de ponderación (q) para el que el p-valor es mínimo (mayor asociación), el p-valor y el efecto de las repeticiones $(CAG)_n$ sobre la DXA

Tipo de determinación	Marcador	q -óptimo	P-valor	Efecto*
DXA	L2-L4	0.41	.0995	Creciente
	Cuello femoral	0	.2360	NS
	Total de cadera	0*	.0512	Creciente
	Trocánter	0.23	.0251	Creciente
	Intertrocánter	0*	.0493	Creciente
QUS	BUA	0.37	0.3165	NS
	SOS	0.68	.5588	NS
	Qui-Stiffness	1	.5132	NS

(*) Implica que el efecto es exclusivo del brazo largo de las repeticiones $(CAG)_n$

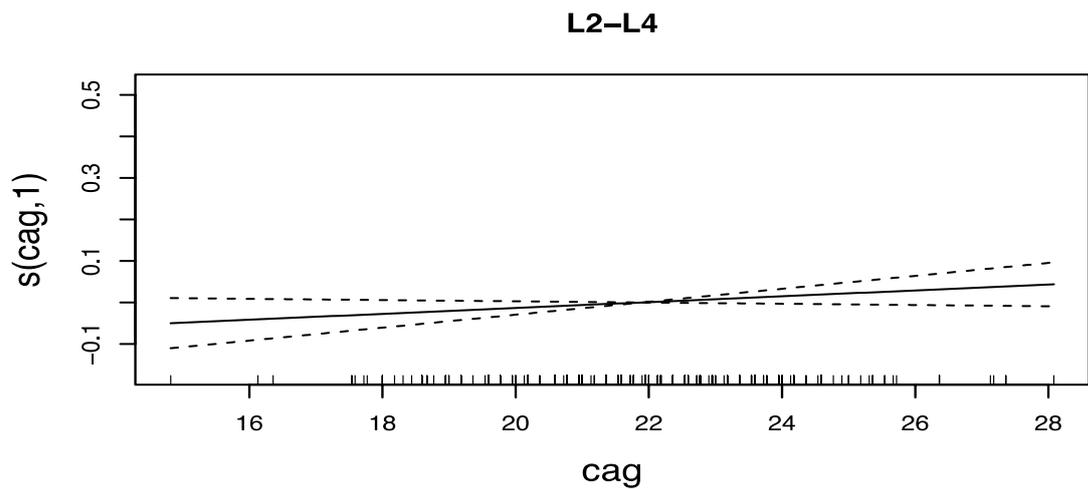
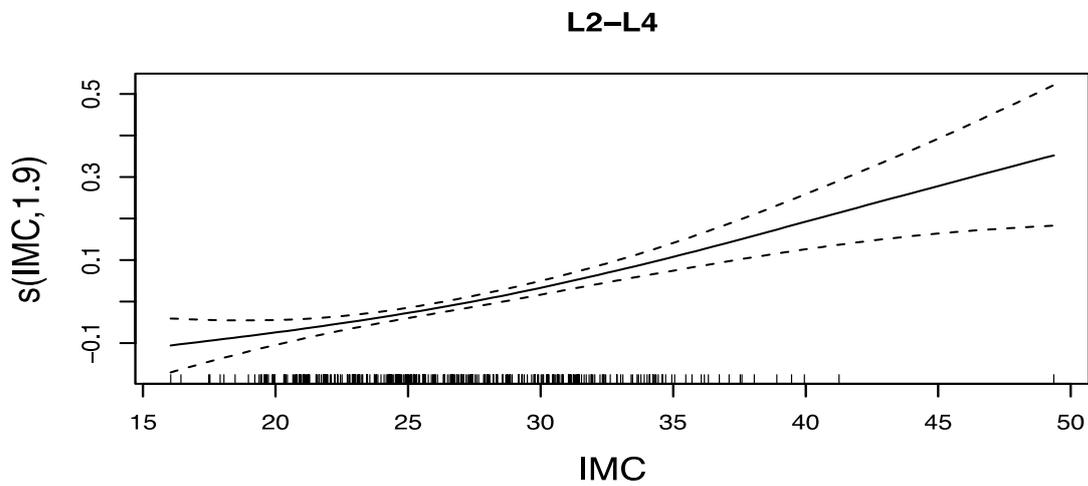
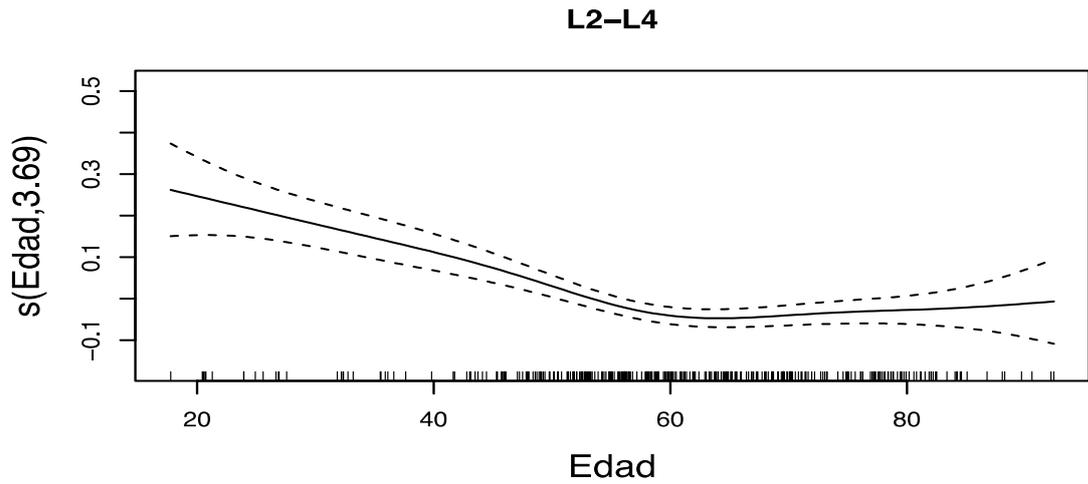


Figura 22.1. Modelo aditivo para la DXA en la zona lumbar (L2-L4). El aumento de la edad se asocia con depleción en la L2-L4 hasta los 60 años. Asimismo, el incremento del IMC se asocia con crecimiento de la DXA. El efecto de las repeticiones $(CAG)_n$ (brazo largo) se corresponde con un incremento de la DXA para $p = .099$.

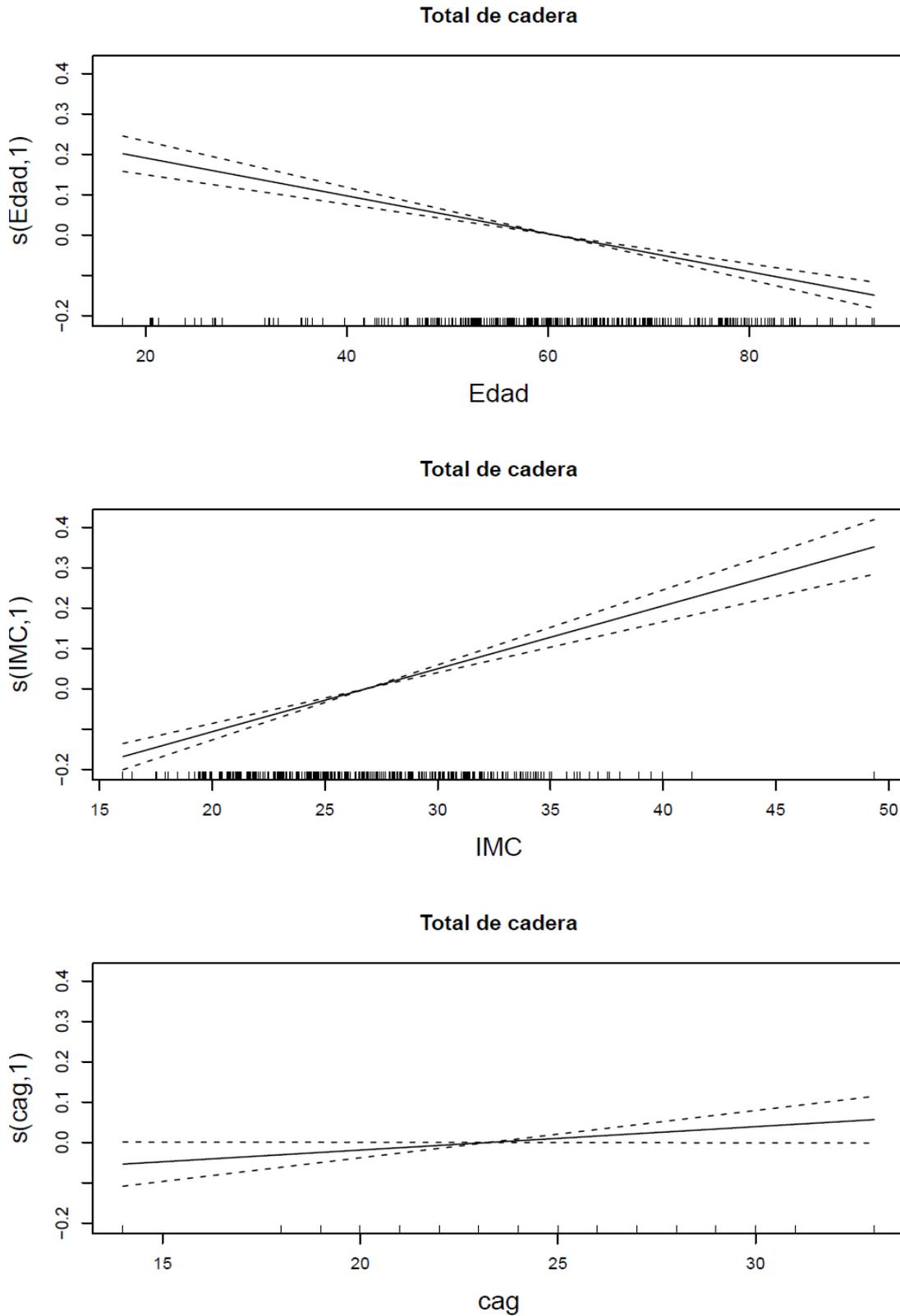


Figura 22.2. Modelo aditivo para la DXA en el total de cadera. El efecto de las repeticiones $(\text{CAG})_n$ para el brazo largo es significativamente creciente ($p = 0,051$).

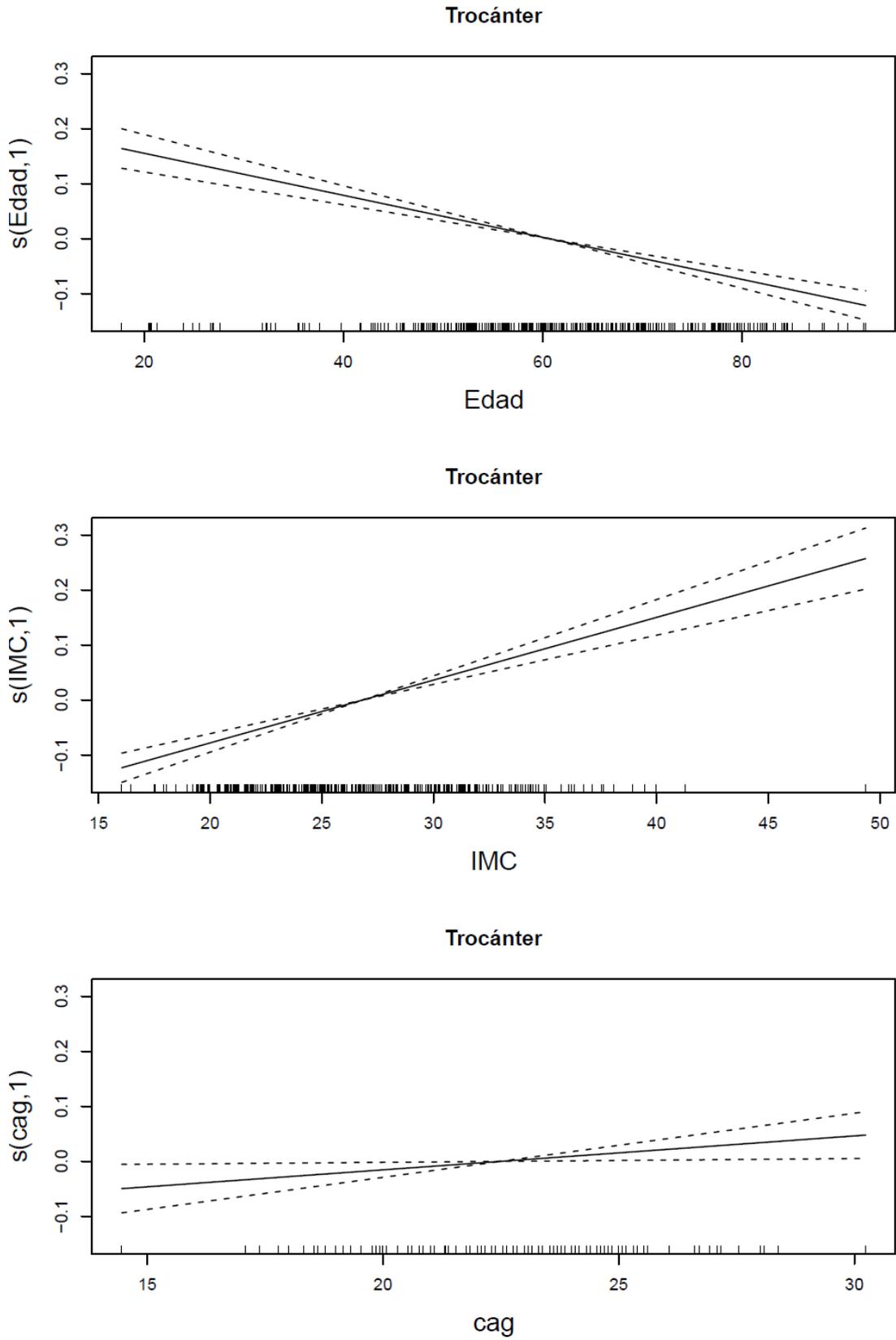


Figura 22.3. Modelo aditivo para la DXA en el trocánter. El efecto de la media ponderada es significativamente creciente ($p = 0,025$)

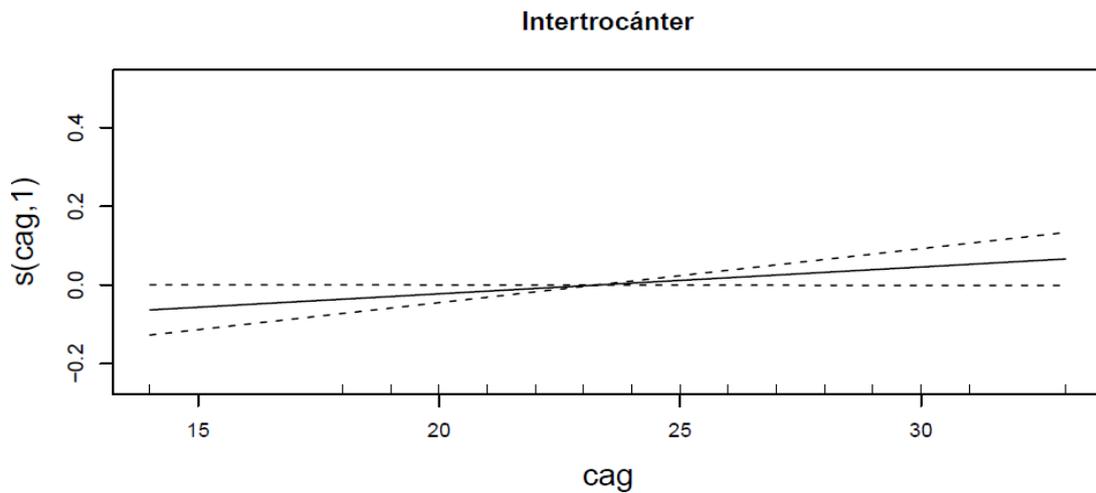
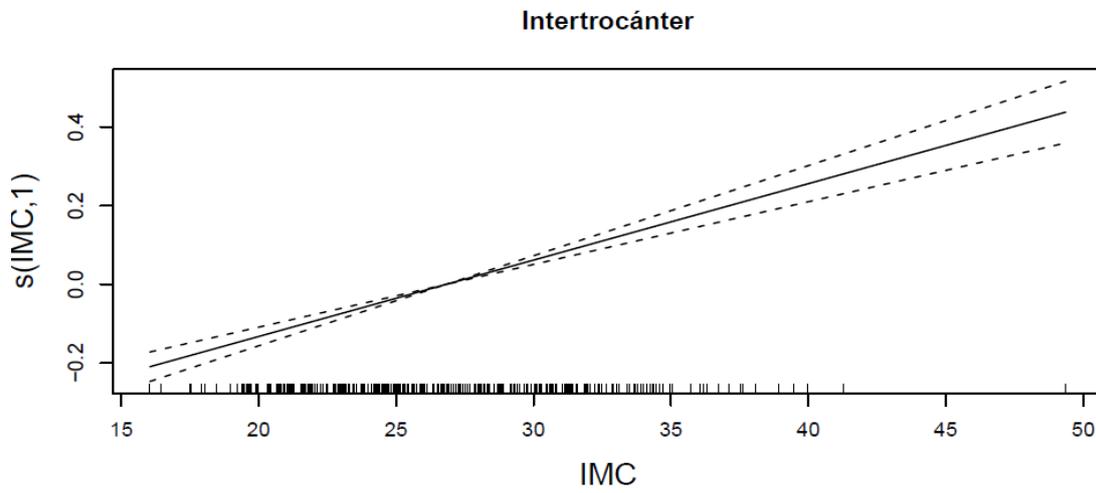
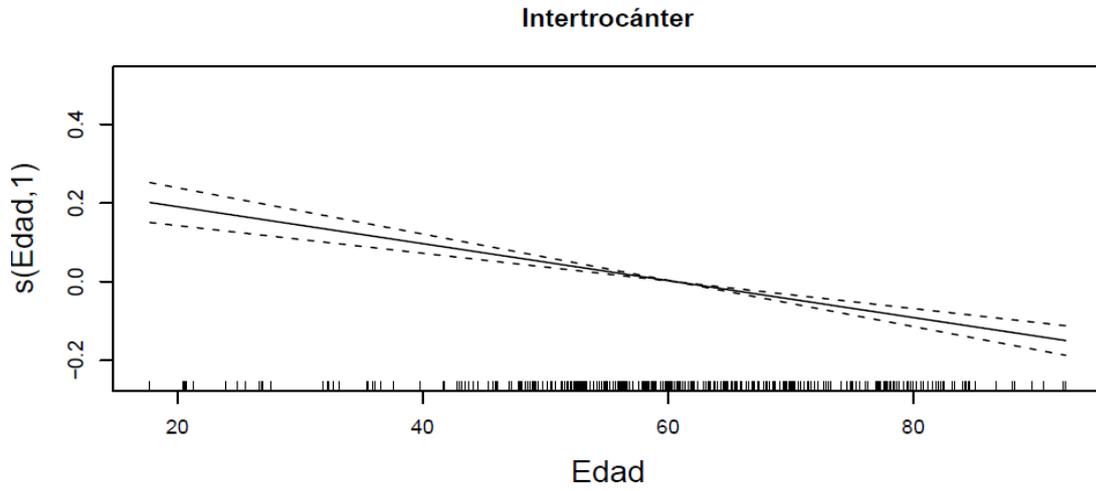


Figura 22.4. Modelo aditivo para la DXA en el intertrocáner. El efecto de la media ponderada es significativamente creciente ($p = 0,049$)

En la fig. 22.5 de diagnóstico de los modelos aditivos se encuentran los residuales según predicciones.

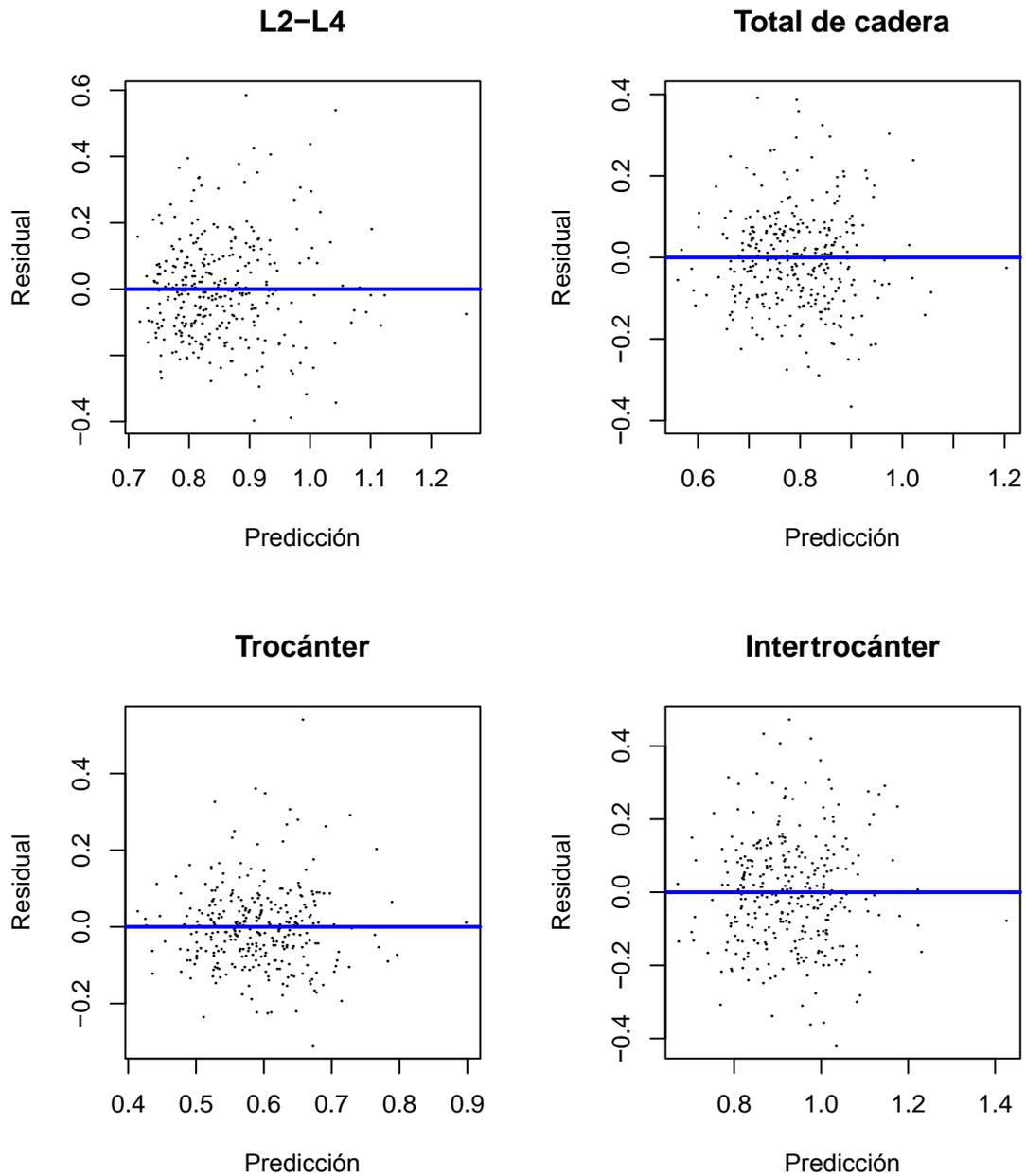


Figura 22.5. Diagnóstico de los modelos aditivos: Residuales según predicciones.

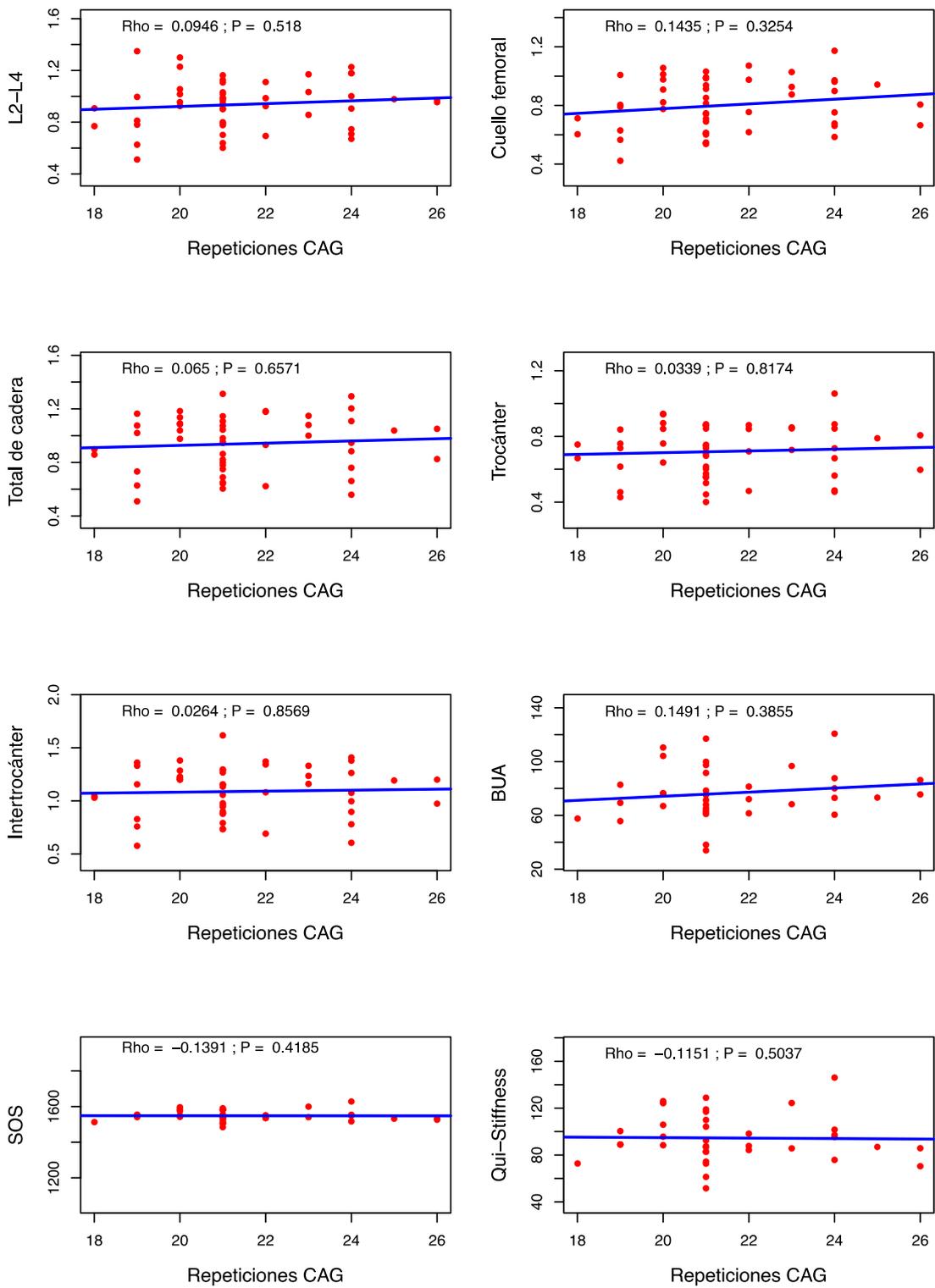


Figura 23.1. Correlaciones de Spearman entre las repeticiones (CAG)_n y los marcadores DXA y QUS en hombres

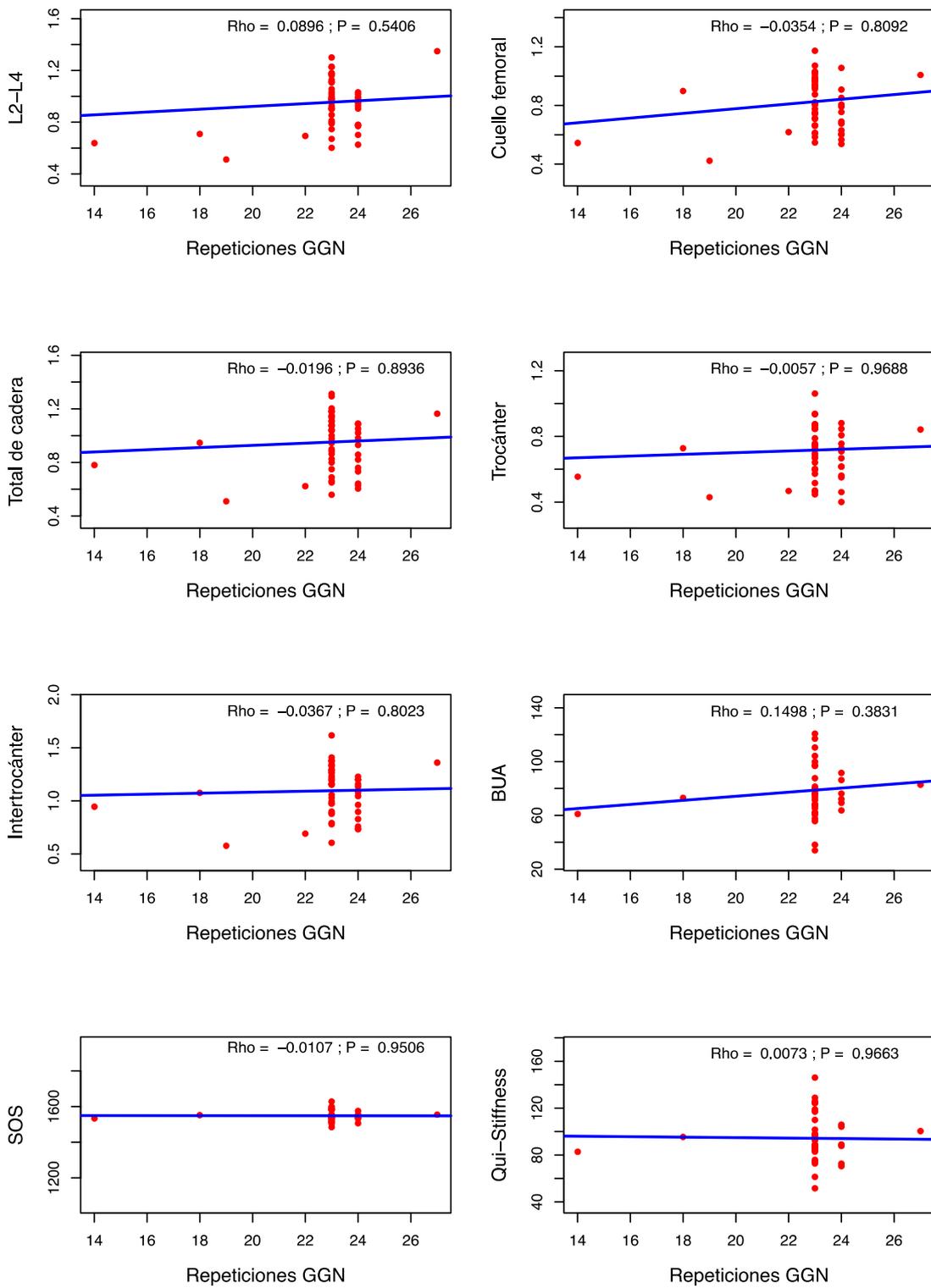


Figura 23.2. Correlaciones de Spearman entre las repeticiones (GGN)_n y los marcadores DXA y QUS en hombres

IV.4 ANALISIS DE ASOCIACIÓN DE ALELOS (CAG)_N DEL GEN DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENOS Y DMO EN MUJERES POSTMENOPAUSICAS

Con la intención de discriminar si la asociación del /CAG con la DMO, descrito en el subgrupo de mujeres, era consecuencia de la heterogeneidad de la cohorte femenina, se analizó el subgrupo de postmenopáusicas. Se llevó a cabo con la misma sistemática, y sometiendo a los mismos análisis estadísticos descritos anteriormente, a este subgrupo de 261 mujeres postmenopáusicas que tenían completo el genotipado (CAG)_n y (GGN)_n. Al categorizar los datos acordes con la media de la población estudiada, fueron 100 las que mostraron el genotipo SS, 124 SL y 37 LL.

Excepto para una variable, que es el IMC, no se apreciaron, asociaciones significativas con los diferentes grupos, tal como se ve en la tabla 8.1 y 8.2, El IMC ($p=0,057$) parece ser mayor en el grupo LL. que en los otros dos, lo que podría estar relacionado con mayor efecto de estas repeticiones. Los restantes parámetros epidemiológicos, hábitos, factores de riesgo y mediciones de DMO, no presentaron asociación.

En el análisis basado en los modelos aditivos aplicado a las mujeres postmenopáusicas se confirma que las medias ponderadas entre cadenas largas y cortas, se asocian claramente con la DXA en cadera ($p=0,034$) y trocánter ($p=0,006$) con un mayor peso de las cadenas largas de (CAG)_n. La evidencia de asociación es más débil en intertrocánter ($p=0,066$) y en zona lumbar ($p=0,080$).

Tabla 8.1. Subgrupo de mujeres **postmenopáusicas**: clasificación según las longitudes de las repeticiones (CAG)_n

	SS N = 100	SL N = 124	LL N = 37	P
Edad, años	64.1 ± 10.5	65.6 ± 11.5	67.0 ± 9.3	.342
Índice de masa corporal, kg/m ² ,	27.5 ± 4.3	26.6 ± 5.0	28.6 ± 5.3	.057
Calcio, mg/dL	9.8 (9.3 ; 10.1)	9.8 (9.43 ; 10.1)	9.8 (9.5 ; 10.1)	.681
Fósforo sérico, mg/dL	3.6 (3.2 ; 3.9)	3.5 (3.1 ; 3.8)	3.6 (3.2 ; 3.8)	.400
Fosfatasa alcalina, U/L	84.5 (68.0 ; 108)	87 (67.5 ; 96)	86 (79 ; 99)	.912
Fosfatasa ácida tartrato resistente, U/L	2.4 (2.1 ; 2.6)	2.4 (2.0 ; 2.9)	2.5 (2.1 ; 3.1)	.312
Proteínas totales, g/dL	7.1 (6.8 ; 7.4)	7.2 (6.9 ; 7.5)	7.2 (6.9 ; 7.6)	.219
TSH, mUI/L	1.8 (1.2 ; 2.3)	1.9 (1.28 ; 2.7)	1.9 (1.3 ; 2.5)	.645
25-HCC, ng/mL	20 (16 ; 26)	21.9 (15.7 ; 28.1)	23.1 (15.9 ; 31)	.626
Osteocalcina, ng/mL	18.1 (9.9 ; 25.8)	19.3 (13.0 ; 28.8)	18.3 (12.0 ; 24.9)	.536
Beta-CrossLaps, ng/mL	0.4 (0.23 ; 0.6)	0.4 (0.24 ; 0.6)	0.3 (0.24 ; 0.6)	.694
Hormona paratiroidea, pg/mL	43.2 (31.4 ; 62.3)	49.5 (36.5 ; 72.7)	48.6 (34.8 ; 77.1)	.190
PINP procolágeno, ng/mL	43.3 (24.5 ; 59.1)	42.0 (31.1 ; 59.5)	33.2 (22.4 ; 49.3)	.336
L2-L4, g/cm ²	0.813 ± 0.142	0.831 ± 0.183	0.853 ± 0.172	.436
Cuello femoral, g/cm ²	0.665 ± 0.143	0.639 ± 0.143	0.639 ± 0.109	.560
Total de cadera, g/cm ²	0.773 ± 0.118	0.777 ± 0.166	0.771 ± 0.125	.963
Trocánter, g/cm ²	0.568 ± 0.131	0.580 ± 0.131	0.585 ± 0.113	.667
Intertrocánter, g/cm ²	0.914 ± 0.143	0.911 ± 0.204	0.908 ± 0.157	.982
Bua, dB/MHz	59.2 ± 14.8	59.0 ± 19.3	56.5 ± 14.1	.782
SOS, m/s	1521 ± 24.2	1520 ± 29.6	1516 ± 25.1	.763
Qui-Stiffness	77.9 ± 19.5	75.3 ± 19.4	73.7 ± 15.8	.600
Caídas en el último año	34 (34.0)	46 (38.0)	18 (48.6)	.292
Fracturas				.423
No fracturas	62 (62.0)	81 (65.3)	24 (64.9)	
Sólo no vertebrales	25 (25.0)	24 (19.4)	11 (29.7)	
Vertebrales	13 (13.0)	19 (15.3)	2 (5.4)	

Longitud de las repeticiones (CAG)_n: SS = Ambas copias < 23; SL = sólo una copia < 23; LL = Ambas copias ≥ 23. Los datos son medias ± SD, medianas (IQR), frecuencias (%).

Tabla 8.2. Subgrupo de mujeres **postmenopáusicas**: clasificación según las longitudes de las repeticiones CAG

	SS N = 100	SL N = 124	LL N = 37	P
L2-L4, g/cm ²	0.809 (0.778 ; 0.840)	0.839 (0.812 ; 0.867)	0.835 (0.784 ; 0.886)	.338
Cuello femoral, g/cm ²	0.657 (0.635 ; 0.678)	0.670 (0.651 ; 0.689)	0.632 (0.597 ; 0.666)	.166
Total de cadera, g/cm ²	0.763 (0.739 ; 0.786)	0.791 (0.770 ; 0.812)	0.753 (0.715 ; 0.791)	.105
Trocánter, g/cm ²	0.561 (0.541 ; 0.580)	0.590 (0.572 ; 0.608)	0.573 (0.540 ; 0.605)	.088
Intertrocánter, g/cm ²	0.901 (0.873 ; 0.930)	0.928 (0.902 ; 0.955)	0.885 (0.837 ; 0.933)	.203
Bua, dB/MHz	57.9 (54.1 ; 61.7)	59.7 (56.6 ; 62.9)	57.0 (50.9 ; 63.1)	.652
SOS, m/s	1519 (1513 ; 1525)	1521 (1516 ; 1526)	1517 (1507 ; 1527)	.778
Qui-Stiffness	75.1 (71.2 ; 79.1)	77.0 (73.7 ; 80.2)	74.3 (68.0 ; 80.6)	.671

Los datos son medias ajustadas por edad e IMC (IC – 95%)

En cadera y en intertrocánter, el valor óptimo de q es cero, lo que significa que la mejor asociación da todo el peso a la cadena larga de $(CAG)_n$. En trocánter, prácticamente, ocurre lo mismo ($q = 0.09$). En la zona lumbar sin embargo, el q óptimo es 0.32, lo que estaría indicando que el tamaño de la cadena corta de $(CAG)_n$ influye en la DMO lumbar. Ver tabla 9, Fig. 24.

Tabla 9. Modelos aditivos para los marcadores DXA en mujeres **postmenopáusicas** según edad, índice de masa corporal y media ponderada de las repeticiones (CAG)_n. La tabla muestra el coeficiente de ponderación (q) para el que el p-valor es mínimo (mayor asociación), el p-valor y el efecto de los repeticiones (CAG)_n sobre la DXA

Tipo de determinación	Marcador	q-óptimo	P-valor	Efecto*
DXA	L2-L4	0.32	.080	Creciente
	Cuello femoral	0	.265	NS
	Total de cadera	0*	.034	Creciente
	Trocánter	.09	.006	Creciente
	Intertrocánter	0*	.066	Creciente
QUS	BUA	0.58	0.263	NS
	SOS	0.64	.485	NS
	Qui-Stiffness	1	.441	NS

(*) Implica que el efecto es exclusivo del brazo largo de las repeticiones CA

También el resultado del análisis de la asociación de cada uno de las mediciones de DMO con edad, IMC y las repeticiones de (CAG)_n arroja resultados similares al del conjunto de las mujeres, ya comentado. Se pueden apreciar en las gráficas 25.1 a 25.5.

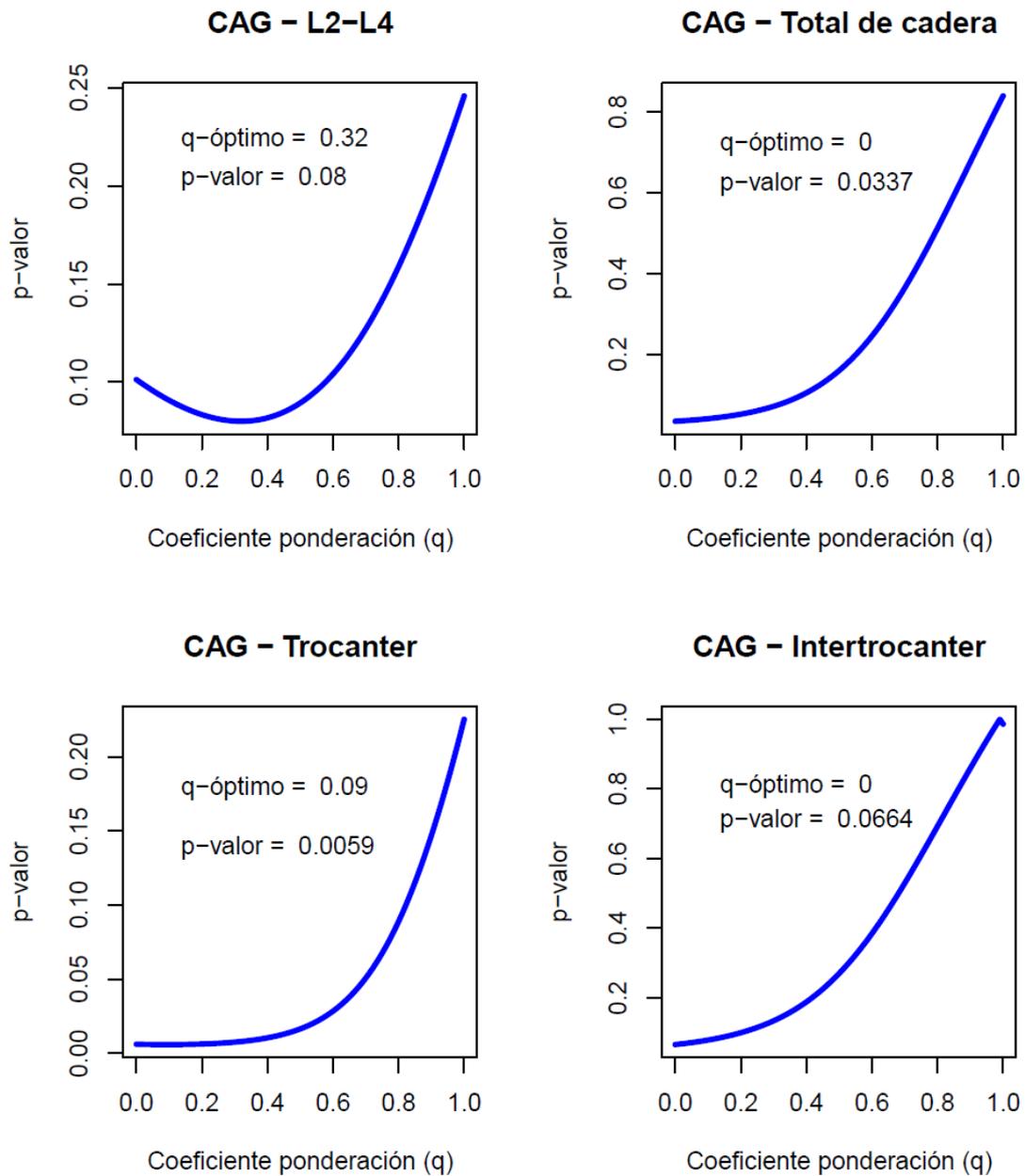


Figura 24. Modelos aditivos para los marcadores DXA en mujeres **postmenopáusicas** según edad, índice de masa corporal y media ponderada de las repeticiones $(CAG)_n$. Los gráficos muestran los p-valores correspondiente al efecto de las medias ponderadas de las repeticiones $(CAG)_n$ según coeficiente de ponderación q. Nótese que las asociaciones máximas se obtienen para valores de q nulos o próximos a cero. Ello significa que el efecto de las cadenas largas de repeticiones $(CAG)_n$ es mayor que el de las cortas, siendo el de las últimas no significativo en todos los casos.

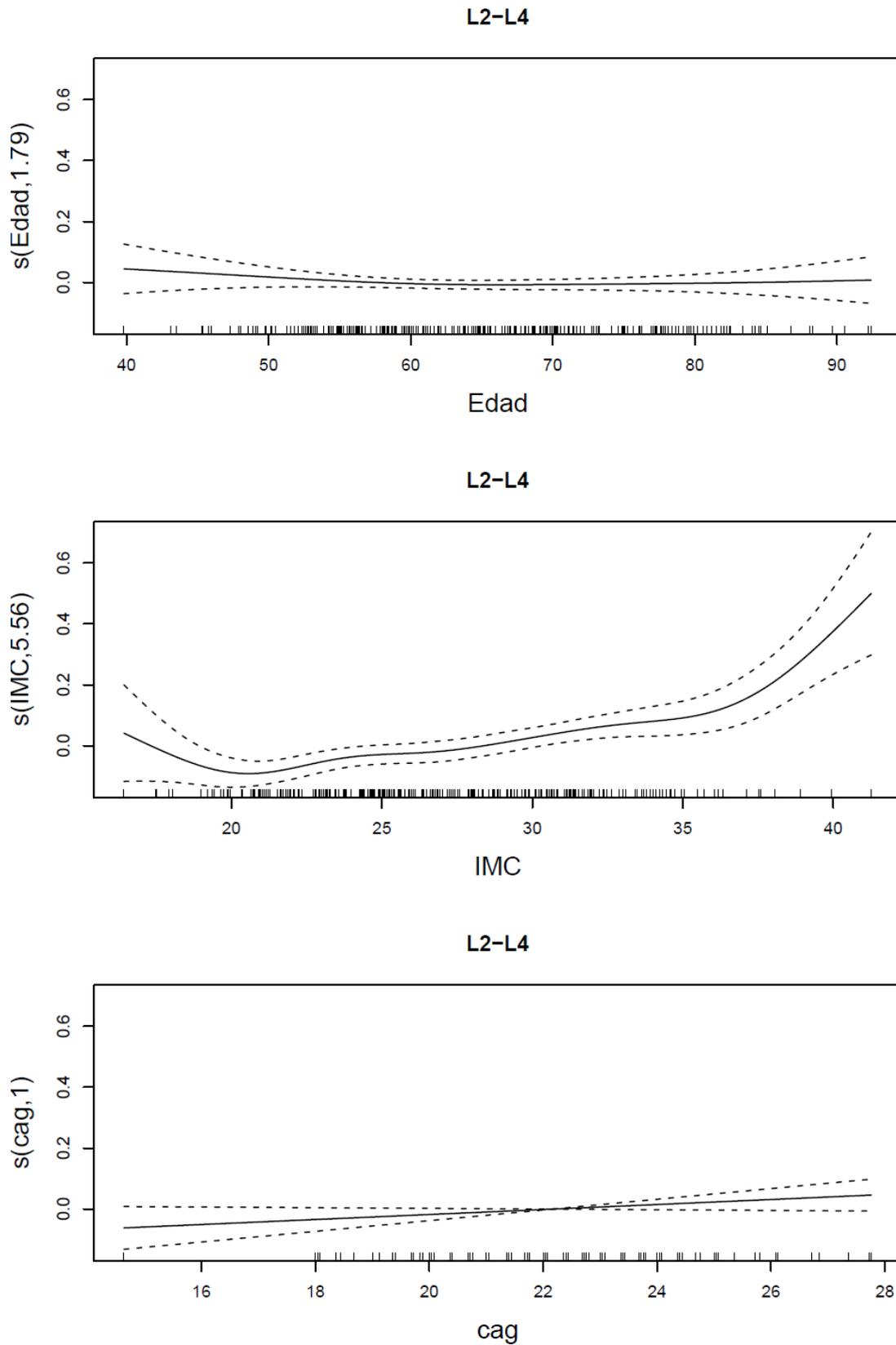


Figura 25.1. Modelo aditivo para la DXA en el L2-L4 (mujeres postmenopáusicas). El efecto de la media ponderada es cuasi-significativamente creciente ($p = 0,080$)

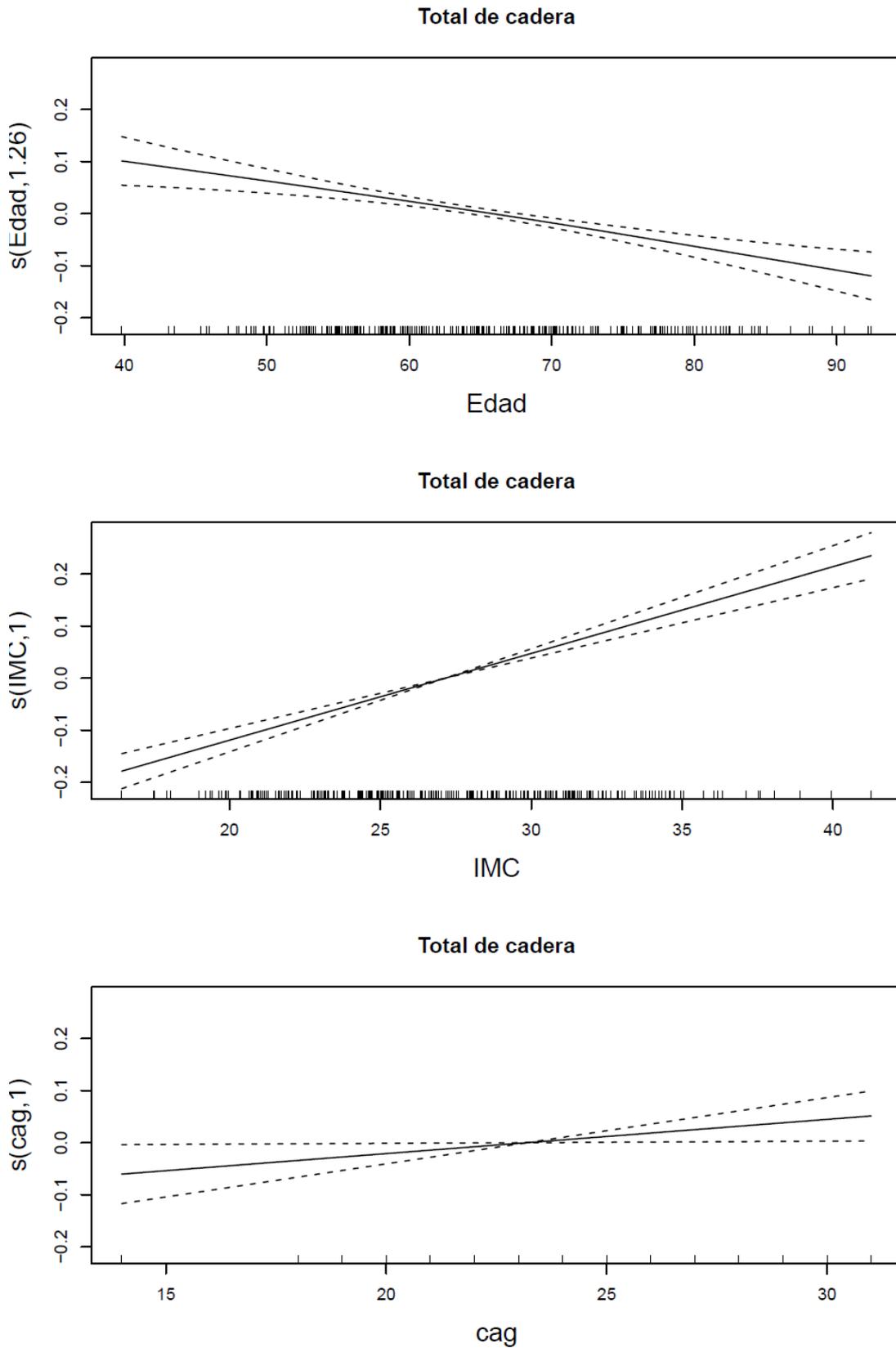


Figura 25.2. Modelo aditivo para la DXA en el total de cadera (mujeres postmenopáusicas). El efecto de la media ponderada es significativamente creciente ($p = 0,034$)

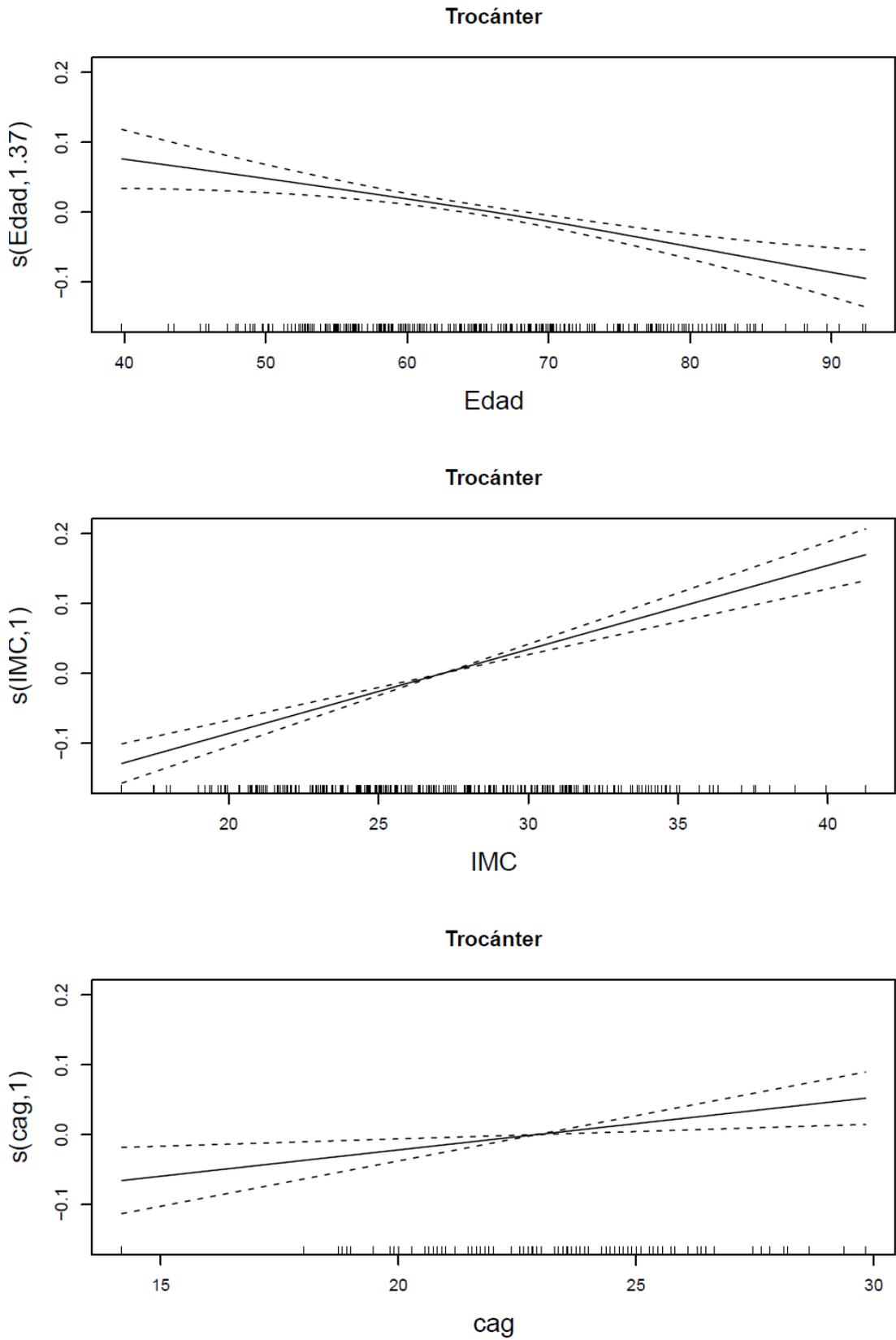


Figura 25.3. Modelo aditivo para la DXA en trocánter (mujeres postmenopáusicas). El efecto de la media ponderada es significativamente creciente ($p = 0,006$)

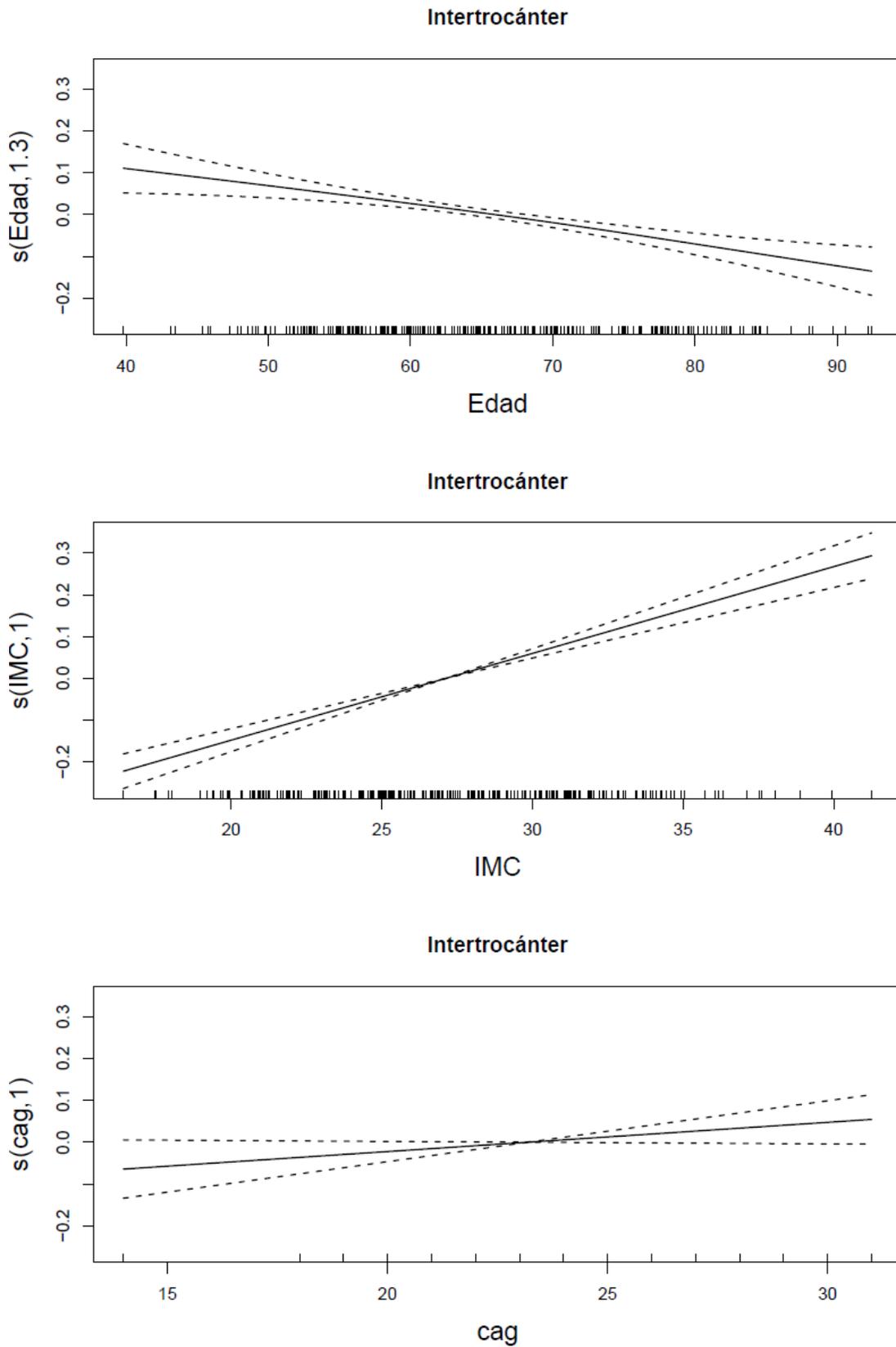


Figura 25.4. Modelo aditivo para la DXA en el intertrocánter (mujeres postmenopáusicas). El efecto de la media ponderada es cuasi-significativamente creciente ($p = 0,066$)

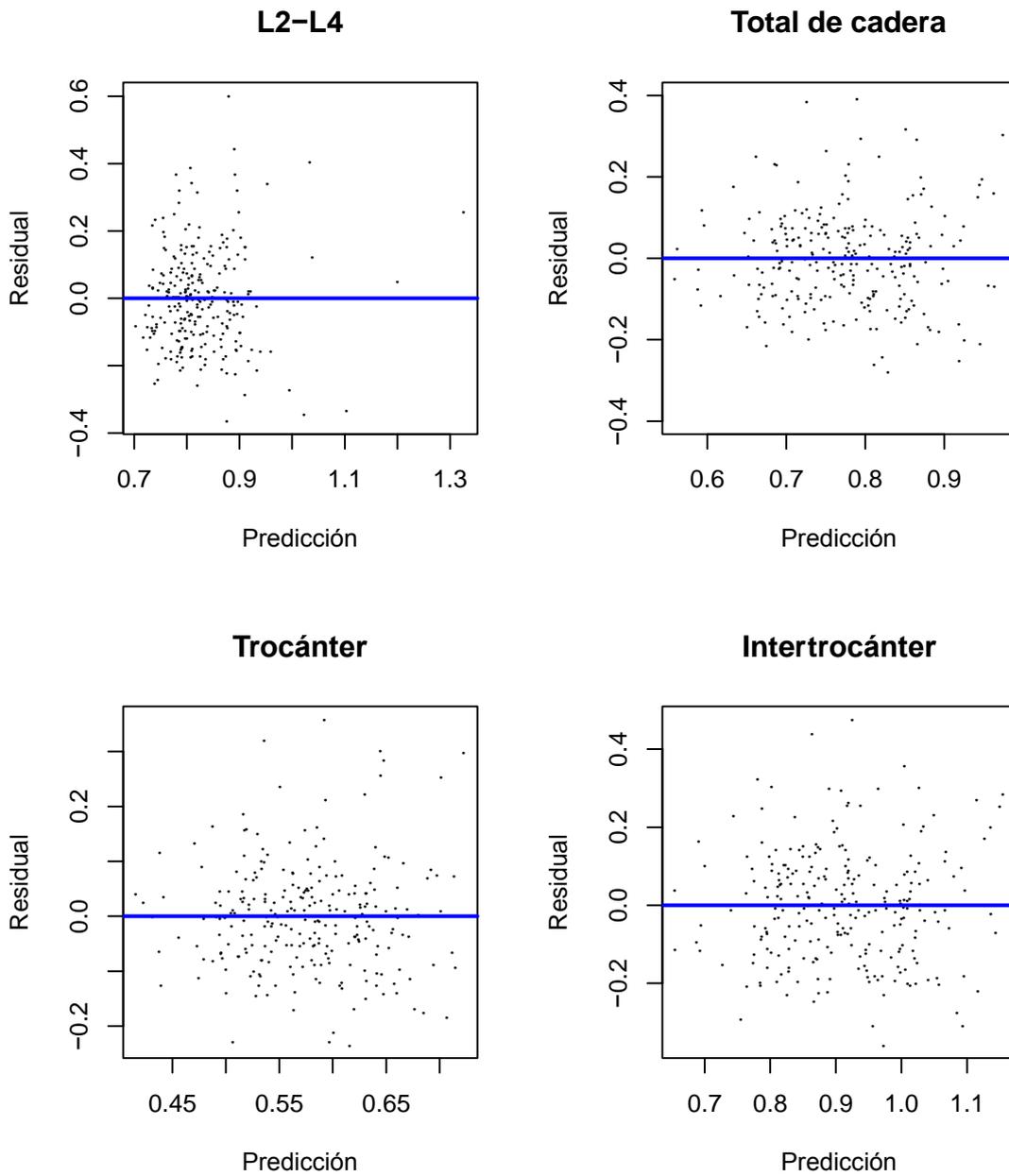


Figura 25.5. Diagnósis de los modelos aditivos (mujeres postmenopáusicas): Residuales según predicciones.

IV.5 ANALISIS DE LAS REPETICIONES (CAG)_n DEL GEN DEL RECEPTOR DE ANDRÓGENS SOBRE EL RIESGO DE DESARROLLAR OSTEOPOROSIS EN LAS MUJERES MENOPÁUSICAS

Con los resultados anteriores interesaba estudiar en las mujeres postmenopáusicas las posibles variables que tuvieran asociación con la aparición de osteoporosis y en especial las repeticiones de (CAG)_n.

La tabla 10 muestra los valores obtenidos del análisis de las variables relacionadas con osteoporosis. De ellos se desprende que, en la comparación de ambos grupos, la edad no presentó diferencia significativa.

Vemos que solo el IMC ($p=0,002$) y las fracturas ($p=0,014$) muestran asociación significativa. Con respecto al primero se aprecia que las no osteoporóticas tienen mayor IMC. Esto puede estar en relación con mayor conservación de DMO y también de masa muscular. De cualquier forma, la IMC muestra asociación con alta significación con la osteoporosis.

De las no osteoporóticas cabe decir que resulta esperada la distribución de las variables dada la ya conocida fragilidad de las osteoporóticas frente a las que no lo son.

Las repeticiones de (CAG)_n, (GGN)_n y del brazo largo de (CAG)_n, tampoco mostraron asociación al categorizar las longitudes por la media de las repeticiones en la población estudiada.

Tabla 10. Análisis de la osteoporosis en mujeres postmenopáusicas

	Osteoporosis *		P
	No N = 134	Si N = 126	
Edad, años	64.4 ± 10.2	66.0 ± 11.4	.225
IMC, Kg/m ²	28.0 ± 4.8	26.1 ± 4.7	.002
CAG (brazo largo)	24 (21 ; 25)	23 (21 ; 25)	.367
CAG*			.992
SS	51 (38.3)	47 (37.6)	
SL	63 (47.4)	60 (48.0)	
LL	19 (14.3)	18 (14.4)	
GGN*			.988
SS	63 (47.4)	60 (48.0)	
SL	50 (37.6)	47 (37.6)	
LL	20 (15.0)	18 (14.4)	
Calcio, mg/dL	9.85 ± 0.50	9.69 ± 0.88	.080
Fósforo sérico, mg/dL	3.47 ± 0.50	3.61 ± 0.85	.104
Fosfatasa alcalina, U/L	82 (65 ; 100)	86 (69 ; 101)	.677
Fosfatasa ácida tartrato resistente, U/L	2.40 (2.10 ; 2.65)	2.50 (2.10 ; 3.10)	.059
Proteínas totales, g/dL	7.2 (6.9 ; 7.5)	7.1 (6.9 ; 7.5)	.741
TSH, mUI/L	1.96 (1.23 ; 2.68)	1.87 (1.27 ; 2.30)	.744
25-HCC, ng/mL	21.0 (16.0 ; 26.3)	21.0 (16.0 ; 28.0)	.753
Osteocalcina, ng/mL	19.1 (13.8 ; 26.1)	17.6 (8.9 ; 30.7)	.427
Beta-CrossLaps, ng/mL	0.37 (0.21 ; 0.48)	0.40 (0.26 ; 0.63)	.070
Hormona paratiroidea, pg/mL	48.6 (37.4 ; 65.9)	45.6 (31.7 ; 68.7)	.222
PINP procolágeno, ng/mL	49.5 (25.1 ; 54.4)	44.4 (24.1 ; 67.0)	.250
Caídas en el último año	46 (34.6)	51 (41.1)	.338
Fracturas			.015
No fracturas	97 (72.4)	70 (55.6)	
Sólo no vertebrales	25 (18.7)	34 (27.0)	
Vertebrales	12 (9.0)	22 (17.5)	

Los datos son medias ± SD y medianas (IQR); (*) T-score en L2-L4 ó en cuello femoral < 2.5

El análisis por el modelo logístico aditivo para osteoporosis mostró (Fig. 26.1) que, para el conjunto de medias, la máxima asociación de CAG_q se obtuvo con un valor de q de 0,61, lo que descarta una asociación con ninguna de las longitudes de repetición.

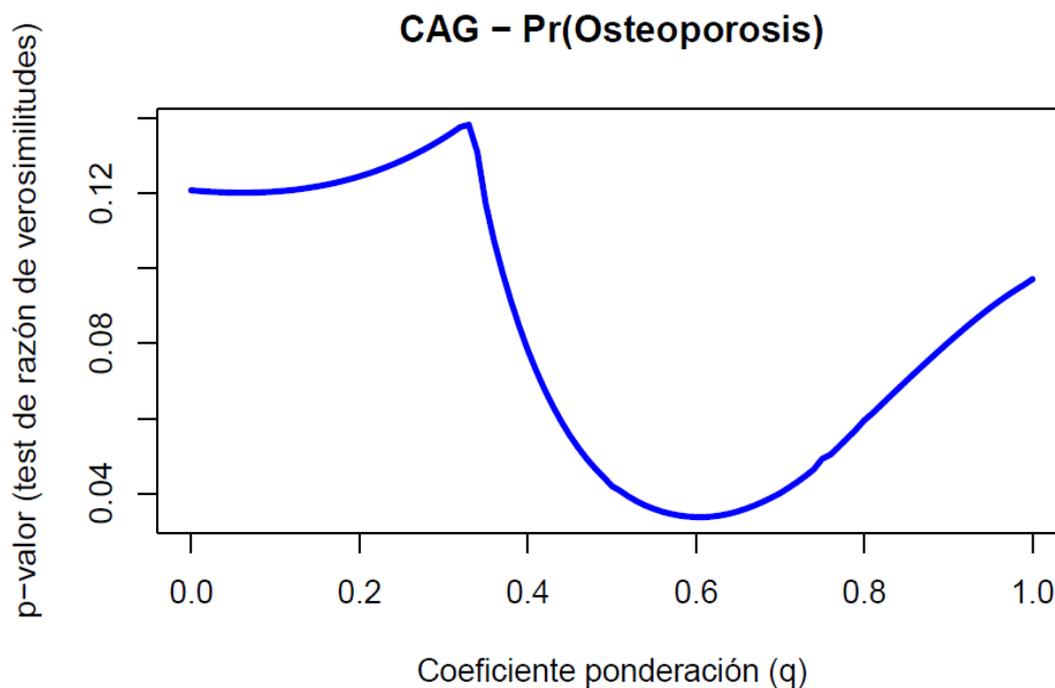


Figura 26.1. Modelo logístico aditivo para la osteoporosis: p-valores correspondientes al CAG_q (test de razón de verosimilitudes) según el factor de ponderación q . Nótese que el CAG_q con máxima asociación con la osteoporosis se obtiene para $q = 0.61$

A pesar de lo anterior, analizando los efectos de los tres factores más implicados, edad, IMC y repeticiones de $(CAG)_n$, sobre la probabilidad de osteoporosis, obtuvimos una asociación muy fuerte de los tres.

Resulta llamativa la gran significación del IMC ($p < 0,001$), mientras que la edad y las repeticiones $(CAG)_n$ presentaron la misma probabilidad ($p=0,034$).

Como resultado del análisis de las medias ponderadas las funciones de los dos primeros mostraron un efecto lineal. Para las medias ponderadas de repeticiones $(CAG)_n$ mostró una función no lineal, representado en la figura 26.2. En esta se

aprecia que el incremento en el número de repeticiones se asocia con disminución en la probabilidad de osteoporosis.

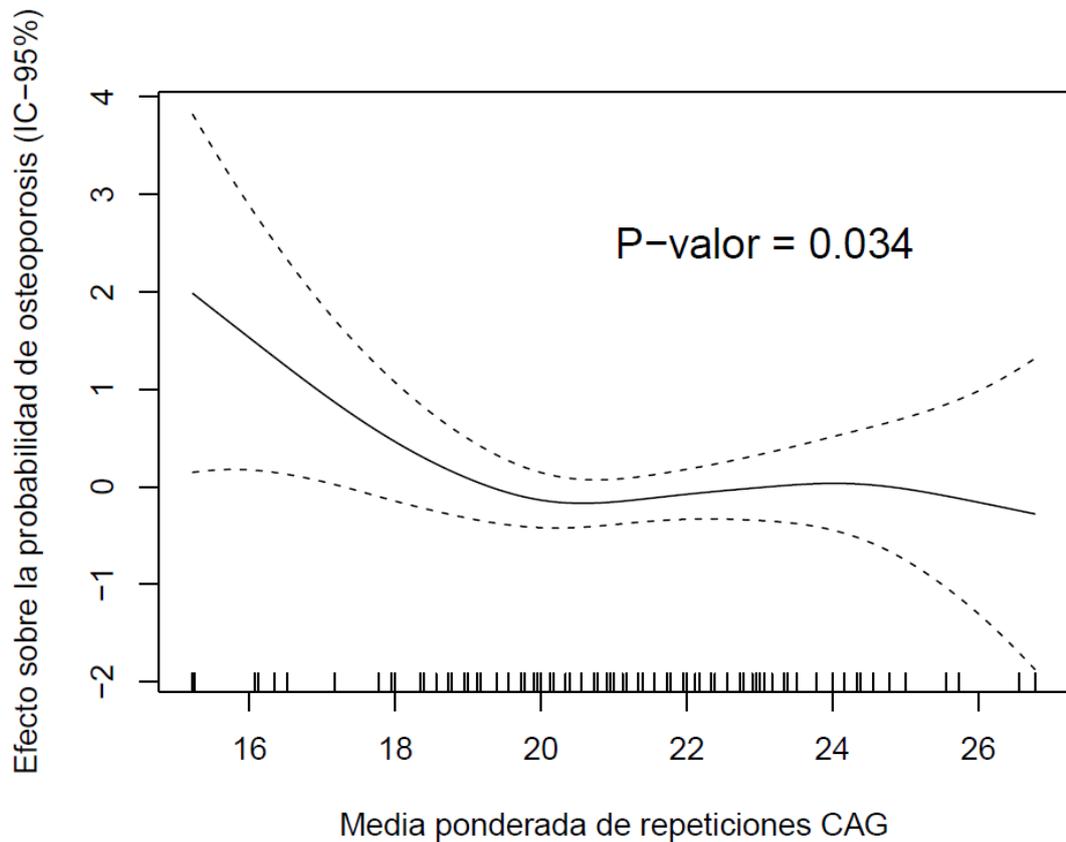


Figura 26.2. Efecto de las repeticiones $(CAG)_n$ sobre la probabilidad de osteoporosis.

Este comportamiento de las repeticiones $(CAG)_n$ confirma los hallazgos previos en los cuales se apreciaba esta asociación de las repeticiones $(CAG)_n$ largas con un efecto protector sobre la osteoporosis o con menor pérdida de DMO.

El modelo estimado de probabilidades de osteoporosis para este modelo logístico aditivo, recogido en la tabla 11, muestra p significativas para las tres variables reseñadas y en el caso de las repeticiones de $(CAG)_n$ confirma el efecto protector suave sobre la osteoporosis

Tabla 11. Modelo logístico aditivo para la probabilidad de osteoporosis.

	Coefficiente (SE)	P*	OR (IC-95%)
Término independiente	1.014 (0.985)	-	-
Edad, por año	0.026 (0.013)	.034	1.026 (1.002 ; 1.052)
IMC, por kg/m ²	-0.102 (0.029)	< .001	0.903 (0.853 ; 0.955)
CAG	Spline cúbico	.034	-

(*) Test de razón de verosimilitudes

IV.6 ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN ENTRE LOS GENOTIPOS SS, SL Y LL CON LA DXA Y QUS EN MUJERES PRE-MENOPÁUSICAS

En esta sección analizamos la asociación de los genotipos SS, SL y LL con los marcadores bioquímicos, las determinaciones DXA y los valores QUS en el subconjunto de mujeres pre-menopáusicas. El número de éstas es de 57, lo que significa que las estimaciones obtenidas son de menor precisión que las obtenidas para el grupo total de mujeres (n = 310) y para el subgrupo de postmenopáusicas (n = 263). La finalidad fundamental es explorar si estos resultados concuerdan con los de Yamada et al.³⁵⁶. Nuestros resultados, sin embargo, no parecen concordar con los de ellos. Los datos crudos que se muestran en la tabla 12 no muestran diferencias de los marcadores DXA y QUS entre los tres genotipos. Dado que las mujeres del grupo *LL* son de mayor edad (p = .078, pero el tamaño de este grupo es muy reducido) obtuvimos las medias de los referidos marcadores ajustas por edad e IMC (tabla 13). Los resultados siguen sin mostrar diferencias significativas, pero los datos apuntan a valores DXA más elevados en las mujeres que tienen el alelo *L*.

La distribución de frecuencias de los genotipos es: $n(SS) = 22$; $n(SL) = 28$; $n(LL) = 7$. Para esta distribución, la población no muestra desacuerdo con el principio de Hardy-Weinberg, a saber: $\chi^2 = 0,045$; $p = 0,831$.

Tabla 12. Subgrupo de mujeres premenopáusicas: clasificación según las longitudes de las repeticiones CAG

	SS N = 22	SL N = 28	LL N = 7	P
Edad, años	36.8 ± 11.4	39.3 ± 10.7	47.9 ± 11.7	.078
Índice de masa corporal, kg/m ² ,	24.1 ± 5.2	26.9 ± 6.3	22.2 ± 1.8	.092
Calcio, mg/dL	9.9 (9.7 ; 10.2)	9.9 (9.7 ; 10.1)	9.8 (9.4 ; 9.9)	.453
Fósforo sérico, mg/dL	3.5 (3.0 ; 3.8)	3.5 (3.2 ; 4.0)	3.9 (3.6 ; 4.4)	.057
Fosfatasa alcalina, U/L	77.2 (50.0 ; 87.0)	73.0 (68.5 ; 77.0)	87.5 (73.7 ; 101)	.935
Fosfatasa ácida tartrato resistente, U/L	2.0 (1.7 ; 2.3)	2.4 (2.1 ; 2.8)	2.4 (2.1 ; 3.8)	.025
Proteínas totales, g/dL	7.4 (7.2 ; 7.6)	7.3 (7.1 ; 7.5)	7.3 (7.1 ; 7.5)	.788
TSH, mUI/L	1.9 (1.5 ; 2.3)	1.2 (0.9 ; 2.7)	1.9 (1.3 ; 2.5)	.009
25-HCC, ng/mL	22 (18 ; 32)	24 (19 ; 29)	22 (17 ; 24)	.626
Osteocalcina, ng/mL	19.6 (12.2 ; 26.0)	17.1 (11.8 ; 26.7)	13.7 (7.2 ; 25.9)	.847
Beta-CrossLaps, ng/mL	0.3 (0.22 ; 0.4)	0.4 (0.24 ; 0.6)	0.7 (0.54 ; 0.7)	.069
PTH, pg/mL	33.1 (28.2 ; 49.4)	39.0 (33.0 ; 51.5)	39.9 (34.2 ; 44.2)	.496
PINP procolágeno, ng/mL	40.3 (34.0 ; 48.4)	39.4 (31.3 ; 49.5)	63.6 (46.0 ; 78.9)	.301
L2-L4, g/cm ²	0.985 ± 0.193	0.993 ± 0.149	0.895 ± 0.149	.377
Cuello femoral, g/cm ²	0.756 ± 0.169	0.791 ± 0.125	0.806 ± 0.097	.604
Total de cadera, g/cm ²	0.877 ± 0.263	0.899 ± 0.124	0.867 ± 0.066	.882
Trocánter, g/cm ²	0.675 ± 0.201	0.671 ± 0.103	0.645 ± 0.075	.892
Intertrocánter, g/cm ²	0.978 ± 0.246	1.048 ± 0.146	1.012 ± 0.075	.425
Bua, dB/MHz	60.0 ± 21.9	75.0 ± 17.4	74.6 ± 16.7	.602
SOS, m/s	1554 ± 42.2	1556 ± 30.5	1549 ± 24.7	.919
Qui-Stiffness	96.1 ± 25.4	97.7 ± 18.9	94.7 ± 16.2	.949
Caídas en el último año	1 (4.5)	3 (11.1)	1 (16.7)	.510
Fracturas				.274
No fracturas	17 (77.3)	25 (89.3)	5 (71.4)	
Sólo no vertebrales	4 (18.2)	3 (10.7)	1 (14.3)	
Vertebrales	1 (4.5)	0	1 (14.3)	

Longitud de las repeticiones CAG: SS = Ambas copias < 23; SL = sólo una copia < 23; LL = Ambas copias ≥ 23. Los datos son medias ± SD, medianas (IQR), frecuencias (%).

Tabla 13. Subgrupo de mujeres premenopáusicas: clasificación según las longitudes de las repeticiones CAG

	SS N = 22	SL N = 28	LL* N = 6	P
L2-L4, g/cm ²	0.987 (0.019 ; 1.054)	0.980 (0.920 ; 1.041)	0.995 (0.861 ; 1.129)	.978
Cuello femoral, g/cm ²	0.761 (0.708 ; 0.814)	0.773 (0.726 ; 0.819)	0.885 (0.783 ; 0.988)	.100
Total de cadera, g/cm ²	0.882 (0.805 ; 0.958)	0.880 (0.812 ; 0.949)	0.944 (0.792 ; 1.095)	.738
Trocánter, g/cm ²	0.678 (0.619 ; 0.738)	0.656 (0.603 ; 0.709)	0.711 (0.593 ; 0.828)	.676
Intertrocánter, g/cm ²	0.988 (0.912 ; 1.064)	1.026 (0.960 ; 1.092)	1.087 (0.940 ; 1.234)	.463
Bua, dB/MHz	69.4 (60.0 ; 78.7)	74.3 (65.6 ; 83.0)	76.1 (57.1 ; 95.1)	.685
SOS, m/s	1553 (1536 ; 1569)	1556 (1540 ; 1571)	1558 (1524 ; 1592)	.946
Qui-Stiffness	94.4 (83.7 ; 105)	95.9 (86.0 ; 106)	98.1 (76.4 ; 120)	.947

Los datos son medias ajustadas por edad e IMC (IC – 95%)

(*) No se dispone de la determinación del IMC de una mujer

V. DISCUSIÓN

V. DISCUSIÓN

V.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS CASOS

El presente estudio ha sido desarrollado en una muestra de la población de Gran Canaria, tal como ya quedó comentado, con el propósito de evaluar variables concretas de la misma relacionadas con la osteoporosis. La cohorte formada por 371 casos tuvo una distribución asimétrica entre sexos. Si bien se pudiera considerar pequeño el subgrupo de hombres, este fue suficiente para realizar los análisis estadísticos de los resultados, al menos como subgrupo.

Se observó una diferencia estadísticamente significativa en la edad entre ambos sexos, lo que ciertamente dificulta la comparación, dada la conocida influencia que tiene esta variable en la presentación de la osteoporosis^{122,364}, que afecta más a las mujeres. Por esta razón, y excepto el primer análisis descriptivo inicial comparativo, todos los demás se realizaron separadamente por sexos. Indudablemente esta condición de mayor edad en las mujeres condiciona la significación entre los dos subgrupos respecto a valores más bajos en la medición de la DMO, así como mayor número de caídas.

La menor actividad física que encontramos entre ambos sexos tiene gran significación y hay marcadas diferencias entre los grupos. Concuerdan nuestros resultados con lo recogido en la literatura y como se señala³⁶⁵ en un estudio europeo sobre osteoporosis, suele ser debida a la prosperidad socioeconómica. Este es el factor que mejor predice la diferencia de riesgo de osteoporosis entre comunidades, y es un factor importante a considerar en nuestro estudio por las diferencias halladas en otros previos sobre fractura de cadera en Canarias con respecto al resto del país³⁶⁶. Tiene una fuerte relación con el riesgo de fractura³⁶⁷, y constituye el estímulo mecánico para la óptima adaptación de masa, arquitectura y estructura esquelética. Además reduce el riesgo de caídas^{368,369}. De hecho las mujeres sedentarias tienen un riesgo 43% mayor de fracturas de cadera que las más activas³⁷⁰. El abandono del sedentarismo y el fortalecimiento muscular disminuye también el riesgo de fracturas vertebrales^{371,372}.

El tabaquismo es un hallazgo en nuestro estudio con significación estadística entre ambos sexos. Es considerado un factor de riesgo, fundamentalmente por

tener los fumadores menor IMC y actividad física³⁶⁷, así como por reducción de la eficacia de absorción intestinal de calcio³⁷³. En varios metaanálisis el consumo de tabaco se asoció al riesgo de fracturas por fragilidad³⁶¹.

Las caídas, también muestran una diferencia destacable, entre ambos sexos, más del doble en las mujeres de nuestro estudio, y coincide con la literatura, en la que se recoge que el riesgo de las mismas aumenta con la edad y es mayor en mujeres que en hombres ancianos. Aproximadamente un tercio sufrirán una caída, un 5% de ellos tendrán una fractura y un 1% será de cadera³⁷⁴.

En el caso de las fracturas nuestros resultados contradicen los de la literatura pero sobre todo en uno de sus aspectos y es el de las vertebrales, en las que los hombres superan a las mujeres. En la literatura se recoge una incidencia superior al doble en mujeres^{375,376} y un aumento exponencial con la edad³⁷⁻³⁷⁹. Consideramos que este hallazgo se debe a que la cohorte de estudio no fue reclutada para realizar un estudio epidemiológico, por lo que no guarda un equilibrio entre sexos para poder realizar comparaciones. Además estos datos referidos son descriptivos sobre los hallazgos obtenidos.

Los valores de colesterol sérico total y de colesterol LDL³⁸⁰ muestran diferencias significativas estando más elevados en las mujeres. Muchas observaciones han mostrado interrelación entre andrógenos, la distribución de la grasa corporal y la sensibilidad a la insulina, estando involucrados en la regulación del HDL-c^{294,381} y el metabolismo de los triglicéridos^{382,383}. La importancia de la influencia de la T sobre el metabolismo lipídico es señalada por el hecho de que el suplemento de la misma en hombres con hipogonadismo disminuyen los niveles de HDL-c. En hombres normales tratados con dosis suprafisiológicas de T disminuyen los niveles de HDL-c sobre un 20%. Al contrario la supresión de la T endógena aumenta el HDL-c^{384,385}.

Sin embargo, la mayoría de estudios en hombres relacionan descensos de la concentración de T y la combinación con AR de cadenas largas de (CAG)_n, con factores de riesgo cardiovascular, como LDL-c elevado y bajo HDL-c. Esta asociación se ha encontrado que ejerce un efecto de deterioro del perfil metabólico.

En contraste, en un estudio realizado con población de Canarias³⁸⁶ sobre repeticiones (CAG)_n y (GGN)_n y su influencia en dislipemia y resistencia a insulina, encontraron que los hombres mostraban niveles significativamente más bajos HDL-c, pero no así de LDL-c, al contrario que en nuestro caso con el último.

El hallazgo de mayor concentración de FATR en mujeres fue congruente con la mayor actividad de recambio óseo correspondiente a la edad peri- y postmenopáusica, ya descrita en otro capítulo, de la mayoría de las mujeres.

La PTH aumentada en las mujeres, con diferencia significativa, es consistente con el proceso de aumento de recambio óseo en la postmenopausia. La PTH tiene un doble mecanismo que regula la diferenciación osteoblástica mientras inhibe su apoptosis^{387,388}. Simultáneamente, regula la osteoclastogénesis a través de los receptores de ella en los osteoblastos, que modulan un mecanismo paracrino en el que intervienen las efrinas³⁸⁹. En este sentido y sobre un papel en los OC apunta el hecho de que la inhibición de la reabsorción atenúa o suprime el efecto anabolizante de la PTH, lo que se demuestra en ratones *c-fos*^{-/-}, que son osteoporóticos por incapacidad de formación de estas células³⁹⁰. Así en las mujeres postmenopausicas el aumento de PTH estaría en relación con el aumento de remodelación ósea regulado por mecanismos autocrinos y paracrinos locales, además de endocrinos generales. El hecho de que los hombres tengan menor nivel de PTH es consistente con la hipótesis de que la actividad andrógena frene la remodelación ósea que normalmente es atribuida a una actuación a nivel local, aunque también es consistente con la modulación de la secreción de PTH, pues es conocido que la T inhibe y el E estimula la secreción de PTH.

Finalmente la diferencia en beneficio del grupo de hombres observada en la medición de la DMO tanto mediante DXA como QUS es congruente con la diferencia en el proceso normal de pérdida de masa ósea entre sexos. Partimos, salvo excepciones, de una DMO mayor produciéndose una pérdida normal por envejecimiento en ambos. Además en mujeres hay una pérdida acelerada tras la menopausia que se estabiliza e iguala sobre los 65 años, con el varón. Sin embargo, en los hombres persiste un continuo crecimiento perióstico por lo que el tamaño óseo es mayor^{391,392}. En nuestro caso los hombres están en una franja de

edades más bajas que las mujeres por lo que es esperable un resultado como el obtenido.

En cuanto a la toma de medicación sedativa, no encontramos datos para contrastar los referidos por nosotros, no siendo tampoco objeto de este estudio, Destaca, no obstante la diferencia de su toma, entre sexos, mayor en el más vulnerable, dado que pueden favorecer las caídas siendo un factor de riesgo para fracturas reconocido.

V.2 DISTRIBUCIÓN ALÉLICA PARA LOS MICROSATÉLITES (CAG)_N Y

(GGN)_N

Recordamos que la distribución alélica estaba en el equilibrio de Hardy-Weinberg. Esta distribución alélica que obtuvimos en nuestro estudio fue coincidente tanto para (CAG)_n como CGN, con otros autores, si bien la amplitud de las repeticiones difiere ligeramente con la de otras poblaciones estudiadas, aun coincidiendo en ser caucásicas. En ambos sexos las medianas de (CAG)_n y (GGN)_n fueron similares a las recogidas en otras cohortes de las mismas características étnicas^{295,393,394} Además en un ámbito más próximo, son idénticas a las medidas para la población de Gran Canaria³⁸⁶ y para el archipiélago [estudio ENCA]. No obstante es un hecho demostrado que hay diferencias raciales en las longitudes de repetición de (CAG)_n, así se ha descrito que los afro americanos son los que tienen una prevalencia de estas repeticiones más cortas^{260,280,396}. En nuestro caso, se ajusta a longitudes medias con desviaciones en ambos sentidos, propios de nuestra población.

V.3 ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE ALELOS (CAG)_N, (GGN)_N Y

OSTEOPOROSIS

El análisis inicial reprodujo la estructura de estudios previos en los que se categorizan los casos atendiendo a la mediana de la distribución de las longitudes de repetición de los microsatélites en la población estudiada. Se forman así dos

categorías, aquellas con alelos cortos (s) o largos (l) de $(CAG)_n$ y $(GGN)_n$, según sean inferiores o superiores las repeticiones al punto de corte. Esta metodología de clasificación es la habitual que encontramos en los estudios revisados. Con este modelo de categorización no obtuvimos ninguna asociación entre los subgrupos de individuos S ó L, de los alelos de $(CAG)_n$ o de $(GGN)_n$ y las variables relacionadas con osteoporosis. Estos resultados coinciden con los de otros autores que revelan que no hay efecto de los polimorfismos sobre masa ósea o el riesgo de fracturas^{344,398,399}, pero difieren de otros estudios que indican que secuencias largas de repetición $(CAG)_n$ han mostrado asociación con reducción de la masa ósea en ambos sexos^{318,324,326,343,397}. Así, Langdahl et al.³²⁶ realizaron un estudio con 284 pacientes osteoporóticos con fracturas vertebrales con una distribución entre sexos aproximado al nuestro, 226 mujeres y 58 hombres en el grupo de casos. Obtuvieron que un 54,8% de ellas tenían una media de repeticiones de 21 y mayores, encontrando al analizar que tanto la media como la longitud de los alelos largos eran predictores significativos de fracturas osteoporóticas en mujeres. Encontraron que la longitud de los alelos se correlacionaba negativamente con la DMO en columna lumbar y cuello femoral, aunque no en hombres. En estos, al contrario, la correlación era positiva con la longitud de repeticiones de $(CAG)_n$ en columna lumbar, cuello femoral y en total de cadera, pero no era predictor de fracturas osteoporóticas. Esto contrasta con el estudio de Zitzmann et al.³⁴³, en hombres de raza blanca, en el que hallaron correlación inversa de las repeticiones largas, mayores de 21 con la DMO, asociándose con menor DMO falángica, mayor recambio óseo y pérdida ósea aumentada. Aún más curioso resulta la ausencia de asociación entre los polimorfismos de AR y la DMO encontrado en un estudio en hombres finlandeses de Remes et al.³⁹⁹, así como en otro de Van Pottelbergh et al.³⁴⁴ sobre una cohorte de hombres mayores de 70 años. El último no halló asociación entre polimorfismo y DMO, marcadores bioquímicos o de metabolismo óseo, como en nuestro caso.

En cuanto a las repeticiones del $(GGN)_n$ cabe señalar que no ha sido asociado a enfermedades dependientes de andrógenos^{400,401}, aunque es cierto que se ha establecido una relación negativa entre sus repeticiones y la producción de proteína AR⁴⁰¹. Realmente su relación con el metabolismo óseo parece ser muy

pobre. Queda esto patente en un estudio en hombres jóvenes, sobre masas ósea y polimorfismos de (CAG)_n y (GGN)_n, realizado con población de Gran Canaria (España), por Guadalupe-Grau et al. (2010)³²⁸, en el que al considerar los polimorfismos separadamente no encuentran asociación entre la longitud de estos y la DMO, aún ajustándolos por edad y altura. Esto coincide con lo observado en nuestro estudio donde tampoco obtuvimos asociación ni en mujeres ni en hombres.

Si bien consideramos nuestros hallazgos, somos también conscientes de que estudios previos sobre esta cuestión han generado resultados contradictorios^{342,398,402,403}. Serían precisos futuros estudios, de diseño más homogéneo, comparables, para poder clarificar esta cuestión. Otro aspecto a considerar sería la posible interacción de los polimorfismos de las repeticiones de (CAG)_n y (GGN)_n en dichos estudios.

En las mujeres, y ciñéndonos a las repeticiones (CAG)_n, resulta igualmente controvertido, toda vez que los polimorfismos se ven duplicados dándose tres posibles combinaciones, según las dos longitudes de repeticiones de cada microsatélite, obtenida según la convención antes mencionada.

En el estudio de Langdahl, como próximo al nuestro, encuentra que las que tienen genotipo homocigoto SS muestran mayor DMO en todas las zonas medidas, aunque las diferencias fueron significativas solo en columna. El análisis por regresión lineal indico que la longitud de los alelos largos esta negativamente correlacionado con la DMO en columna lumbar y cuello femoral. Este mismo hallazgo tuvieron Sowers et al.³²⁴ en un estudio en mujeres peri y premenopáusicas. Una diferencia del primero con el nuestro es el punto de corte elegido para las cadenas, dado que ellos utilizan las 20 repeticiones para definir las cadenas cortas, lo que en nuestro caso fue de 23, como en el estudio de Yamada et al.³⁵⁶. Esto confirma nuestros datos al coincidir la longitud de las cadenas largas, con las de ambos, y no mostrar el efecto de disminución de DMO en el grupo de mujeres totales.

Refiere, el último, que la DMO en todas las zonas fue inferior, en aquellas con repeticiones por encima de la media pero no significativamente. Además describen que la DMO en columna lumbar tiene tendencia a disminuir en grupos

combinados de mujeres con genotipos SL y LL o en las SL frente a las SS, aunque de forma no significativa. Coincidimos en la falta de significación pero nuestros resultados no muestran tal tendencia, sino la contraria en esta localización, tanto en el grupo total de mujeres como solo en postmenopáusicas.

En un estudio, finlandés, sobre mujeres perimenopáusicas sanas, no han podido demostrar asociación entre estos polimorfismos y la masa ósea. Cabría pensar que pueden existir diferencias entre grupos étnicos y geográficas en las repeticiones de $(CAG)_n$ y, por tanto, en la presentación de los diferentes genotipos que puedan justificar las discordancias. Otra cuestión a considerar es la influencia de otros factores que juegan un papel importante en el metabolismo óseo y a la vez variable en función de la etapa de la vida. Este hecho queda además reafirmado por estudios epidemiológicos que demuestran el efecto de los andrógenos en mujeres adolescentes y premenopáusicas^{404,405}.

Un aspecto a considerar es el del IMC, como factor de riesgo sobre las fracturas osteoporóticas que es, y su relación con los diferentes genotipos para el AR. En nuestro estudio no muestra diferencias significativas entre los diferentes genotipos $(CAG)_n$ o $(GGN)_n$, primero en el grupo total de mujeres, posteriormente en las postmenopáusicas y finalmente dentro de estas entre las que son osteoporóticas y las que no. Sin embargo se aprecia una tendencia al crecimiento del IMC tanto en hombres como mujeres hacia los genotipos LL, tanto de $(CAG)_n$ como $(GGN)_n$.

Coinciden los datos de las mujeres con lo referido por otros autores, si bien en el caso de Yamada lo refiere como peso y altura separados, no habiendo cambios en el primero.

Entre la mujeres postmenopáusicas osteoporóticas y no, de nuestro trabajo, hay diferencia significativa, siendo el IMC de las segundas mayor, lo que pudiera considerarse esperable considerando la pérdida de masa ósea, si ya no también muscular, etc. No muestran diferencias en la edad.

Como referencia sobre datos de nuestra población valgan los referidos por González et al.⁴⁰⁶, sobre una cohorte de 1.580 individuos reclutados para el estudio "CDC de Canarias"^{407,408} realizado entre el año 2000 y 2005. La componían 900 mujeres y 680 hombres, entre 18 y 75 años, reclutados de la

población general de las Islas Canarias (España). Recoge este autor IMC mayores para ambos sexos, dentro de las características antropométricas basales, pero con predominio de las mujeres, mostrando diferencia significativa. En este trabajo la edad de las mujeres es muy inferior al del nuestro, mientras los hombres son ligeramente más jóvenes. Quizás se deba a esto la diferencia en los datos, entre ambos, además del aumento de peso y grasas corporal en las mujeres postmenopáusicas.

V.4 ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE ALELOS (CAG)_N Y DMO EN MUJERES POSTMENOPÁUSICAS

V.4.1 ANÁLISIS MEDIANTE DICOTOMIZACIÓN DE LAS FRECUENCIAS DE (CAG)_N

Ya se ha comentado que todas las células de las mujeres sufren la inactivación de uno de los cromosomas X y habitualmente se considera un proceso aleatorio, aunque ocurren inactivaciones sesgadas o asimétricas, lo que parece ser un carácter heredado, ligado a un loci de este cromosoma⁴⁰⁹⁻⁴¹¹. Estas inactivaciones asimétricas se definen como la inactivación del mismo alelo en más del 80% de las células inactivadas^{409,412}. Sobre este proceso, Calvo et al. han realizado un estudio en 54 mujeres con hirsutismo y 13 controles normales hallando que la frecuencia de asimetría era similar en ambos grupos y además que tanto las repeticiones cortas como las largas estaban sujetas a inactivación asimétrica con la misma frecuencia. Sin embargo, Vottero et al.⁴¹³, estudiando un proceso similar llegan a resultados diferentes, con un 69% de pacientes que mostraban asimetría, con inactivación de los cromosomas con cadenas largas, suponiendo un predominio de acción de los AR con repeticiones cortas. La metodología utilizada en ambos estudios es esencialmente la misma.

Calvo et al. aportan un razonamiento, a tener en cuenta, para la valoración de sus resultados y es que la inactivación del cromosoma X se realiza a partir de ADN obtenido de células mononucleares sanguíneas, por lo que consideran que existe

la posibilidad de que el patrón de inactivación en los tejidos sea diferente, tal vez específico de cada tejido.

Estos dos estudios mencionados valoran individualmente el número de repeticiones en cada alelo, considerando aquellos pocos casos (10) en que coinciden el mismo número de repeticiones como 2 alelos.

En nuestra población, el subgrupo de mujeres totales presentó heterocigocia (SL) en un 47,8% (152 casos) y el de postmenopáusicas exclusivamente un 47,5% (134), como diferencia con los dos estudios anteriores, además del tipo de población, edad y patologías subyacente.

V.4.2 MEJORA DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En los problemas de regresión, el efecto de una variable X sobre otra Y **son en general no lineales**. En la figura 22.1 podemos observar como evoluciona la DMO en la zona lumbar (Y) a lo largo de las edades (X). El marcador Y presenta una leve caída que se acelera en el climaterio para luego estabilizarse a partir de los 60 años. En la figura 25.1 pueden verse claramente otros efectos no lineales sobre la DMO en zona lumbar.

Tal como señalan Hastie et al (2009, pg 139) (sic), la representación de los datos por un modelo lineal es normalmente una conveniencia, y algunas veces una necesaria aproximación. Algunas veces necesaria, porque con pequeños tamaños muestrales y número de parámetros elevado, el modelo lineal puede ser capaz de ajustar el modelo sin sobreajuste. Este no es desde luego nuestro caso, donde, el número de mujeres incluidas en el modelo fue de 310 siendo el de las postmenopáusicas de 263. Además el número de variables introducidas en el modelo es sólo de tres (Edad, IMC, media ponderada de repeticiones $(CAG)_n$).

Yamada et al (2005) ajustan la DMO en zona lumbar frente al número medio de repeticiones $(CAG)_n$ en mujeres pre-menopáusicas por un modelo lineal. Una inspección visual de los datos sugiere que a partir de una media de repeticiones CAG de 25, la DMO se estabiliza. Hubiese sido interesante explorar el modo en el que realmente influye este número medio de repeticiones sobre la DMO lumbar.

Los modelos aditivos son una herramienta indispensable para un tratamiento en profundidad de las eventuales faltas de linealidad en los modelos de regresión (en realidad, lo más frecuente). Estos modelos exploran el modo en el que una variable independiente X , se asocia con la dependiente Y , pudiendo ser la solución en algunos casos lineal. En las figuras 22 y 25 pueden observarse que algunos efectos son lineales, pero ello no fue impuesto en el modelo, sino que se reveló como la solución óptima. En otros casos, los efectos son claramente lineales y en la mayoría, son efectos no lineales que discrepan levemente de la normalidad.

Otra cuestión de debate interesante es la forma en la que deben resumirse los números de repeticiones $(CAG)_n$ obtenidos de las dos copias del gen RA. ¿Por qué se impone que sea la media aritmética? ¿No podría ocurrir acaso que la proteína que intervenga en el proceso de formación-destrucción del hueso sea sólo la que tiene el mayor número de repeticiones? ¿O que sea una media en la que una tenga un mayor peso que la otra?

En los problemas en los que se evalúa la asociación del síndrome metabólico con la presión arterial, ambas tensiones (sistólica y diastólica) se promedian asignándole doble peso a la diastólica (media ponderada).

Nosotros hemos analizado el efecto de las repeticiones $(CAG)_n$ en mujeres mediante medias ponderadas, pero sin presuponer ningún valor a priori para el coeficiente de ponderación q . Hemos seleccionado aquel que lleva a la máxima asociación (mínimo p -valor) con la DMO correspondiente (lumbar, cuello femoral, cadera, trocánter e intertrocánter).

En realidad, este proceso tiene similitudes con los procedimientos clásicos de selección de variables en los problemas de regresión. Entre un conjunto de variables candidatas a ser introducidas en el modelo, seleccionamos aquella que mantiene la máxima asociación con la variable de respuesta (endpoint).

En la figura 24 puede verse una clara asociación entre la DMO en cadera con las repeticiones $(CAG)_n$ ($p = 0.037$) ajustada por edad e IMC. Nótese que el coeficiente de ponderación óptimo es $q = 0$ (ello supone que la mejor media ponderada es la que le asigna todo el peso a la proteína que tiene el mayor

número de repeticiones $(CAG)_n$). Si hubiésemos simplificado el problema mediante la media aritmética ordinaria ($q = 1/2$), el p-valor hubiese sido $p = 0.2$; esto es no se hubiese detectado el papel de estas proteínas en el sistema de variables implicadas en el metabolismo óseo. ¿Será tal vez por esto por lo que Yamada et al no han encontrado asociaciones entre la DMO y las referidas repeticiones $(CAG)_n$ en las mujeres postmenopásicas.

Cabe añadir por otra parte que las categorizaciones de estas variables que conducen a los genotipos SS, SL y LL podrían constituir una excesiva simplificación del problema. Habiendo sido esa aproximación la aplicada en anteriores estudios de nuestro grupo, es probable que nos hayan pasado desapercibidas asociaciones sutiles, pero importantes, entre las variables objeto de estudio, que probablemente emergerán tras el reanálisis de nuestros datos con la nueva metodología aquí introducida.

V.4.3 ANÁLISIS MEDIANTE MEDIAS PONDERADAS DE LOS ALELOS $(CAG)_N$ DE CADA INDIVIDUO, Y APLICACIÓN DE LOS MODELOS ADITIVOS.

Aceptando la validez de la dicotomización en cadenas largas y cortas, a partir de la mediana de la distribución de las longitudes de repetición, y con los anteriores datos, nos planteamos que para cada mujer hay dos posibles combinaciones de longitud de repetición de $(CAG)_n$, aún siendo homocigóticas. Esto nos suscito la duda de cuál de las repeticiones o en qué medida la longitud de las mismas tenía mayor influencia (mejor asociación) sobre ciertas variables de osteoporosis estudiadas por nosotros. Igualmente nos sugirió la incógnita de cuál sería la probabilidad de osteoporosis de las mismas en mujeres postmenopausicas.

Hallamos, para esta finalidad, la media ponderada de las longitudes, para cada sujeto del estudio, según un factor q que mostraba la mejor asociación de estas con el p valor. Así, el factor de ponderación q permite explorar tentativamente el peso relativo de ambos alelos sobre una variable determinada. Por el método de los modelos aditivos, descrito en el capítulo correspondiente, obtuvimos las eventuales asociaciones entre las variables estudiadas con las dos longitudes del

alelo $(CAG)_n$ en cada mujer, representadas además en las gráficas correspondientes.

Aplicando este planteamiento y este método a la longitud de las cadenas $(CAG)_n$, y analizando su asociación con DXA y QUS en columna lumbar, total de cadera trocánter e intertrocánter hemos obtenido resultados que no se mostraban con los modelos previos de categorización de las variables y distribución de los individuos en subgrupos de longitudes SS, SL y LL de alelos de $(CAG)_n$.

En el grupo total de mujeres, el análisis mediante modelos aditivos muestra la mejor asociación significativa entre la longitud de las cadenas $(CAG)_n$ y la DMO en total de cadera, intertrocánter y a continuación en trocánter. No obtuvimos asociación significativa para columna lumbar. Esto se puede apreciar en las gráficas donde el factor de ponderación q llega a valores de p iguales o próximos a cero (<0.05).

Además ajustado para la edad, IMC y longitud de las cadenas $(CAG)_n$ se puede comprobar que las representaciones de las funciones del efecto de las medias ponderadas sobre estos siguen la misma tendencia lineal. La única excepción se da al estudiar el efecto de la edad en columna lumbar, donde se muestra un decrecimiento hasta los 65 años, aproximadamente, en que se estabiliza. En todas las demás localizaciones se aprecia un descenso con gran inclinación con el incremento de años. Además la DMO aumenta con una pendiente acusada creciente a medida que el IMC se hace mayor.

Lo más destacable es que todo esto sucede mientras se muestra el aumento significativo de la DMO a medida que crece el número de repeticiones, de forma lineal también, aunque más suavemente que en el caso del IMC.

Estos resultados son significativos en las tres localizaciones indicadas, trocánter ($p=0.025$), intertrocánter ($p=0.049$) y en total de cadera $p=0.051$). En columna lumbar muestra tendencia creciente pero no llega a la significación de $P<0,05$. Todo lo anterior nos orienta a que, contrariamente a lo encontrado en la literatura, ya expuesto, las cadenas largas de $(CAG)_n$ tienen un efecto positivo sobre la DMO en dichas localizaciones.

Estos análisis fueron repetidos en el grupo de mujeres postmenopáusicas, tanto con el planteamiento clásico de categorización de longitudes por la media, como con el nuevo método diseñado por nosotros de medias ponderadas y modelos aditivos.

Con el planteamiento clásico hallamos asociación prácticamente significativa ($p=0.57$) para el IMC, apreciando que curiosamente son las homocigóticas LL las que mayor lo presentan. Este hallazgo no concuerda con los referidos por Yamada et al.³⁵⁶ en mujeres japonesa en las que no encuentra diferencias o incluso con las de González et al.⁴⁰⁶ que tampoco las recoge para nuestra población.

Con el método de medias ponderada y modelos aditivos hallamos, de nuevo, que los resultados en mujeres postmenopáusicas son superponibles aunque con asociación más fuerte, y mejor significación para trocánter ($p=0.006$) y total de cadera ($p=0.034$). Aumenta ligeramente en columna lumbar ($p=0.08$) y es casi significativo en intertrocanter ($p=0.066$).

Las gráficas indican que en modelos aditivos la edad se comporta de forma similar en el subgrupo de mujeres postmenopáusicas que en el conjunto total de mujeres, excepto en columna lumbar, donde hay escasa variación con la edad, y el IMC en la misma localización donde no es linealmente creciente.

Para las restantes localizaciones demuestran nuevamente la misma tendencia.

Una vez más debemos reafirmar nuestra convicción en la certeza y corrección sobre lo antes referido basándonos en el hecho de que seleccionando aún más el grupo los resultados confirman la asociación, que defendemos, entre la DMO y las cadenas largas y además que cuanto más largas mayor efecto, aunque, eso sí, suave.

En cambio, el estudio realizado con las mujeres premenopáusicas no fue posible encontrar más que tendencias en las principales variables, sin resultados realmente significativos. Probablemente es debido a que el número de mujeres premenopáusicas estudiado ($N=57$) fue insuficiente. Pero las tendencias encontradas en ese grupo, y la importancia de los hallazgos para mujeres

menopáusicas avalan la realización de un estudio más amplio en mujeres premenopáusicas.

Esta forma de estudiar la influencia de los alelos supone un enfoque diferente, ya que valora el peso del número de repeticiones de los microsatélites $(CAG)_n$, en ambas copias del gen que codifica el AR (uno en cada cromosoma X), y su combinación en cada individuo, así como el comportamiento frente a unas variables relacionadas con la osteoporosis, y medidas por nosotros.

Consideramos, pues, que este estudio hace gala de una metodología novedosa, no descrita previamente en otros estudios referidos a la influencia de los alelos $(CAG)_n$ y $(GGN)_n$ en el ser humano. Procediendo de ese modo ha sido posible desvelar las sutilezas en la influencia de éstos alelos en las variables relacionadas con la osteoporosis, que no se habían podido poner de manifiesto usando aproximaciones menos refinadas.

V.5 ANÁLISIS DE LAS REPETICIONES $(CAG)_N$ SOBRE LA OSTEOPOROSIS

Convencidos de la certeza de nuestros resultados, realizamos un análisis en este mismo grupo de mujeres postmenopáusicas, buscando posible asociación de diferentes variables con la probabilidad de osteoporosis. Las clasificamos en dos subgrupos según tuvieran o no osteoporosis, de acuerdo a los criterios de la OMS para definir esta enfermedad.

Hallamos asociación significativa con dos variables el IMC y las fracturas. Para las longitudes de repetición no hallamos asociación muestra significación, incluso analizando por separado la repetición larga de $(CAG)_n$, lo que contrasta con lo referido y ya comentado de otros autores.

El IMC era mayor en el subgrupo de las no osteoporóticas, lo que por otra parte era esperable, por razones que ya comentamos anteriormente, en mujeres con mayor DMO, entre otras cuestiones. Por otra parte la mayor incidencia de fracturas y menor de no fracturas, en las osteoporóticas, significativamente, corresponde con las consecuencias características de esta enfermedad.

Con nuestro planteamiento innovador de las medias ponderadas obtuvimos un coeficiente de ponderación ($q=0,61$) que nos informaba sobre la influencia mixta de ambas cadenas. Sin embargo el modelo logístico aditivo mostró significación de las tres variables, edad, IMC y repeticiones $(CAG)_n$. De ellas fue la edad la que mostró una asociación más fuerte, pero tanto la edad como el IMC tienen asociación significativa con la osteoporosis y muestran una correlación con función lineal.

Las repeticiones de $(CAG)_n$ muestran una función no lineal en relación con la osteoporosis, pero descendente en relación con el aumento del número de repeticiones o dicho de otra forma, con la mayor longitud de las cadenas.

Interpretamos que nuestro modelo de análisis es coincidente y confirma su validez cuanto más seleccionamos la muestra. Así mismo, podemos afirmar que la longitud de repetición de $(CAG)_n$ tiene una correlación inversa con la probabilidad de osteoporosis y que la mayor longitud de repeticiones supone un factor protector frente a la misma.

V.6 ¿QUÉ VALIDEZ TIENEN LOS HALLAZGOS DE ESTA TESIS?

Estudios realizados con construcciones genéticas en los que artificialmente se han fijado longitudes variables de repeticiones de $(CAG)_n$ han sustentado la hipótesis, generalmente aceptada, de que menores longitudes de $(CAG)_n$ conducen a expresiones más potentes de los genes regulados por andrógenos.

Ello se debe a que los trectos repetitivos de poliglutamina (codificados por las repeticiones del triplete CAG) se encuentran en la región de la proteína AR que interactúa con los factores de transcripción requeridos para la expresión de los genes dependientes de AR. Cuanto mayor sea el tracto poliglutamina, más dificultosa es la interacción del AR con los factores de transcripción, y menor la intensidad de la transcripción de los genes regulados por AR.

En resultados previos de nuestro grupo de investigación hemos encontrado que esta hipótesis es esencialmente correcta. Además hemos descrito repetidamente que la hipótesis se cumple generalmente mejor en mujeres que en hombres. Este

hallazgo lo hemos atribuido a que quizás el efecto de los tractos cortos de poliglutamina (menor longitud de $(CAG)_n$) es más potente cuanto menor la concentración de andrógenos

Pero al estudiar la influencia de los alelos del gen del AR sobre las variables de la osteoporosis nos encontramos con bastantes dificultades para interpretar los hechos descritos a la luz de la hipótesis de la hiperandrogenicidad de los tractos cortos de $(CAG)_n$.

En primer lugar, debemos tener en cuenta que los efectos que describimos son directamente atribuibles a los andrógenos y a su receptor. Sin embargo, la mayor parte de la evidencia disponible de efectos de andrógenos sobre la osteoporosis se refiere a andrógenos y hueso, y pueden ser debidos, al menos en parte, a la aromatización de andrógenos a estrógenos, y actuación a través del ER, y no a la acción directa de los andrógenos a través del AR.

En segundo lugar, los modelos experimentales realizados con constructos génicos de variable longitud de los tractos $(CAG)_n$ se refieren a efectos agudos sobre expresión de genes dependientes de andrógenos en modelos celulares. No existen modelos experimentales aplicables a efectos a muy largo plazo de las diferentes longitudes de $(CAG)_n$, y presumiblemente no los habrá en mucho tiempo.

Por tanto, debemos considerar que la evidencia experimental disponible sobre los efectos de las longitudes de $(CAG)_n$ sobre variables fisiopatológicas no es aplicable directamente a fenómenos como la osteoporosis, que además de ser fenómenos que ocurren a larguísimo plazo, son definitivamente multifactoriales en su origen.

No podemos criticar ni descalificar los métodos y planteamientos utilizados por otros autores, puesto que son correctos, y nuestro propio grupo de investigación los ha usado en muchos estudios. Pero interpretamos que el modelo clásico de análisis de categorización de los alelos por la media pierde sensibilidad al discriminar menos y no considerar la amplitud de la variabilidad del efecto de las combinaciones de longitudes.

Coincidimos con algunos autores en que dadas las diferencias étnicas de longitudes de repetición, así como otras influencias genéticas o ambientales sobre la DMO, es importante examinar la relación de los polimorfismos de repetición de $(CAG)_n$ del AR sobre ésta en cada grupo étnico. Para ello debemos añadir que es importante utilizar modelos y métodos estadísticos más sensibles y con mayor capacidad de discriminación.

Un estudio previo de la etnicidad de la población canaria reveló que es esencialmente caucásica, con un componente africano inferior al 5% y la ausencia de componente asiático. Por tanto entendemos que la validez de nuestras conclusiones es aplicable a las poblaciones caucásicas.

Nosotros debemos afirmar que consideramos que hemos demostrado que las longitudes largas y, dentro de ellas, las más largas de repeticiones de microsatelites $(CAG)_n$ en el gen que codifica el receptor de andrógeno tienen menor asociación con la probabilidad de osteoporosis y que, por tanto, producen un efecto protector sobre la misma en las poblaciones caucásicas.

VI. CONCLUSIONES

VI. Conclusiones

Los estudios llevados a cabo sobre los parámetros antropométricos, de diagnóstico del metabolismo óseo, de DMO y sobre los microsatélites situados en el gen *AR*, analizados mediante un enfoque novedoso, y descritos en esta memoria nos permiten concluir lo siguiente:

1. La población por nosotros estudiada presenta valores similares y superponibles a la población general de Canarias y otras caucásicas de diversas localizaciones, en los parámetros de estudio de osteoporosis.
2. La densidad mineral ósea (DMO) fue mayor en hombres concordando con la evolución descrita para la osteoporosis, para ambos sexos.
3. Las distribuciones de frecuencias alélicas para los microsatélites (CAG)_n y (GGN)_n del gen del receptor de andrógenos (AR) observadas entre los participantes de este estudio fueron similares a las halladas en otras poblaciones caucásicas y, en particular, con frecuencias descritas para otras poblaciones estudiadas Canarias.
4. La variabilidad de los microsatélites (CAG)_n fue superior a la de los (GGN)_n, tanto en hombres como en mujeres.
5. Los microsatélites (GGN)_n no han mostrado asociación con la densidad mineral ósea ni con la probabilidad de osteoporosis, por lo que coincidimos con otros autores en que tienen escasa relevancia en el metabolismo óseo, así como sobre la aparición y desarrollo de la osteoporosis.
6. Las mujeres con repeticiones más largas del microsatélite (CAG)_n del gen RA presentaron una densidad mineral ósea más elevada en las mediciones de total de cadera, trocánter e intertrocanter. Este efecto es menor en la columna lumbar, y no parece afectar al cuello femoral. Esta observación sugiere que las cadenas más largas de (CAG)_n favorecen la conservación regional de masa ósea en la cadera.
7. En las mujeres menopáusicas, de la población estudiada, pudimos demostrar la existencia de una correlación inversa entre el número de

repeticiones del triplete (CAG) n y la probabilidad de desarrollar osteoporosis. Esto sugiere un efecto protector de las repeticiones largas del microsatélite (CAG) n del gen AR sobre la osteoporosis en mujeres caucásicas menopáusicas.

VII. BIBLIOGRAFÍA

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Albright F., Reifenstein E.C. The parathyroid glands and metabolic bone disease; selected studies. Baltimore, Williams & Wilkins. 1948.
2. NIH consensus panel. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. Am J Med. 1993; 94: 646-50.
3. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention Diagnosis and Therapy. JAMA. 2001; 285: 785-95.
4. Recker R.R., Barger-Lux M.J. The elusive concept of bone quality. Curr Osteoporos Rep. 2004; 2(3):97-100.
5. Hadjidakis D.J., Androulakis I.I. Bone remodeling. Ann N Y Acad Sci. 2006; 1092:385-96.
6. Martin T.J., Seeman E. Bone remodelling: its local regulation and the emergence of bone fragility. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2008; 22:701-22.
7. González Macías J., Olmos Martínez J.M. Fisiopatología de la osteoporosis y mecanismo de acción de la PTH. Rev Osteoporos Metab Miner. 2010; 2 (Supl 2): 05-17
8. Lane N.E., Yao W. Developments in the scientific understanding of osteoporosis. Arthritis Res Ther. 2009; 11:228.
9. Mora S., Gilsanz V. Establishment of peak bone mass. Endocrinol Metab Clin North Am. 2003; 32:39-63.
10. Hadjidakis D.J., Androulakis I.I. Bone remodeling. Ann N Y Acad Sci. 2006; 1092:385-96.
11. González Macías J., Olmos Martínez J.M. Fisiopatología de la osteoporosis y mecanismo de acción de la PTH. Rev Osteoporos Metab Miner. 2010; 2:5-17.
12. Buckwalter J.A., Glimcher M.J., Cooper R.R., Recker R. Bone biology. II: Formation, form, modeling, remodeling, and regulation of cell function. Instr Course Lect. 1996; 45:387-99.

13. Kular J., Tickner J., Chim S.M., Xu J. An overview of the regulation of bone remodelling at the cellular level. *Clin Biochem.* 2012; 45(12):863–73.
14. Eriksen E.F., Gundersen H.J., Melsen F., Mosekilde L. Reconstruction of the formative site in iliac trabecular bone in 20 normal individuals employing a kinetic model for matrix and mineral apposition. *Metab Bone Dis Relat Res.* 1984; 5:243–52.
15. Eriksen E.F., Melsen F., Mosekilde L. Reconstruction of the resorptive site in iliac trabecular bone: a kinetic model for bone resorption in 20 normal individuals. *Metab Bone Dis Relat Res.* 1984; 5:235–42.
16. Seeman E. Bone modeling and remodeling. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2009; 19:219-33.
17. Hattner R., Epker B.N. & Frost H.M. Suggested sequential mode of control of changes in cell behavior in adult bone remodelling. *Nature.* 1965; 206(983): 489–490.
18. Parfitt A.M., Travers R., Rauch F. et al. Structural and cellular changes during bone growth in healthy children. *Bone.* 2000; 27(4): 487–494.
19. Orwoll E.S. Toward an expanded understanding of the role of the periosteum in skeletal health. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2003; 18(6): 949–954.
20. Suda T., Takahashi N., Udagawa N., Jimi E., Gillespie M.T., Martin T.J. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocr Rev.* 1999; 20:345–57.
21. Li Z., Kong K., Qi W. Osteoclast and its roles in calcium metabolism and bone development and remodeling. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006; 343:345–50.
22. Väänänen H.K, Zhao H. Osteoclast function: biology and mechanisms En: Bilezikian J.P., Raisz L.G., Martin T.J. *Principles of Bone Biology (Third Edition)*. Filadelfia: Elsevier Inc; 2008; p:193-209.

23. Raggatt LJ, Partridge NC. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. *J Biol Chem.* 2010; 285: 25103–8.
24. Koichi Matsuo, Naoko Irie. Osteoclast–osteoblast communication. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 2008; 473(2): 201–9
25. Seeman E. Modelling and remodelling. En: Bilezikian J, Raisz LG, Martin TJ, editores. *Principles of bone biology (Third Edition).* Filadelfia: Elsevier Inc. 2008; p.3-28.
26. Kraft-Terry S.D., Gendelman H.E. Proteomic biosignatures for monocyte-macrophage differentiation. *Cell Immunol.* 2011; 271:239-55.
27. Edwards J.R., Mundy G.R. Advances in osteoclast biology: old findings and new insights from mouse models. *Nature Reviews Rheumatology.* 2011; 235-43.
28. Yasuda H., Shima N., Nakagawa N., Yamaguchi K., Kinosaki M., Mochizuki S., et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and identical to TRANCE/RANKL, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998; 95(7): 3597-602.
29. Lacey D.L., Timms E., Tan H.L., Kelley M.J., Dunstan C.R., Burgess T., et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. 1998; 93(2):165-76.
30. Felix R., Hofstetter W., Wetterwald A., Cecchini M.G., Fleisch H.A. Role of colony-stimulating factor-1 in bone metabolism. *J Cell Biochem* 1994; 55:340–9.
31. Hodge J.M., Kirkland M.A., Nicholson G.C. Multiple roles of m-csf in human osteoclastogenesis. *J Cell Biochem* 2007; 102:759–68.
32. Kular J., Tickner, Chim S.M., Xu J. An overview of the regulation of bone remodelling at the cellular level. *Clinical Biochemistry.* 2012; 45(12): 863–73.
33. Burgess T.L., Qian Y., Kaufman S., Ring B.D., Van G., Capparelli C., et al. The ligand for osteoprotegerin (opgl) directly activates mature osteoclasts. *J Cell Biol.* 1999; 145:527.

34. Mizuno A., Amizuka N., Irie K., Murakami A., Fujise N., Kanno T., et al. Severe osteoporosis in mice lacking osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998; 247:610–5.
35. Kobayashi Y., Udagawa N., Takahashi N. Action of RANKL and OPG for osteoclastogenesis. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2009; 19:61-72.
36. Simonet W.S., Lacey D.L., Dunstan C.R., Kelley M., Chang M.S., Lüthy R., et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell.* 1997; 89:309–19.
37. Kostenuik P., Shalhoub V. Osteoprotegerin: a physiological and pharmacological inhibitor of bone resorption. *Curr Pharm Des.* 2001; 7:613–35.
38. Darnay B.G., Ni J., Moore P.A., Aggarwal B.B. Activation of nf-kb by rank requires tumor necrosis factor receptor-associated factor (traf) 6 and nf-kb-inducing kinase. *J Biol Chem.* 1999; 274:7724–31.
39. Weilbaecher K. N., Guise T.A., McCauley L.K. Cancer to bone: a fatal attraction. *Nature Reviews Cancer.* 2011; 11:411-25.
40. Takayanagi H., Kim S., Koga T., Nishina H., Isshiki M., Yoshida H., et al. Induction and activation of the transcription factor nfatc1 (nfat2) integrate rankl signaling in terminal differentiation of osteoclasts. *Dev Cell.* 2002; 3:889–901.
41. Koga T., Inui M., Inoue K., Kim S., Suematsu A., Kobayashi E., et al. Costimulatory signals mediated by the itam motif cooperate with rankl for bone homeostasis. *Nature.* 2004; 428:758–63.
42. Ang E.S.M., Zhang P., Steer J.H., Tan J.W.Y., Yip K., Zheng M.H., et al. Calcium/calmodulin-dependent kinase activity is required for efficient induction of osteoclast differentiation and bone resorption by receptor activator of nuclear factor kappa b ligand (rankl). *J Cell Physiol.* 2007; 212:787–95.
43. Sato K, Suematsu A, Nakashima T, Takemoto-Kimura S, Aoki K, Morishita Y, et al. Regulation of osteoclast differentiation and function by the camk-creb pathway. *Nat Med.* 2006; 12:1410–6.
44. Teitelbaum S.L. Bone resorption by osteoclasts. *Science.* 2000; 289:1504-8.

45. Roodman G.D. Advances in bone biology: the osteoclast, *Endocr.* 1996; 17(4): 308–32.
46. Boskey A.L. Biomineralization: conflicts, challenges, and opportunities, *J. Cell. Biochem.* 1998; 72 (30-31): 83–91.
47. Väänänen K., Zhao H., Osteoclast function, in: Bilezikian J.P, Raisz L.G., Rodan G.A. (Eds.), *Principles of Bone Biology*, second ed., Academic Press, San Diego. 2002, pp. 127–39.
48. Väänänen H.K., Horton M. The osteoclast clear zone is a specialized cell-extracellular matrix adhesion structure. *J Cell Sci.*1995; 108:2729–32.
49. Arboleya L., Castañeda S. Osteoclastos: mucho más que células remodeladoras del hueso. *Rev Osteoporos Metab Miner.* 2014; 6 (4):109-21.
50. Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C., Jaiswal R.K., Douglas R., Mosca J.D., et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science.* 1999; 284: 143–7.
51. Dennis J.E., Merriam A., Awadallah A., Yoo J.U., Johnstone B., Caplan A.I. A quadripotential mesenchymal progenitor cell isolated from the marrow of an adult mouse. *J Bone Miner Res.* 1999; 14:700–9.
52. Lynch M.P., Capparelli C., Stein J.L., Stein G.S., Lian J.B. Apoptosis during bone-like tissue development in vitro. *J Cell Biochem.* 1998; 68:31–49.
53. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008; 3: 131–9.
54. Anderson H. Matrix vesicles and calcification. *Curr Rheumatol Rep.* 2003; 5: 222–6.
55. Wennberg C., Hessle L., Lundberg P., Mauro S., Narisawa S., Lerner U., et al. Functional characterisation of osteoblasts and osteoclasts from alkaline phosphatase knockout mice. *J Bone Miner Res.* 2000; 15:1879–88.
56. Westendorf J., Kahler R., Schroeder T. Wnt signaling in osteoblasts and bone diseases. *Gene.* 2004; 341:19–39.

57. Kubota T., Michigami T., Ozono K. Wnt signaling in bone metabolism. *J Bone Miner Metab.* 2009; 27:265–71.
58. Baron R., Rawadi G., Roman-Roman S. Wnt signaling: a key regulator of bone mass. *Curr Top Dev Biol.* 2006; 76:103-27.
59. Piters E., Boudin E., Van Hul W. Wnt signaling: a win for bone. *Arch Biochem Biophys.* 2008; 473:112-6.
60. Mundy G.R., Elefteriou F. Boning up on ephrin signaling. *Cell.* 2006; 126:441-3.
61. Martin T.J., Allan E.H., Ho P.W.M., Gooi J.H., Quinn J.M.W., Gillespie M.T., et al. Communication between ephrinb2 and ephb4 within the osteoblast lineage. *Adv Exp Med Biol.* 2010; 658:51–60.
62. Tamma R., Zallone A. Osteoblast and osteoclast crosstalks: from OAF to Ephrin. *Inflamm Allergy Drug Targets.* 2012; 11:196-200.
63. Zhao C., Irie N., Takada Y., Shimoda K., Miyamoto T., Nishiwaki T., et al. Bidirectional ephrinB2–EphB4 signaling controls bone homeostasis. *Cell Metab.* 2006; 4:111–21.
64. Bonewald L.F. Osteocyte messages from a bony tomb. *Cell Metab.* 2007; 5:410-1.
65. Bonewald L.F. Osteocytes as dynamic multifunctional cells. *Ann N Y Acad Sci.* 2007; 1116:281-90.
66. Dudley H.R., Spiro D. The fine structure of bone cells. *J Cell Biol.* 1961; 11:627–49.
67. Tanaka-Kamioka K., Kamioka H., Ris H., Lim S-S. Osteocyte shape is dependent on actin filaments and osteocyte processes are unique actin-rich projections. *J Bone Miner Res.* 1998; 13:1555–68.
68. Tatsumi S., Ishii K., Amizuka N., Li M., Kobayashi T., Kohno K., et al. Targeted ablation of osteocytes induces osteoporosis with defective mechanotransduction. *Cell Metab.* 2007; 5:464–75.

69. Li X., Zhang Y., Kang H., Liu W., Liu P., Zhang J., et al. Sclerostin binds to Irp5/6 and antagonizes canonical wnt signaling. *J Biol Chem.* 2005; 280:19883–7.
70. van Bezooijen R.L., Svensson J.P., Eefting D., Visser A., van der Horst G., Karperien M., et al. Wnt but not bmp signaling is involved in the inhibitory action of sclerostin on bmp-stimulated bone formation. *J Bone Miner Res.* 2007; 22:19–28.
71. Wijenayaka A.R., Kogawa M., Lim H.P., Bonewald L.F., Findlay D.M., Atkins G.J.. Sclerostin stimulates osteocyte support of osteoclast activity by a rankl-dependent pathway. *PLoS One.* 2011; 6 (10): e25900.
72. Chambers T., Darby J., Fuller K. Mammalian collagenase predisposes bone surfaces to osteoclastic resorption. *Cell Tissue Res.* 1985; 241:671–5.
73. Chambers T.J., Fuller K. Bone cells predispose bone surfaces to resorption by exposure of mineral to osteoclastic contact. *J Cell Sci.* 1985; 76:155–65.
74. Hauge E.M., Qvesel D., Eriksen E.F., Mosekilde L., Melsen F. Cancellous bone remodeling occurs in specialized compartments lined by cells expressing osteoblastic markers. *J Bone Miner Res.* 2001; 16:1575–82.
75. McLean R.R. Proinflammatory cytokines and osteoporosis. *Curr Osteoporos Rep.* 2009; 7:134-9.
76. Allori A.C., Sillon A.M., Warren S.M. Biological basis of bone formation, remodeling, and repair-part I: biochemical signaling molecules. *Tissue Eng Part B Rev.* 2008; 14:259-73.
77. Chau J.F., Leong W.F., Li B. Signaling pathways governing osteoblast proliferation, differentiation and function. *Histol Histopathol.* 2009; 24:1593-606.
78. Boyce B. F., Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 2008; 473:139–46.
79. Goltzman D. Studies on the mechanisms of the skeletal anabolic action of endogenous and exogenous parathyroid hormone. *Arch Biochem Biophys.* 2008; 473:218-24.

80. Horwitz M.J., Tedesco M.B., Sereika S.M., Syed M.A., Garcia-Ocaña A., Bisello A., et al. Continuous PTH and PTHrP infusion causes suppression of bone formation and discordant effects on 1,25(OH)₂ vitamin D. *J Bone Miner Res.* 2005; 20:1792-803.
81. Anderson P.H., Lam N.N., Turner A.G., Davey R.A., Kogawa M., Atkins G.J., et al. The pleiotropic effects of vitamin D in bone. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2013; 136:190-4.
82. Weitzmann M.N., Pacifici R. Estrogen deficiency and bone loss, an inflammatory tale. *J Clin Invest.* 2006; 116:1186-94.
83. Krum S.A., Brown M. Unraveling estrogen action in osteoporosis. *Cell Cycle.* 2008; 7:1348-52.
84. Canalis E., Mazziotti G., Giustina A., Bilezikian J.P. Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathophysiology and therapy. *Osteoporos Int.* 2007; 18:1319-28.
85. Warden S.J., Robling A.G., Haney E.M., Turner C.H., Blizotes M.M. The emerging role of serotonin (5-hydroxytryptamine) in the skeleton and its mediation of the skeletal effects of low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5). 2010; 46(1):4-12.
86. Bonewald L.F. Mechanosensation and Transduction in Osteocytes. *Bonekey Osteovision.* 2006; 3:7-15.
87. Bonewald L.F., Johnson M.L. Osteocytes, mechanosensing and Wnt signaling. *Bone.* 2008; 42:606-15.
88. Riggs B.L., Melton L.J., Robb R.A. et al. A population-based assessment of rates of bone loss at multiple skeletal sites: evidence for substantial trabecular bone loss in young adult women and men. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2008; 23(2): 205–14.
89. Eriksen E.F., Langdahl B., Vesterby A. et al. Hormone replacement therapy prevents osteoclastic hyperactivity: a histomorphometric study in early postmenopausal women. *Journal of Bone and Mineral Research.* 1999; 14(7): 1217–21.

90. Manolagas S.C. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocrine Reviews*. 2000; 21(2): 115–37.
91. Croucher P.I., Garrahan N.J., Mellish R.W. et al. Age-related changes in resorption cavity characteristics in human trabecular bone. *Osteoporosis International*. 1991; 1(4): 257–61.
92. Parfitt. A. Morphological basis of bone mineral measurements: transient and steady state effects of treatment in osteoporosis. *Mineral and Electrolyte Metabolism*. 1980; 4: 273–87.
93. Kok C., Sambrook P.N. Secondary osteoporosis in patients with an osteoporotic fracture. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2009; 23:769-79.
94. Riggs B., Melton L. Evidence for two distinct syndromes of involutional osteoporosis. *Am J Med*. 1983; 75:899–901.
95. Raisz L.G. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Invest*. 2005; 115(12):3318-25.
96. Horowitz M. Cytokines and estrogen in bone: anti-osteoporotic effects. *Science*. 1993; 260:626–7.
97. Manolagas S.C., Jilka R.L. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling — emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *N Engl J Med*. 1995; 332:305–11.
98. Eghbali-Fatourehchi G., Khosla S., Sanyal A., Boyle W.J., Lacey D.L., Riggs B.L. Role of rank ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women. *J Clin Invest*. 2003; 111:1221–30.
99. Seeman E. Pathogenesis of bone fragility in women and men. *Lancet*. 2002; 359:1841-50. Buscar
100. Zerwekh J.E., Sakhaee K., Breslau N.A., Gottschalk F., Pak C.Y. Impaired bone formation in male idiopathic osteoporosis: further reduction in the presence of concomitant hypercalciuria. *Osteoporos Int*. 1992; 2:128-34.

101. De Vries F., Bracke M., Leufkens H.G., Lammers J.W., Cooper C., Van Staa T.P. Fracture risk with intermittent high-dose oral glucocorticoid therapy. *Arthritis Rheum.* 2007; 56:208-14.
102. van Staa T.P., Leufkens H.G., Cooper C. The epidemiology of corticosteroid-induced osteoporosis: a metaanalysis. *Osteoporos Int.* 2002; 13:777-87.
103. Natsui K., Tanaka K., Suda M., et al. High-dose glucocorticoid treatment induces rapid loss of trabecular bone mineral density and lean body mass. *Osteoporos Int.* 2006; 17:105-8.
104. Brockstedt H., Kassem M., Eriksen E.F. et al. Age- and sex-related changes in iliac cortical bone mass and remodeling. *Bone.* 1993; 14(4): 681–91.
105. Yeni Y.N., Brown C.U., Wang Z. et al. The influence of bone morphology on fracture toughness of the human femur and tibia. *Bone.* 1997; 21(5): 453–9.
106. WHO. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser.* 1994; 843:1-129.
107. Del Pino Montes J. Osteoporosis: Concepto e importancia. Cuadro clínico. *Rev Osteoporos Metab Miner.* 2010; 4:15-20.
108. Sosa Henríquez M., Gómez Díaz J. La osteoporosis. Definición. Importancia. Fisiopatología y Clínica *Rev Osteoporos Metab Miner.* 2010;2 (5):3-7
109. Tarantino U., Cannata G., Lecce D., Celi M., Cerocchi I., Iundusi R. Incidence of fragility fractures. *Aging Clin Exp Res.* 2007; 19(4):7-11.
110. Cooper C., O'Neill T., Silman A. The epidemiology of vertebral fractures. European Vertebral Osteoporosis Study Group. *Bone.* 1993; 14(1):89-97.
111. Gehlbach S.H., Bigelow C., Heimisdottir M., May S., Walker M., Kirkwood J.R. Recognition of vertebral fracture in a clinical setting. *Osteoporos Int.* 2000; 11:577-82.
112. Francis R.M., Aspray T.J., Hide G., Sutcliffe A.M., Wilkinson P. Back pain in osteoporotic vertebral fractures. *Osteoporos Int.* 2007.

113. Green A.D., Colon-Emeric C.S., Bastian L., Drake M.T., Lyles K.W. Does this woman have osteoporosis? *Jama*. 2004, 292:2890-900.
114. Johnell O., Kanis J. Epidemiology of osteoporotic fractures. *Osteoporos Int*. 2005; 16(2):S3-S7.
115. Johnell O., Kanis J.A. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos Int*. 2006; 17:1726-33.
116. Papaioannou A., Kennedy C.C., Ioannidis G., Sawka A., Hopman W.M., Pickard L., et al. The impact of incident fractures on health-related quality of life: 5 years of data from the Canadian Multicentre Osteoporosis Study. *Osteoporos Int*. 2009; 20:703-14.
117. Sosa Henríquez M., Díaz Curiel M. y el grupo de trabajo en osteoporosis de la Sociedad Española de Medicina Interna. Prevalencia de fracturas vertebrales en pacientes que acuden a la consulta externa de Medicina Interna *Rev Osteoporos Metab Miner*. 2010; 2:9-13.
118. Sosa Henríquez M. Osteoporosis: el dilema de su definicion. *Med Clin (Barc)*. 2005; 124:259-60.
119. Castel H., Bonneth D.Y., Sherf M., Liel Y. Awareness of osteoporosis and compliance with management guidelines in patients with newly diagnosed low-impact fractures. *Osteoporos Int*. 2001; 12:7559-64.
120. Melton L.J. 3rd. How many women have osteoporosis now? *J Bone Miner Res*. 1995; 10:175-7.
121. Rosen C.J. Postmenopausal osteoporosis. *N Eng J Med*. 2005; 353:595-603.
122. Looker A.C., Orwoll E.S., Johnston C.C. Jr., Lindsay R.L., Wahner H.W., Dunn W.L., et al. Prevalence of low femoral bone density in older U.S. adults from NHANES III. *J Bone Miner Res*. 1997; 12:1761-8.
123. Díaz Curiel M., García J.J., Carrasco J.L., Honorato J., Pérez Cano R., Rapado A., et al. Prevalencia de osteoporosis determinada por densitometría en la población femenina española. *Med Clin (Barc)*. 2001; 116:86-8.

124. Naves M., Díaz-López J.B., Gómez C., Rodríguez-Rebollar A., Serrano-Arias M., Cannata-Andía J.B. Prevalence of osteoporosis in men and determinants of changes in bone mass in a non-selected Spanish population. *Osteoporos Int.* 2005; 16:603-9
125. Diaz Curiel M., Carrasco de la Peña J.L., Honorato Perez J., Perez Cano R., Rapado A., Ruiz Martinez I. Study of bone mineral density in lumbar spine and femoral neck in a Spanish population. Multicentre Research Project on Osteoporosis. *Osteoporos Int.* 1997; 7:59-64.
126. Kanis J.A., Johnell O., De Laet C., Johansson H., Oden A., Delmas P., et al. A meta-analysis of previous fracture and subsequent fracture risk. *Bone.* 2004; 35:375-82.
127. Melton L.J., 3rd, Atkinson E.J., Cooper C., O'Fallon W.M., Riggs B.L. Vertebral fractures predict subsequent fractures. *Osteoporos Int.* 1999; 10:214-21.
128. Ross P.D., Davis J.W., Epstein R.S., Wasnich R.D. Pre-existing fractures and bone mass predict vertebral fracture incidence in women. *Ann Intern Med.* 1991; 114:919-23.
129. Ismail A.A., Cockerill W., Cooper C., Finn J.D., Abendroth K., Parisi G., et al. Prevalent vertebral deformity predicts incident hip though not distal forearm fracture: results from the European Prospective Osteoporosis Study. *Osteoporos Int.* 2001; 12:85-90.
130. O'Neill T.W., Felsenberg D., Varlow J., Cooper C., Kanis J.A., Silman A.J. The prevalence of vertebral deformity in european men and women: the European Vertebral Osteoporosis Study. *J Bone Miner Res.* 1996; 11:1010-8.
131. Lindsay R., Silverman S.L., Cooper C., Hanley D.A., Barton I, Broy SB, et al. Risk of new vertebral fracture in the year following a fracture. *Jama.* 2001; 285:320-3.
132. Sosa M., Saavedra P., en nombre del grupo de trabajo en osteoporosis de la Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI). Prevalencia de fracturas vertebrales en pacientes con fractura de cadera. *Rev Clin Esp.* 2007; 207:464-8.

133. Kanis J.A., Johnell O., Oden A., Dawson A., De Late, Jonsson B. Ten years probabilities of osteoporotic fractures according to BMD and diagnostic thresholds. *Osteoporos Int.* 2001; 12:989-95.
134. Center J.R., Nguyen T.V., Schneider D., Sambrook P.N., Eisman J.A. Mortality after all major types of osteoporosis fracture in men and woman: an observational study. *Lancet.* 1999; 353:878-82.
135. Jiang H.X., Majumdar S.R., Dick D.A., Moreau M., Raso J., Otto D.D., et al. Development and initial validation of a risk score for predicting in-hospital and 1-year mortality in patients with hip fracture. *J Bone Miner Res.* 2005; 20:494-500.
136. Diamond T.H., Thornley S.W., Sekel R., Smerdely P. Hip fracture in elderly men: prognostic factors and outcomes. *Med J Aust.* 1997; 167:404-5.
137. Bliuc D., Nguyen N.D., Milch V.E., Nguyen T.V., Eisman J.A., Center J.R. Mortality risk associated with low-trauma osteoporotic fracture and subsequent fracture in men and women. *JAMA.* 2009; 301:513-21.
138. Melton L.J., 3rd. Excess mortality following vertebral fracture. *J Am Geriatr Soc.* 2000; 48:338-9.
139. Haentjens P., Magaziner J., Colon-Emeric C.S., Vanderschueren D., Milisen K., Velkeniers B., et al. Metaanalysis: excess mortality after hip fracture among older women and men. *Ann Intern Med.* 2010; 152:380-90.
140. Paksima N., Koval K.J., Aharanoff G., Walsh M., Kubiak E.N., Zuckerman J.D., et al. Predictors of mortality after hip fracture: a 10-year prospective study. *Bull NYU Hosp Jt Dis.* 2008; 66:111-7.
141. Chrischiller E.A., Butter C.D., Davis C.S., Wallace R.B. A model of lifetime osteoporosis. *Arch Inter Med.* 1991; 151:2026-32.
142. Cooper C., Atkinson E.J., O'Fallon W.M., Melton L.J. III. Incidence of clinically diagnosed vertebral fractures: A population-based study in Rochester, Minnesota. *J Bone Miner Res.* 1992; 7:221-7.

143. Roy D.K., O'Neill T.V., Finn J.D., Lunt M, Silman A.J., Felsenberg D., et al. Determinants of incident vertebral fracture in men and women: Results from the European Prospective Osteoporosis Study. *Osteopor Int.* 2003; 14:19-26.
144. Honkanen R.J., Honkanen K., Kroger H., Alhava E., Tuppurainen M., Saarikoski S. Risk factors for perimenopausal distal forearm fracture. *Osteoporos Int.* 2000; 11:265-70.
145. Cooper C. Epidemiology of osteoporosis. *Osteoporos Int.* 1999; 9(2):S2-8.
146. Felsenberg D., Silman A.J., Lunt M., Armbrecht G., Ismail A.A., Finn J.D., et al. Incidence of vertebral fracture in Europe: results from the European Prospective Osteoporosis Study(EPOS). *J Bone Miner Res.* 2002; 17:716-24.
147. Ismail A.A., Cooper C., Felsenberg D., Varlow J., Kanis J.A., Silman A.J., et al. Number and type of vertebral deformities: epidemiological characteristics and relation to back pain and height loss. European Vertebral Osteoporosis Study Group. *Osteoporos Int.* 1999; 9:206-13.
148. Ismail A.A., Cockerill W., Cooper C., Finn J.D., Abendroth K., Parisi G., et al. Prevalent vertebral deformity predicts incident hip though not distal forearm fracture: Results from the European Prospective Osteoporosis Study. *Osteoporos Int.* 2001; 12:85-90.
149. Cooper C., Campion G., Melton J.L. III. Hip fractures in the elderly: a world wide projection. *Osteoporos Int.* 2001; 12:136-9.
150. Sosa Henríquez M., Segarra Sánchez M., Liminana Canal J., Hernández Hernández D., González Pacheco A., Betancor León P. Morbilidad y mortalidad de la fractura osteoporotica de la extremidad proximal del femur tras un año de seguimiento. *Med Clin (Barc).* 1993; 101:481-3.
151. Brossa Torruella A., Tobías Ferrer J., Zorrilla Ribeiro J., López Borrás E., Alabart Teixido A., Belmonte Garridof M. Mortality after hip fracture: a three year follow-up study. *Med Clin (Barc).* 2005; 124:53-4.

152. Hernlund E., Svedbom A., Ivergård M., Compston J., Cooper C., Stenmark J., et al. Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden. *Arch Osteoporos*. 2013; 8:136.
153. Hernández J.L., Olmos J.M., Alonso M.A., González-Fernández C.R., Martínez J., Pajarón M., et al. Trend in hip fracture epidemiology over a 14-year period in a Spanish population. *Osteoporos Int*. 2006; 17(3):464-70.
154. Tenías J.M., Mifsut Miedes D. Hip fracture incidence: trends, seasonality and geographic distribution in a Health District in the Autonomous Community of Valencia, Spain (1994-2000). *Rev Esp Salud Publica*. 2004; 78(4):539-46.
155. Marín F., González-Macías J., Moya R., Onrubia C., Canelo C., Alvarez S., et al. ECOSAP. Fractura no vertebral por fragilidad en una cohorte de 5.201 mujeres de 65 años o más durante 3 años de seguimiento. *Med Clin (Barc)*. 2006; 127:401-4.
156. Azagra R., López-Expósito F., Martín-Sánchez J.C., Aguyé A., Moreno N., Cooper C., et al. Changing trends in the epidemiology of hip fracture in Spain. *Osteoporos Int*. 2014; 25(4):1267-74.
157. Sosa M., Segarra M.C., Hernandez D., González A., Limiñana J.M., Betancor P.. Epidemiology of proximal femoral fracture in Gran canaria (Canary Islands). *Age and Ageing*. 1993; 22(4): 285-8.
158. Sosa M., Saavedra P., Grupo de trabajo en osteoporosis de la Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI). *Rev Clin Esp*. 2007; 207(9):464-8.
159. Sosa M., Saavedra P., M. J. G. de Tejada M. J. G., , Navarro M., Cabrera D., Melton L. J.. Trends in the incidence of hip fracture in Gran Canaria, Canary Islands, Spain: 2007–2011 versus 1989–1993. *Osteoporos Int*. 2015; 26:1361–66.
160. Kloppenburg S., Cabrera D., Gómez de Tejada M., Navarro M., Vega N., Arbelo A., et al. Cambios en la prevalencia de la fractura de cadera en Gran Canaria tras 20 años de seguimiento. *Rev Clin Esp*. 2013; 213(Espec Congr):645.

161. Muñoz-Torres M., Varsavsky M., Avilés Pérez M.D. Osteoporosis. Definición. Epidemiología. Rev Osteoporos Metab Miner. 2010; 2(3): S5-S7
162. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis and Therapy. JAMA. 2001; 285:785-95.
163. González-Macías J., del Pino-Montes J., Olmos J.M., Nogués X. Guías de práctica clínica en la osteoporosis posmenopáusica, glucocorticoidea y del varón. Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (3.a versión actualizada 2014). Rev Clin Esp [edición electrónica]. 2015. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rce.2015.08.003>
164. Schurmann L., BAGUR A., Claus-Hermberg H., Messina O. D., Negri A., Sánchez A.. Guías para diagnóstico, prevención y tratamiento de la osteoporosis 2007. Revista Argentina de Osteología. 2007; 6(3); 27-42.
165. Sornay-Rendu E., Munoz F., Garnero P., et al: Identification of Osteopenic Women at High Risk of Fracture: The OFELY Study. Journal of Bone and Mineral Research. 2005; 20:1813-9.
166. Garnero P., Hausherr E., Chapuy M.C., et al: Markers of bone resorption predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS Prospective Study. J Bone Miner Res. 1996; 11:1531-8.
167. Garnero P., Sornay-Rendu E., Claustrat B., et al: Biochemical markers of bone turnover, endogenous hormones and the risk of fractures in postmenopausal women: the OFELY study. J Bone Miner Res. 2000; 15:1526-36.
168. Gerdhem P., Ivaska K.K., Alatalo S.L., et al: Biochemical markers of bone metabolism and prediction of fracture in elderly women. J Bone Miner Res. 2004; 19:386-93.
169. Bauer D.C., Black D.M., Garnero P., et al: Change in bone turnover and hip, non-spine, and vertebral fracture in alendronate-treated women: the fracture intervention trial. J Bone Miner Res. 2004; 19:1250-8.

170. Eastell R., Barton I., Hannon R.A., et al: Relationship of early changes in bone resorption to the reduction in fracture risk with risedronate. *J Bone Miner Res.* 2003; 18:1051-6.
171. Hochberg M.C., Greenspan S., Wasnich R.D., et al: Changes in bone density and turnover explain the reductions in incidence of nonvertebral fractures that occur during treatment with antiresorptive agents. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87:1586-92.
172. Delmas P.D., Munoz F., Black D.M., et al: Effects of Yearly Zoledronic Acid 5 mg on Bone Turnover Markers and Relation of PINP With Fracture Reduction in Postmenopausal Women With Osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2009; 24:1544-51.
173. Chen P., Satterwhite J.H., Licata A.A., et al: Early changes in biochemical markers of bone formation predict BMD response to teriparatide in postmenopausal women with osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2005; 20:962-70.
174. Dobnig H., Sipos A., Jiang Y., et al: Early changes in biochemical markers of bone formation correlate with improvements in bone structure during teriparatide therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90:3970-7.
175. Looker A.C., Bauer D.C., Chesnut C.H. 3rd, Gundberg CM, Hochberg MC, Klee G y cols. Clinical use of biochemical markers of bone remodeling: current status and future directions. *Osteoporos Int.* 2000; 11:467-80.
176. Parfitt A.M. High bone turnover is intrinsically harmful: two paths to a similar conclusion. *J Bone Miner Res.* 2002; 17:1558-9.
177. Garnero P. New biochemical markers of bone turnover. *IBMS BoneKEy.* 2008; 5:84-102.
178. Arasu A., Cawthon P.M., Lui L.Y., et al: Serum sclerostin and risk of hip fracture in older Caucasian women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97:2027-32.
179. Vasikaran S., Eastell R., Bruyere O., et al: Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for

- international reference standards. *Osteoporosis International*. 2011; 22:391-420.
180. Kanis J.A., Melton L.J., 3rd, Christiansen C, et al: The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res*. 1994; 9:1137-41.
181. Abdel-Wanis M.E., Solyman M.T., Hasan N.M.: Sensitivity, specificity and accuracy of magnetic resonance imaging for differentiating vertebral compression fractures caused by malignancy, osteoporosis, and infections. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. 2011; 19:145-50.
182. Sornay-Rendu E., Munoz F., Garnero P., et al: Identification of Osteopenic Women at High Risk of Fracture: The OFELY Study. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2005; 20:1813-9.
183. Nguyen N.D., Pongchaiyakul C., Center J.R., et al: Identification of high-risk individuals for hip fracture: a 14-year prospective study. *J Bone Miner Res*. 2005; 20:1921-8.
184. Bagger Y.Z., Tanko L.B., Alexandersen P., et al: The long-term predictive value of bone mineral density measurements for fracture risk is independent of the site of measurement and the age at diagnosis: results from the Prospective Epidemiological Risk Factors study. *Osteoporosis International*. 2006; 17:471-7.
185. New Zealand Guidelines Group (NZGG). Prevention of hip fracture among people aged 65 years and over. Full guidelines. Wellington (New Zealand). 2003. Disponible en:
http://www.health.govt.nz/system/files/documents/publications/hip_fracture_prevention_fulltext.pdf
186. Eriksson S.A., Isberg B.O., Lindgren J.U. Prediction of vertebral strength by dual photon absorptiometry and quantitative computed tomography. *Calcif Tissue Int* 1989; 44:243-50.
187. Bonnicksen S.L. Densitometry techniques in Medicine today. En: Bonnicksen S.L. (ed.). *Bone densitometry in clinical practice. Applications and interpretation*. Totowa: Humana Press. 1998; 1-30.

188. Bagur A., Vega E., Mautalen C. Age dependence of the normal/abnormal difference of bone mineral density in osteoporotic women. *Bone Miner.* 1994; 26:209-18.
189. Miller P.D., Zapalowski C., Kulak C.A.M., Bilezikian J.P. Bone densitometry: the best way to detect osteoporosis and to monitor therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84:1867-71.
190. Kanis J.A., McCloskey E.V., Johansson H., et al: A reference standard for the description of osteoporosis. *Bone.* 2008; 42:467-75.
191. Lewiecki E.M., Gordon C.M., Baim S., Leonard M.B., Bishop N.J., Bianchi M.L. et al. International Society for Clinical Densitometry 2007 Adult and Pediatric Official Positions. *Bone.* 2008; 43(6):1115-21.
192. Brown J.P., Josse R.G.: The Scientific Advisory Council of the Osteoporosis Society of Canada. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada. *Canadian Medical Association Journal.* 2002; 167:S1-S34.
193. Moayyeri A., Soltani A., Tabari N.K., Sadatsafavi M., Hossein-Neghad A., Larijani B. Discordance in diagnosis of osteoporosis using spine and hip bone densitometry. *BMC Endocr Disord.* 2005; 5(1):3.
194. O'Gradaigh D., Debiram I., Love S., Richards H.K., Compston J.E. A prospective study of discordance in diagnosis of osteoporosis using spine and proximal femur bone densitometry. *Osteoporosis International.* 2003; 14(1):13-8.
195. Kanis J.A., Johnell O., Oden A., Johansson H., Eisman J.A., Fujiwara S., et al. The use of multiple sites for the diagnosis of osteoporosis. *Osteoporosis International.* 2006; 17:527-34.
196. Williams E.D., Daymond T.J. Evaluation of calcaneus bone densitometry against hip and spine for diagnosis of osteoporosis. *Br J Radiol.* 2003; 76:123-8.

197. Melton L.J. 3rd, Looker A.C., Shepherd J.A., O'Connor M.K., Achenbach S.J., Riggs B.L., et al. Osteoporosis assessment by whole body region vs. site-specific DXA. *Osteoporosis International*. 2005; 16(12):1558-64.
198. Binkley N., Bilezikian J.P., Kendler D.L., Leib E.S., Lewiecki E.M., Petak S.M. Official positions of the International Society for Clinical Densitometry and Executive Summary of the 2005 Position Development Conference. *J Clin Densitom*. 2006; 9(1):4-14.
199. Marshall D., Johnell O., Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ*. 1996; 312(7041):1254-9.
200. Nguyen N.D., Frost S.A., Center J.R., Eisman J.A., Nguyen T.V. Development of a nomogram for individualizing hip fracture risk in men and women. *Osteoporos Int*. 2007; 18:1109-17.
201. Kanis J.A., Oden A., Johnell O., Johansson H., De Laet C., Brown J. et al. The use of clinical risk factors enhances the performance of bone mineral density in the prediction of hip and osteoporotic fractures in men and women. *Osteoporos Int*. 2007; 18:1033-46.
202. Ensrud K.E., Lui L., Taylor B.C., Schousboe J.T., Donaldson M.G., Fink H.A., et al. A comparison of prediction models for fractures in older women: Is more better? *Archives of Internal Medicine*. 2009; 169 (22):2087-94.
203. Bolland M.J., Siu A.T., Mason B.H., Horne A.M., Ames R.W., Grey A.B., et al. Evaluation of the FRAX and Garvan fracture risk calculators in older women. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2011; 26 (2):420-427.
204. Donaldson M.G., Palermo L., Schousboe J.T., Ensrud K.E., Hochberg M.C., Cummings S.R. FRAX and Risk of Vertebral Fractures: The Fracture Intervention Trial. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2009; 24 (11):1793-9.
205. Sambrook P.N., Flahive J., Hooven F.H., Boonen S., Chapurlat R., Lindsay R, et al. Predicting fractures in an international cohort using risk factor algorithms without BMD. *Journal of Bone and Mineral Research* 2011; 26(11):2770-7.

206. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H., McCloskey E. FRAX™ and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporosis International* 2008; 19(4):385-97.
207. FRAX. [Consultado 10/07/2015]. Disponible en: <https://www.shef.ac.uk/FRAX>.
208. Office of the surgeon general (US). Bone Health and Osteoporosis: A Report of the Surgeon General. Rockville (MD); Office of the surgeon general(US). 2004. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK45513/>
209. Deandrea S., Bravi F., Turati F., Lucenteforte E., La Vecchia C., Negri E. Risk factors for falls in older people in nursing homes and hospitals. A systematic review and meta-analysis. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 2013; 56(3):407-15.
210. Ambrose A.F., Paul G., Hausdorff J.M. Risk factors for falls among older adults: A review of the literature. *Maturitas*. 2013; 75:51-61.
211. Koh L.K.H., Sedrine W.B., Torralba T.P., Kung A., Fujiwara S., Chan S.P., et al. A Simple Tool to Identify Asian Women at Increased Risk of Osteoporosis. *Osteoporosis International*. 2001; 12(8):699-705.
212. Richy F., Gourlay M., Ross P.D., Sen SS, Radican L, De Ceulaer F , et al. Validation and comparative evaluation of the osteoporosis self-assessment tool (OST) in a Caucasian population from Belgium. *QJM*. 2004; 97(1):39-46.
213. Cadarette S.M., Jaglal S.B., Kreiger N., McIsaac W.J., Darlington G.A., Tu J.V. Development and validation of the Osteoporosis Risk Assessment Instrument to facilitate selection of women for bone densitometry. *CMAJ*. 2000; 162 (9):1289-94.
214. Sedrine W.B., Chevallier T., Zegels B., Kvasz A., Micheletti M.C., Gelas B., et al. Development and assessment of the Osteoporosis Index of Risk (OSIRIS) to facilitate selection of women for bone densitometry. *Gynecol Endocrinol*. 2002; 16(3):245-50.

215. Lydick E., Cook K., Turpin J., Melton M., Stine R., Byrnes C. Development and validation of a simple questionnaire to facilitate identification of women likely to have low bone density. *Am J Manag Care*. 1998; 4(1):37-48.
216. Rubin K.H., Abrahamsen B., Friis-Holmberg T., Hjelmborg J.V., Bech M., Hermann A.P., et al. Comparison of different screening tools (FRAX®, OST, ORAI, OSIRIS, SCORE and age alone) to identify women with increased risk of fracture. A population-based prospective study. *Bone*. 2013; 56(1):16-22.
217. Nguyen N.D., Frost S.A., Center J.R., Eisman J.A., Nguyen T.V. Development of prognostic nomograms for individualizing 5-year and 10-year fracture risks. *Osteoporosis International*. 2008; 19(10):1431-44.
218. GARVAN Institute. [Consultado 10/07/2015]. Disponible en: <http://www.garvan.org.au/promotions/bone-fracture-risk/calculator/>
219. Hippisley-Cox J., Coupland C. Predicting risk of osteoporotic fracture in men and women in England and Wales: prospective derivation and validation of QFractureScores. *BMJ*. 2009; 339:b4229.
220. Hippisley-Cox J., Coupland C.: Derivation and validation of updated QFracture algorithm to predict risk of osteoporotic fracture in primary care in the United Kingdom: prospective open cohort study. *BMJ*. 2012; 344:e3427.
221. Van Geel T.A., Eisman J.A., Geusens P.P., van den Bergh JP, Center JR, Dinant GJ. The utility of absolute risk prediction using FRAX® and Garvan Fracture Risk Calculator in daily practice. *Maturitas*. 2014; 77(2):174-9.
222. Pluskiewicz W., Adamczyk P., Franek E., Leszczynski P., Sewerynek E., Wichrowska H., et al. Ten-year probability of osteoporotic fracture in 2012 Polish women assessed by FRAX and nomogram by Nguyen et al.—Conformity between methods and their clinical utility. *Bone*. 2010; 46(6):1661-7.
223. Sandhu S.K., Nguyen N.D., Center J.R., Pocock N.A., Eisman J.A., Nguyen T.V. Prognosis of fracture: evaluation of predictive accuracy of the FRAX™ algorithm and Garvan nomogram. *Osteoporosis International*. 2010; 21(5):863-71.

224. Cummins N.M., Poku E.K., Towler M.R., O'Driscoll O.M., Ralston S.H. Clinical risk factors for osteoporosis in Ireland and the UK: a comparison of FRAX and QFractureScores. *Calcif Tissue Int.* 2011 89(2):172-7.
225. Donaldson M.G., Palermo L., Schousboe J.T., Ensrud K.E., Hochberg M.C., Cummings S.R. FRAX and Risk of Vertebral Fractures: The Fracture Intervention Trial. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2009; 24(11):1793-9.
226. Trémollières F.A., Pouillès J.M., Drewniak N., Laparra J., Ribot C.A., Dargent-Molina P. Fracture risk prediction using BMD and clinical risk factors in early postmenopausal women: Sensitivity of the WHO FRAX tool. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2010; 25(5):1002-9.
227. Del Río Barquero L., Tebé Cordomi C., Johansson H., Di Gregorio Marcon S., Estrada Sabadell D., Espallargues Carreras M. Evaluación del riesgo absoluto de fractura mediante herramienta FRAX® en una cohorte española. *Revista de Osteoporosis y metabolismo mineral.* 2011; 3(2):85-94.
228. Gonzalez-Macias J., Marin F., Vila J., Díez-Pérez A. Probability of fractures predicted by FRAX(R) and observed incidence in the Spanish ECOSAP Study cohort. *Bone.* 2012; 50(1):373-7.
229. Azagra R., Roca G., Zwart M., Encabo G. Differences in the predictive values of the FRAX tool between the Spanish and United Kingdom population and considerations about the intervention threshold. *Medicina clínica.* 2011; 137(15):713-4.
230. Notelovitz M. Androgen effects on bone and muscle. *Fertility and Sterility.* 2002; 77 Suppl 4:S23-41.
231. Finkelstein J.S., Klibanski A., Neer R.M., Greenspan S.L., Rosenthal D.I., Crowley W.F. Jr. Osteoporosis in men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *Ann. Intern. Med.* 1987; 106(3):354–61.
232. Marcus R., Leary D., Schneider D.L., Shane E., Favus M., Quigley C.A. The contribution of testosterone to skeletal development and maintenance: lessons from the androgen insensitivity syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000; 85(3):1032-7.

233. Jilka R.L., Hangoc G., Girasole G., Passeri G., Williams D.C., Abrams J.S., et al. Increased osteoclast development after estrogen loss: mediation by interleukin-6. *Science*. 1992; 257(5066):88–91.
234. Bellido T., Jilka R.L., Boyce B.F., Girasole G., Broxmeyer H., Dalrymple S.A., et al. Regulation of interleukin-6, osteoclastogenesis, and bone mass by androgens. The role of the androgen receptor. *J. Clin. Invest.* 1995; 95(6):2886–95.
235. Kousteni S., Chen J.R., Bellido T., Han L., Ali A.A., O'Brien C.A., et al. Reversal of bone loss in mice by nongenotropic signaling of sex steroids. *Science*. 2002; 298(5594):843–6.
236. Hormonas Esteroideas. 2015. [Consultado 10/07/2015] <http://themedicalbiochemistrypage.org/es/steroid-hormones-sp.php#intro>
237. Díaz Chico B.N. Bioquímica básica de las hormonas esteroideas: Biología y clínica del cáncer. *Biocáncer*. 2004; 2. Disponible en: www.biocancer.com
238. Amado J.A., Flórez J. Hormonas sexuales: estrógenos, gestágenos, andrógenos y anticonceptivos hormonales. *Farmacología humana*. (4ª Ed.) Barcelona: Masson. 2003; 887-912.
239. Burger H.G. Androgen production in women. *Fertil Steril*. 2002; 77 Suppl 4: S3-5.
240. Esteban E., Rodon N., Via M., Gonzalez-Perez E., Santamaria J., Dugoujon J.M., et al. Androgen receptor CAG and GGC polymorphisms in Mediterraneans: repeat dynamics and population relationships. *J Hum Genet*. 2006; 51(2): 129-36.
241. Quigley, C. A., De Bellis, A., Marschke, K. B., El-Awady, M. K., Wilson, E. M., French, F. S. Androgen receptor defects: historical, clinical, and molecular perspectives. *Endocrine Reviews*. 1995; 16: 271–321.
242. Roy A.K., Lavrovsky Y., Song C.S., Chen S., Jung M.H., Velu N.K., et al. Regulation of androgen action. *Vitam Horm*. 1999; 55:309-52.

243. Raudrant D., Rabe T. Progestogens with antiandrogenic properties. *Drugs*. 2003. 63:463-92.
244. Kumar R., Thompson E.B. The structure of the nuclear hormone receptors. *Steroids*. 1999; 64:310–9.
245. Mangelsdorf D.J., Thummel C., Beato M., Herrlich P., Schütz G., Umesono K. et al. The nuclear receptor superfamily:the second decade. *Cell*. 1995. 83:835–9.
246. Pratt W.B., Toft D. Steroid receptor interactions with heat shock protein and immunophilin chaperones. *Endocr Rev*. 1997; 18(3):306-60.
247. Abu E.O., Horner A., Kusec V., Triffitt J.T., Compston J.E. The localization of androgen receptors in bone. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997; 82: 3493–7.
248. Kasperk C., Helmboldt A., Borcsok J., Heuthe S., Cloos O., Niethard F., et al. Skeletal site dependent expression of the androgen receptor in human osteoblastic cell populations. *Calcif Tissue Int*. 1997; 61:464–73.
249. Meikle A.W., Dorchuck R.W., Araneo B.A., Stringham J.D., Evans T.G., Spruance S.L., et al. The presence of a dehydroandrosterone-specific receptor binding complex in murine T cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1992; 42:293–304.
250. Rajender S., Singh L., Thangaraj K. Phenotypic heterogeneity of mutations in androgen receptor gene. *Asian J Androl*. 2007; 9:147-79.
251. Brown C.J., Goss S.J., Lubahn D.B., Joseph D.R., Wilson E.M., French F.S., et al. Androgen receptor locus on the human X chromosome: regional localization to Xq11–12 and description of a DNA polymorphism. *American Journal of Human Genetics*. 1989; 44: 264–9.
252. Lubahn D.B., Joseph D.R., Sar M., Tan J., Higgs H.N., Larson R.E., et al. The human androgen receptor: complementary deoxyribonucleic acid cloning, sequence analysis and gene expression in prostate. *Molecular Endocrinology*. 1988; 2:1265–75.

253. Brinkmann A.O., Faber P.W., van Rooij H.C., Kuiper G.G., Ris C., Klaassen P., et al., The human androgen receptor: domain structure, genomic organization and regulation of expression. *J. Steroid Biochem.* 1989; 34(1–6):307–10.
254. Jenster G., van der Korput H.A., Trapman J., Brinkmann A.O. Identification of two transcription activation units in the N-terminal domain of the human androgen receptor. *J. Biol. Chem.* 1995; 270(13):7341–6.
255. Rodríguez G., Bilbao C., Ramírez R., Falcón O., León L., Chirino R., et al. Alleles with short CAG and GGN repeats in the androgen receptor gene are associated with benign endometrial cancer, *Int. J. Cancer.* 2006; 118(6):1420–5.
256. Faber P.W., Kuiper G.G., van Rooij H.C., van der Korput J.A., Brinkmann A.O. & Trapman J. The N-terminal domain of the human androgen receptor is encoded by one large exon. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 1989; 61:257–62.
257. Lee D.K., Chang C. Endocrine mechanisms of disease: Expression and degradation of androgen receptor: mechanism and clinical implication. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88:4043–54.
258. Nicolas Diaz-Chico B., German Rodriguez F., Gonzalez A., Ramirez R., Bilbao C., Cabrera de Leon A., et al. Androgens and androgen receptors in breast cancer, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2007; 105(1-5):1-15.
259. Hakimi J.M., Schoenberg M.P., Rondinelli R.H., Piantadosi S., Barrack E.R. Androgen receptor variants with short glutamine or glycine repeats may identify unique subpopulations of men with prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 1997; 3(9):1599–608.
260. Platz E.A., Rimm E.B., Willett W.C., Kantoff P.W., Giovannucci E. Racial variation in prostate cancer incidence and in hormonal system markers among male health professionals. *J Natl Cancer Inst.* 2000; 92:2009–17
261. Esteban E., Rodon N., Via M., Gonzalez-Perez E., Santamaria J., Dugoujon J.M. et al., Androgen receptor CAG and GGC polymorphisms in

- Mediterraneans: repeat dynamics and population relationships. *Journal of Human Genetics*, 2006; 51(2):129–36.
262. Zitzmann M., Nieschlag E. The CAG repeat polymorphism within the androgen receptor gene and maleness. *International Journal of Andrology*. 2003; 26(2):76–83.
263. Tse J.Y., Liu V.W., Yeung W.S., Lau E.L., Ng E.H., Ho P.C. Molecular analysis of the androgen receptor gene in Hong Kong Chinese infertile men. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 2003; 20(6):227–33.
264. Ferlin A., Bartoloni L., Rizzo G., Roverato A., Garolla A., Foresta C. Androgen receptor gene CAG and GGC repeat lengths in idiopathic male infertility. *Molecular Human Reproduction*. 2004; 10:417–21.
265. Choong C.S., Wilson E.M. Trinucleotide repeats in the human androgen receptor: a molecular basis for disease. *Journal of Molecular Endocrinology*. 1998; 21:235–57.
266. Tirabassi G., Biagioli A., Balercia G. Bone benefits of testosterone replacement therapy in male hypogonadism. *Panminerva Medica*. 2014; 56(2):151-63.
267. Tirabassi G., Cignarelli A., Perrini S., Delli Muti N., Furlani G., Gallo M. et al. Influence of CAG Repeat Polymorphism on the Targets of Testosterone Action. *International Journal of Endocrinology*. 2015; 2015:298107.
268. Pratt W.B., Toft D. Steroid receptor interactions with heat shock protein and immunophilin chaperones. *Endocr Rev*. 1999; 18(3):306-60.
269. Heemers H.V., Tindall D.J. Androgen receptor (AR) coregulators: a diversity of functions converging on and regulating the AR transcriptional complex. *Endocr Rev*. 2007; 28:778-808.
270. La Spada A.R., Wilson E.M., Lubahn D.B., Harding A.E., Fischback K.H. Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nature*. 1991; 352(6330):77-9.

271. La Spada A.R., Roling D.B., Harding A.E., Warner C.L., Spiegel R., Hausmanowa-Petrusewicz I., et al. Meiotic stability and genotype–phenotype correlation of the trinucleotide repeat in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nat Genet.* 1992; 2(4):301-4.
272. Kumar R. Role of androgen receptor polyQ chain elongation in Kennedy's disease and use of natural osmolytes as potential therapeutic targets. *IUBMB Life.* 2012; 64(11):879–84.
273. Katsuno M., Banno H., Suzuki K., Adachi H., Tanaka F., Sobue G. Clinical features and molecular mechanisms of spinal and bulbar muscular atrophy (SBMA). *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 2010; 685:64–74.
274. Chamberlain N.L., Driver E.D., Miesfeld R.L. The length and location of CAG trinucleotide repeats in the androgen receptor N-terminal domain affect transactivation function. *Nucleic Acids Res.* 1994; 22(15):3181-6.
275. Kazemi-Esfarjani P., Trifiro M.A., Pinsky L. Evidence for a repressive function of the long polyglutamine tract in the human androgen receptor: possible pathogenetic relevance for the (CAG)_n-expanded neuronopathies. *Hum Mol Genet.* 1995; 4(4):523-7.
276. Ding D., Xu L., Menon M., Reddy G.P., Barrack E.R. Effect of GGC (glycine) repeat length polymorphism in the human androgen receptor on androgen action. *Prostate.* 2005; 62(2):133-9.
277. Aschim E.L., Nordenskjöld A., Giwercman A., Lundin K.B., Ruhayel Y., Haugen T.B., et al. Linkage between cryptorchidism, hypospadias, and GGN repeat length in the androgen receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 5105-9.
278. Gao T., Marcelli M., McPhaul M.J. Transcriptional activation and transient expression of the human androgen receptor. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1996; 59(1):9-20.
279. Lundin K.B., Giwercman A., Dizeyi N., Giwercman Y.L. Functional in vitro characterisation of the androgen receptor GGN polymorphism. *Mol Cell Endocrinol.* 2007; 264(1-2):184-7.

280. Edwards A., Hammond H.A., Jin L., Caskey C.T., Chakraborty R. Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups. *Genomics*. 1992; 12(2):241–53.
281. Mifsud A., Sim C.K., Boettger-Tong H., Moreira S., Lamb D.J., Lipshultz L.I., et al. Trinucleotide (CAG) repeat polymorphisms in the androgen receptor gene: molecular markers of risk for male infertility. *Fertility and Sterility*. 2001; 75(2):275–81.
282. Patrizio P., Leonard D.G., Chen K.-L., Hernandez-Ayup S., Trounson A. O. Larger trinucleotide repeat size in the androgen receptor gene of infertile men with extremely severe oligozoospermia. *Journal of Andrology*. 2001; 22(3):444–8.
283. Lange E.M., Sarma A.V., Ray A., Wang Y., Ho L.A., Anderson S.A., et al. The androgen receptor CAG and GGN repeat polymorphisms and prostate cancer susceptibility in African-American men: results from the Flint Men’s Health Study. *Journal of Human Genetics*. 2008; 53(3):220–6.
284. Giwercman Y.L., Xu C., Arver S., Pousette A., Reneland R. No association between the androgen receptor gene CAG repeat and impaired spermproduction in Swedish men. *Clinical Genetics*. 1998; 54:435-6.
285. von Eckardstein S., Syska A., Gromoll J., Kamischke A., Simoni M., Nieschlag E. Inverse correlation between sperm concentration and number of androgen receptor CAG repeats in normal men. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2001; 86(6) 2585–90.
286. Nelson K.A., Witte J.S. Androgen receptor CAG repeats and prostate cancer. *The American Journal of Epidemiology*. 2002; 155(10):883–90.
287. Giovannucci E., Stampfer M.J., Krithivas K., Brown M., Brufsky A., Talcott J., et al. The CAG repeat within the androgen receptor gene and its relationship to prostate cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1997; 94:3320–3.
288. Coetzee G.A., Ross R.K. Re: prostate cancer and the androgen receptor. *Journal of the National Cancer Institute*. 1994; 86(11):872–3.

289. Zeegers M.P., Kiemeny L.A., Nieder A.M., Ostrer H. How strong is the association between CAG and GGN repeat length polymorphisms in the androgen receptor gene and prostate cancer risk?. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*. 2004; 13(11):1765-71.
290. Gu M., Dong X., Zhang X., Niu W. The CAG repeat polymorphism of androgen receptor gene and prostate cancer: a meta-analysis. *Molecular Biology Reports*. 2012; 39(3):2615-24.
291. Giovannucci E., Platz E.A., Stampfer M.J., Chan A., Krithivas K., Kawachi I., et al. The CAG repeat within the androgen receptor gene and benign prostatic hyperplasia. *Urology*. 1999; 53(1):121-5.
292. Corona G., Rastrelli G., Morelli A., Vignozzi L., Mannucci E., Maggi M. Hypogonadism and metabolic syndrome. *Journal of Endocrinological Investigation*. 2011; 34(7):557-67.
293. Trzmiel-Bira A., Filus A., Kuliczowska-Płaksej J., Józków P., Słowińska-Lisowska M., Medraś M., et al. The CAG repeat polymorphism in androgen receptor gene repeat and frequency of chosen parameters of metabolic syndrome in 45–65 aged men in Wrocław population. *Endokrynologia Polska*. 2008; 59(6):477-82.
294. Zitzmann M., Gromoll J., von Eckardstein A., Nieschlag E. The CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene modulates body fat mass and serum concentrations of leptin and insulin in men. *Diabetologia*. 2003; 46(1):31-9.
295. Pausova Z., Abrahamowicz M., Mahboubi A., Syme C., Leonard G.T., Perron M., et al. Functional variation in the androgen-receptor gene is associated with visceral adiposity and blood pressure in male adolescents. *Hypertension*. 2010; 55(3):706-14.
296. Stanworth R.D., Kapoor D., Channer K.S., Jones T.H. Androgen receptor CAG repeat polymorphism is associated with serum testosterone levels, obesity and serum leptin in men with type 2 diabetes. *European Journal of Endocrinology*. 2008; 159(6):739-46.

297. Zitzmann M., Nieschlag E. Androgen receptor gene CAG repeat length and body mass index modulate the safety of long-term intramuscular testosterone undecanoate therapy in hypogonadal men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2007; 92(10): 3844-53.
298. Haring R., Ernst F., Schurmann C., Homuth G., Völker U., Völzke H., et al. The androgen receptor CAG repeat polymorphism as a risk factor of low serum testosterone and its cardiometabolic effects in men. *International Journal of Andrology*. 2012; 35(4):511-20.
299. Mouritsen A., Hagen C.P., Sørensen K., Aksglaede L., Mieritz M.G., Main K.M., et al. Androgen receptor CAG repeat length is associated with body fat and serum SHBG in boys: a prospective cohort study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2013; 98(3):E605-9.
300. Alevizaki M., Cimponeriu A.T., Garofallaki M., Sarika H.L., Alevizaki C.C., Papamichael C., et al. The androgen receptor gene CAG polymorphism is associated with the severity of coronary artery disease in men. *Clinical Endocrinology*. 2003; 59(6):749-55.
301. Lapauw B., Goemaere S., Crabbe P., Kaufman J.M., Ruige J.B. Is the effect of testosterone on body composition modulated by the androgen receptor gene CAG repeat polymorphism in elderly men?. *European Journal of Endocrinology*. 2007; 156(3): 395-401.
302. Nielsen T.L., Hagen C., Wraae K., Bathum L., Larsen R., Brixen K., et al. The impact of the CAG repeat polymorphism of the androgen receptor gene on muscle and adipose tissues in 20-29-year-old Danish men: odense androgen study. *European Journal of Endocrinology*. 2010; 162(4):795-804.
303. Walsh S. , Zmuda J.M., Cauley J.A., Shea P.R., Metter E.J., Hurley B.F., et al., "Androgen receptor CAG repeat polymorphism is associated with fat-free mass in men. *Journal of Applied Physiology*. 2005; 98(1):132-7.
304. Ponce-González J.G., Guadalupe-Grau A., Rodriguez-González F.G., Dorado C., Olmedillas H., Fuentes T., et al. Androgen Receptor Gene Polymorphisms

- and the Fat-Bone Axis in Young Men and Women. *Journal of Andrology*. 2012; 33(4).
305. Meyts E.R.-D., Leffers H., Daugaard G., Andersen C.B., Petersen P.M. Henrichsen J., et al. Analysis of the polymorphic CAG repeat length in the androgen receptor gene in patients with testicular germ cell cancer," *International Journal of Cancer*. 2002; 102(2):201-4.
306. Giwercman A., Lundin K.B., Eberhard J., Ståhl O., Cwikiel M., Cavallin-Ståhl E., et al. Linkage between androgen receptor gene CAG trinucleotide repeat length and testicular germcell cancer histological type and clinical stage. *European Journal of Cancer*. 2004; 40(14):2152-8.
307. Grassetti D., Giannandrea F., Paoli D., Masciandaro P., Figura V., Carlini T., et al. Androgen receptor polymorphisms and testicular cancer risk. *Andrology*. 2015; 3(1):27-33.
308. McGrath M., Lee I.M., Hankinson S.E., Kraft P., Hunter D.J., Buring J., et al.. Androgen receptor polymorphisms and endometrial cancer risk. *Int J Cancer*. 2006; 118(5):1261-8.
309. Rodriguez G., Bilbao C., Ramirez R., Falcón O., León L., Chirino R., et al. Alleles with short CAG and GGN repeats in the androgen receptor gene are associated with benign endometrial cancer. *Int J Cancer*. 2006; 118(6):1420-5.
310. Terry K.L., De Vivo I., Titus-Ernstoff L., Shih M.C., Cramer D.W. Androgen receptor cytosine, adenine, guanine repeats, and haplotypes in relation to ovarian cancer risk. *Cancer Res*. 2005; 65(13):5974-81.
311. Slattery M.L., Sweeney C., Murtaugh M., Ma K.N., Wolff R.K., Potter J.D., et al. Associations between ERalpha, ERbeta, and AR genotypes and colon and rectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005; 14(12):2936-42.
312. Dietzsch E., Laubscher R., Parker M.I. Esophageal cancer risk in relation to GGC and CAG trinucleotide repeat lengths in the androgen receptor gene. *Int J Cancer*. 2003; 107(1):38-45.

313. Lillie E.O., Bernstein L., Ursin G. The role of androgens and polymorphisms in the androgen receptor in the epidemiology of BC. *BC Res.* 2003; 5(3):164-73.
314. Giguère Y., Dewailly E., Brisson J., Ayotte P., Laflamme N., Demers A., et al. Short polyglutamine tracts in the androgen receptor are protective against breast cancer in the general population. *Cancer Res.* 2001; 61(15): 5869-74.
315. Rebbeck T.R., Kantoff P.W., Krithivas K., Neuhausen S., Blackwood M.A., Godwin A.K., et al. Modification of BRCA1-associated breast cancer risk by the polymorphic androgen-receptor CAG repeat. *Am J Hum Genet.* 1999; 64(5):1371-7.
316. Rajender S., Pandu G., Sharma J.D., Gandhi K.P., Singh L., Thangaraj K. Reduced CAG repeats length in androgen receptor gene is associated with violent criminal behavior. *International Journal of Legal Medicine.* 2008; 122(5):367-72.
317. Aluja A., García L.F., Blanch A., Fibla J. Association of androgen receptor gene, CAG and GGN repeat length polymorphism and impulsive-disinhibited personality traits in inmates: the role of short-long haplotype. *Psychiatric Genetics.* 2011; 21(5):229-39.
318. Cheng D., Hong C.J., Liao D.L., Tsai S.J. Association study of androgen receptor CAG repeat polymorphism and male violent criminal activity. *Psychoneuroendocrinology.* 2006; 31(4):548–52.
319. Jönsson E.G., von Gertten C., Gustavsson J.P., Yuan Q.P., Lindblad-Toh K., Forslund K. et al., “Androgen receptor trinucleotide repeat polymorphism and personality traits. *Psychiatric Genetics.* 2001; 11(1):19–23.
320. Simmons Z.L., Roney J.R. Variation in CAG repeat length of the androgen receptor gene predicts variables associated with intrasexual competitiveness in human males. *Hormones and Behavior.* 2011; 60(3):306-12.
321. Roney J.R., Simmons Z.L., Lukaszewski A.W. Androgen receptor gene sequence and basal cortisol concentrations predict men’s hormonal responses to potential mates. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences.* 2010; 277(1678)57–63.

322. Comings D.E., Chen C., Wu S., Muhleman D. Association of the androgen receptor gene (AR) with ADHD and conduct disorder. *NeuroReport*. 1999; 10(7):1589-92.
323. Zitzmann M., Brune M., Kornmann B., Gromoll J., Junker R., Nieschlag E. The CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene affects bone density and bone metabolism in healthy males. *Clinical Endocrinology*. 2001; 55:649–57.
324. Sowers, M., Willing, M., Burns, T., Deschenes, S., Hollis, B., Crutchfield, M. & Jannausch, M. (1999) Genetic markers, bone mineral density, and serum osteocalcin levels. *Journal of Bone and Mineral Research* 14, 1411–1419.
325. Tirabassi G., delliMuti N., Gioia A., Biagioli A., Lenzi A., Balercia G., “Effects of testosterone replacement therapy on bone metabolism in male post-surgical hypogonadotropic hypogonadism: focus on the role of androgen receptor CAG polymorphism,” *Journal of Endocrinological Investigation*. 2014; 37(4):393-400.
326. Langdahl B.L., Stenkjær L., Carstens M., Tofteng C.L., Eriksen E.F. A CAG Repeat Polymorphism in the Androgen Receptor Gene is Associated with Reduced Bone Mass and Increased Risk of Osteoporotic Fractures. *Calcif Tissue Int*. 2003; 73:237–43.
327. Westberg L., Baghaei F., Rosmond R., Hellstrand M., Landen M., Jansson M., et al. Polymorphisms of the androgen receptor gene and the estrogen receptor beta gene are associated with androgen levels in women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86:2562–8.
328. Guadalupe-Grau A., Rodriguez-Gonzalez F.G., Ponce-Gonzalez J.G., Dorado C., Olmedillas H., Fuentes T., et al. Bone mass and the CAG and GGN androgen receptor polymorphisms in young men. *PLoS ONE*. 2010; 5(7):e11529.
329. Kawano H., Sato T., Yamada T., Matsumoto T., Sekine K., Watanabe T., et al. Suppressive function of androgen receptor in bone resorption. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2003; 100: 9416–21.

330. Yeh S., Tsai M.Y., Xu Q., Mu X.M., Lardy H., Huang K.E., et al. Generation and characterization of androgen receptor knockout (ARKO) mice: an in vivo model for the study of androgen functions in selective tissues. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2002; 99:13498–503.
331. Tut T.G., Ghadessy F.J., Trifiro M.A., Pinsky L., Yong E.L. Long polyglutamine tracts in the androgen receptor are associated with reduced trans-activation, impaired sperm production, and male infertility. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82:3777–82.
332. Mhatre A.N., Trifiro M.A., Kaufman M., Kazemi-Esfarjani D., Figlewicz D., Rouleau G., Pinsky L. Reduced transcriptional regulatory competence of the androgen receptor in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy. *Nat Genet.* 1993; 5:184–8.
333. Eriksen E.F., Hodgson S.F., Eastell R., Cedel S.L., O’Fallon W.M., Riggs B.L. Cancellous bone remodeling in type 1 (postmenopausal) osteoporosis: quantitative assessment of rates of formation, resorption and bone loss at tissue and cellular levels. *J Bone Miner Res.* 1990; 5:311–9.
334. Vanderschueren D., Vandendput L., Boonen S., Lindberg M.K., Bouillon R., Ohlsson C. Androgens and bone. *Endocr Rev.* 2004; 25:389-425.
335. Imai Y., Youn M.Y., Inoue K., Takada I., Kouzmenko A., Kato S. Nuclear receptors in bone physiology and diseases. *Physiol Rev.* 2013; 93:481–523.
336. Rochira V., Kara E., Carani C. The Endocrine Role of Estrogens on Human Male Skeleton. *International Journal of Endocrinology.* 2015; Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/165215>.
337. Manolagas S.C., O’Brien C.A., Almeida M. The role of estrogen and androgen receptors in bone health and disease. *Nat Rev Endocrinol.* 2013; 9: 699–712.
338. Florencio-Silva R., Sasso G.R., Sasso-Cerri E., Simões M.J., Cerri P.S. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *Biomed Res Int.* 2015; 2015:421746.

339. Good C., Tulchinsky M., Mauger D., Demers L.M., Legro R.S. Bone mineral density and body composition in lean women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 1999; 72:21–5.
340. Kawai M., Mödder U.I., Khosla S., Rosen C.F. Emerging therapeutic opportunities for skeletal restoration. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2011; 10(2):141-56.
341. Tirabassi G., Cignarelli A., Perrini S., Delli Muti N., Furlani G., Gallo M., et al. Influence of CAG Repeat Polymorphism on the Targets of Testosterone Action. *Int J Endocrinol*. 2015; 2015:298107.
342. Stiger F., Brändström H., Gillberg P., Melhus H., Wolk A., Michaelsson K., et al. Association between repeat length of exon 1 CAG microsatellite in the androgen receptor and bone density in men is modulated by sex hormone levels. *Calcified Tissue International*. 2008; 82(6):427-35.
343. Zitzmann M., Brune M., Kornmann B., Gromoll J., Junker R., Nieschlag E. The CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene affects bone density and bone metabolism in healthy males. *Clinical Endocrinology*. 2001; 55(5):649-57.
344. Van Pottelbergh I., Lombroso S., Goemaere S., Sultan C., Kaufman J. Lack of influence of the androgen receptor gene CAG-repeat polymorphism on sex steroid status and bone metabolism in elderly men. *Clinical Endocrinology*. 2001; 55(5):659-66.
345. Kenny A.M., McGee D., Joseph C., Covault J., Abreu C., Raisz L.G. Lack of association between androgen receptor polymorphisms and bone mineral density or physical function in older men. *Endocrine Research*. 2005; 31(4):285-93.
346. Williams J.R. The Declaration of Helsinki and public health. *Bull World Health Organ*. 2008; 86(8):650-2.
347. Sosa M., Saavedra P., Gomez-Alonso C., Mosquera J., Torrijos A., Munoz-Torres M., et al. Postmenopausal women with Colles' fracture have bone

- mineral density values similar to those of controls when measured with calcaneus quantitative ultrasound. *Eur J Intern Med.* 2005; 16(8):561-6.
348. Genant H.K., Wu C.Y., van Kuijk C., Nevitt M.C. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bone Miner Res.* 1993; 8(9):1137-48.
349. Diaz Curiel M., Garcia J.J., Carrasco J.L., Honorato J., Perez Cano R., Rapado A., et al. Prevalencia de osteoporosis determinada por densitometria en la poblacion femenina española. *Med Clin (Barc).* 2001; 116(3):86-8.
350. Sosa M., Hernandez D., Estevez S., Rodriguez M., Liminana J.M., Saavedra P., et al. The range of bone mineral density in healthy Canarian women by dual X-ray absorptiometry radiography and quantitative computer tomography. *J Clin Densitom.* 1998; 1(4):385-93.
351. Garnero P., Vergnaud P., Hoyle N. Evaluation of a fully automated serum assay for total N-terminal propeptide of type I collagen in postmenopausal osteoporosis. *Clin Chem.* 2008; 54(1):188-96.
352. Christgau S., Rosenquist C., Alexandersen P., Bjarnason N.H., Ravn P., Fledelius C., et al. Clinical evaluation of the Serum CrossLaps One Step ELISA, a new assay measuring the serum concentration of bone-derived degradation products of type I collagen C-telopeptides. *Clin Chem.* 1998; 44(11):2290-300.
353. Sleddens H.F., Oostra B.A., Brinkmann A.O., Trapman J. Trinucleotide (GGN) repeat polymorphism in the human androgen receptor (AR) gene. *Hum Mol Genet.* 1993; 2(4):493.
354. Bharaj B.S., Vassilikos E.J., Diamandis E.P. Rapid and accurate determination of (CAG)_n repeats in the androgen receptor gene using polymerase chain reaction and automated fragment analysis. *Clin Biochem.* 1999; 32(5): 327-32.
355. Kado N., Kitawaki J., Obayashi H., Ishihara H., Koshiba H., Kusuki I., et al. Association of the CYP17 gene and CYP19 gene polymorphisms with risk of endometriosis in Japanese women. *Hum Reprod.* 2002; 17(4):897-902.

356. Yamada Y., Ando F., Niino N., Shimokata H. Association of polymorphism of the androgen receptor and klotho genes with bone mineral density in Japanese women. *J. Mol. Med.* 2005; 83:50-7.
357. Morgan J.A., Tatar J.F. Calculation of the Residual Sum of Squares for All Possible Regressions. *Technometrics.* 1972; 14:317-325.
358. Hastie T., Tibshirani R. Generalized additive models. *Statistical Science.* 1986; 3:297-310.
359. Hastie T., Tibshirani R., Friedman J. *The Elements of Statistical Learning: Data Mining, Inference and Prediction.* Springer-Verlag. 2009.
360. R Core Team R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2014. [Consultado 10/07/2015] <http://www.R-project.org/>.
361. Kanis J.A., Johnell O., Oden A., Johansson H., De Laet C., Eisman J.A. Smoking and fracture risk: a meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2005; 16(2): 155–62.
362. Law M.R., Hackshaw A.K. A meta-analysis of cigarette smoking, bone mineral density and risk of hip fracture: recognition of a major effect. *BMJ.* 1997; 315(7112):841-6.
363. Yamada Y., Ando F., Niino N. and Shimokata H. Association of polymorphism of the androgen receptor and klotho genes with bone mineral density in Japanese women. *J. Mol. Med.* 2005; 83(1):50-7.
364. Burge R., Dawson-Hughes B., Solomon D.H., Wong J.B., King A., Tosteson A. Incidence and economic burden of osteoporosis-related fractures in the United States, 2005-2025. *J Bone Miner Res.* 2007; 22(3):465-75.
365. Neer R.M., Arnaud C.D., Zanchetta J.R., Prince R., Gaich G.A., Reginster J.Y., et al. Effect of parathyroid hormone (1–34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med.* 2001; 344(19):1434–41.

366. Vega Rodríguez N., Limiñana Cañal J.M., Arbelo Rodríguez A., Medina Henríquez J.A., Cabrera Domínguez D., Blázquez Gómez C., et al. Epidemiología de la fractura de cadera en Gran Canaria durante el quinquenio 2007-2011. *Rev Osteoporos Metab Miner.* 2013; 5(1):30-5.
367. Geusens P., Autier P., Boonen S., Vanhoof J., Declerck K., Raus J. The relationship among history of falls, osteoporosis and fractures in postmenopausal women. *Arch Phys Med Rehabil.* 2002; 83:903-6.
368. Tinetti M.E. Clinical practice: Preventing falls in elderly persons. *N Engl J Med.* 2003; 348:42-9.
369. Mosekilde L. Osteoporosis and exercise. *Bone.* 1995;17:193-5.
370. Gregg E.W., Cauley J.A., Seeley D.G., Ensrud K.E., Bauer D.C. Physical activity and osteoporotic fracture risk in older women. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Ann Intern Med.* 1998; 129(2):81-8.
371. Sinaki M., Itoi E., Wahner H.W., Wollan P., Gelzcer R., Mullan B.P. et al. Stronger back muscles reduce the incidence of vertebral fractures: A prospective 10 year follow-up of postmenopausal women. *Bone.* 2002; 30:836-41.
372. Itoi E., Sinaki M. Effect of back-strengthening exercise on posture in healthy women 49 to 65 years of age. *Mayo Clin Proc.* 1994; 69:1054-9.
373. Krall E.A., Dawson-Hughes B. Smoking increases bone loss and decrease intestinal calcium absorption. *J Bone Miner Res.* 1999; 14:215-20.
374. Lunt M., O'Neill T.W., Felsenberg D., Reeve J., Kanis J.A., Cooper C., et al. Characteristics of a prevalent vertebral deformity predict subsequent vertebral fracture: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). *Bone.* 2003; 33:505–13.
375. Ohsfeldt R.L., Borisov N.N., Sheer R.L. Fragility fracture-related direct medical costs in the first year following a nonvertebral fracture in a managed care setting. *Osteoporos Int.* 2006; 17:252-8.

376. European Prospective Osteoporosis Study (EPOS) Group, Felsenberg D., Silman A.J., Lunt M., Armbrecht G., Ismail A.A., et al. Incidence of vertebral fracture in europe: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). *J Bone Miner Res.* 2002; 17:716-24.
377. Giverson I.M. Time trends of mortality after first hip fractures. *Osteoporos Int.* 2007; 18(6):721-32.
378. Marín F., González-Macías J., Moya R., Onrubia C., Canelo C., Alvarez S., et al. ECOSAP. Fractura no vertebral por fragilidad en una cohorte de 5.201 mujeres de 65 años o más durante 3 años de seguimiento. *Med Clin (Barc).* 2006; 127:401-4.
379. Knobel H., Díez A., Arnau D., Alier A., Ibáñez J., Campodarve I., et al. Secuelas de la Fractura de fémur en Barcelona. *Med Clin (Barc).* 1992; 98:441-4.
380. Trzmiel-Bira A., Filus A., Kuliczowska-Płaksej J., Józków P., Słowińska-Lisowska M., Medraś M., et al. The CAG repeat polymorphism in androgen receptor gene repeat and frequency of chosen parameters of metabolic syndrome in 45–65 aged men in Wroclaw population. *Endokrynologia Polska.* 2008; 59(6):477–82.
381. Wallerand H., Remy-Martin A., Chabannes E., Bermont L., Adessi G. L., Bittard, H. Relationship between expansion of the CAG repeat in exon 1 of the androgen receptor gene and idiopathic male infertility. *Fertility and Sterility.* 2001; 76:769–74.
382. Bjorntorp P., The regulation of adipose tissue distribution in humans, *Int. J.Obes. Relat. Metab. Disord.* 1996; 20(4)291–302.
383. De Pergola G. The adipose tissue metabolism: role of testosterone and dehydroepiandrosterone., *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 2000; 24(Suppl. 2):S59–63.
384. von Eckardstein A., Assmann G. High density lipoproteins and reverse cholesterol transport: lessons from mutations., *Atherosclerosis.* 1998; 137 (Supl.):S7–11.

385. von Eckardstein A., Assmann G. Prevention of coronary heart disease by raising high-density lipoprotein cholesterol? *Curr. Opin. Lipidol.* 2000; 11(6):627–37.
386. Rodríguez-González G., Ramírez-Moreno R., Pérez P., Bilbao C., López-Ríos L., Díaz-Chico J.C., et al. The GGN and CAG repeat polymorphisms in the exon-1 of the androgen receptor gene are, respectively, associated with insulin resistance in men and with dyslipidemia in women. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology.* 2009; 113(3-5):202–8.
387. Martin T.J. Osteoblast-derived pthrp is a physiological regulator of bone formation. *J Clin Invest.* 2005; 115:2322–4.
388. Miao D., He B., Jiang Y., Kobayashi T., Sorocéanu M.A., Zhao J., et al. Osteoblast-derived pthrp is a potent endogenous bone anabolic agent that modifies the therapeutic efficacy of administered pth 1–34. *J Clin Invest.* 2005; 115:2402–11.
389. Allan E.H., Hausler K.D., Wei T., Gooi J.H., Quinn J.M., Crimeen-Irwin B., et al. EphrinB2 Regulation by Parathyroid Hormone (PTH) and PTHrP revealed by molecular profiling in differentiating osteoblasts. *Journal of Bone and Mineral Research.* 2008; 23(8):1170–81.
390. Demiralp B., Chen H.L., Koh A.J., Keller E.T., McCauley L.K. Anabolic actions of parathyroid hormone during bone growth are dependent on c-fos. *Endocrinology.* 2002; 143(10):4038–47.
391. Wishart J.M., Need A.G., Horowitz M., Morris A., Nordin B.E. Effect of age on bone density and bone turnover in men. *Clin Endocrinology.* 1995; 42:141-6.
392. Díaz Curiel M., Moro Alvarez M.J. La osteoporosis en varón. Tratamiento. *Rev Osteoporos Metab Miner.* 2010; 2(Supl 2):S24-S31
393. Ruhayel Y., Lundin K., Giwercman Y., Hallden C., Willen M., Giwercman A. Androgen receptor gene GGN and CAG polymorphisms among severely oligozoospermic and azoospermic Swedish men. *Hum Reprod.* 2004; 19:2076–83.

394. Shah N.A., Antoine H.J., Pall M., Taylor K.D., Azziz R., Goodarzi M.O. Association of androgen receptor CAG repeat polymorphism and polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93:1939–45.
395. Stanworth R.D., Kapoor D., Channer K.S., Jones T.H. Androgen receptor CAG repeat polymorphism is associated with serum testosterone levels, obesity and serum leptin in men with type 2 diabetes. *Eur J Endocrinol.* 2008; 159:739–46.
396. Irvine R.A., Yu M.C., Ross R.K., Coetzee G.A. The CAG and GGC microsatellites of the androgen receptor gene are in linkage disequilibrium in men with prostate cancer. *Cancer Res.* 1995; 55:1937–40.
397. Tofteng C.L., Kindmark A., Brndstrm H., Abrahamsen B., Petersen S., Stiger F., et al. Polymorphisms in the CYP19 and AR genes—relation to bone mass and longitudinal bone changes in postmenopausal women with or without hormone replacement therapy: the Danish Osteoporosis Prevention Study. *Calcif Tissue Int.* 2004; 74:25–34.
398. Salmen T., Heikkinen A.M., Mahonen A., Kroger H., Komulainen M., Pallonen H., et al. Relation of androgen receptor gene polymorphism to bone mineral density and fracture risk in early postmenopausal women during a 5-year randomized hormone replacement therapy trial. *J Bone Miner Res.* 2003; 18:319–24.
399. Remes T., Visnen S.B., Mahonen A., Huuskonen J., Krger H., Jurvelin J.S., et al. Aerobic exercise and bone mineral density in middle-aged Finnish men: a controlled randomized trial with reference to androgen receptor, aromatase, and estrogen receptor a gene polymorphisms. *Bone.* 2003; 32:412–20.
400. Edwards S.M., Badzioch M.D., Minter R., Hamoudi R., Collins N., Ardern-Jones A., et al. Androgen receptor polymorphisms: association with prostate cancer risk, relapse and overall survival. *Int J Cancer.* 1999; 84:458–65.
401. Latil A.G., Azzouzi R., Cancel G.S., Guillaume E.C., Cochan-Priollet B., Berthon P.L., et al. Prostate carcinoma risk and allelic variants of genes involved in androgen biosynthesis and metabolism pathways. *Cancer.* 2001; 92:1130–7.

402. Langdahl B.L., Stenkjaer L., Carstens M., Tofteng C.L., Eriksen E.F. A CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene is associated with reduced bone mass and increased risk of osteoporotic fractures. *Calcif Tissue Int.* 2003; 73:237–43.
403. Sanchis-Moysi J., Idoate F., Olmedillas H., Guadalupe-Grau A., Alayon S., Carreras A., et al. The upper extremity of the professional tennis player: muscle volumes, fiber-type distribution and muscle strength. *Scand J Med Sci Sports.* 2009; 20:524–34.
404. Zborowski J.V., Cauley J.A., Talbott E.O., Guzick D.S., Winters S.J. Bone mineral density, androgens and the polycystic ovary: the complex and controversial issue of androgenic influence in female bone. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85:3496–506.
405. Notelovitz M. Androgen effects on bone and muscle. *Fertility and Sterility.* 2002; 77(4):34-41.
406. González Hernández A., Cabrera de León A., Dominguez Coello S., Almeida González D., Rodríguez Pérez M.C., Brito Díaz B., et al. Serum Resistin and Polymorphisms of Androgen Receptor CAGn and GGNn and Aromatase TTTA. *Obesity.* 2008; 16:2107–12.
407. Cabrera de León A., Rodríguez-Pérez M.C., del Castillo-Rodríguez J.C., Brito-Díaz B., Pérez-Méndez L.I., Muros de Fuentes M., et al. Coronary risk in the population of the Canary Islands using the Framingham function. *Med Clin (Barc).* 2006; 126:521–6.
408. Cabrera de León A., Rodríguez-Pérez M.C., Rodríguez-Benjumbeda L.M., Anía-Lafuente B., Brito-Díaz B., Muros de Fuentes M., et al. Sedentary life style: physical activity duration versus percentage of energy expenditure. *Rev Esp Cardiol.* 2007; 60:244–50.
409. Tanner S.M., Orstavik K.H., Kristiansen M., Lev D., Lerman-Sagie T., Sadeh M., et al. X-inactivation in a manifesting carrier of X-linked myotubular myopathy and in her non-manifesting carrier mother. *Hum Genet.* 1999; 104:249–53.

410. Naumova A.K., Olien L., Bird L.M., Smith M., Verner A.E., Leppert M., et al. Genetic mapping of X-linked loci involved in skewing of X chromosome inactivation in the human. *Eur J Hum Genet.* 1998; 6:552–62
411. Plenge R.M., Hendrich B.D., Schwartz C., Arena J.F., Naumova A., Sapienza C., et al. 1997 A promoter mutation in the XIST gene in two unrelated families with skewed X-chromosome inactivation. *Nat Genet.* 1997; 17:353–6.
412. Naumova A.K., Plenge R.M., Bird L.M., Leppert M., Morgan H.F., Willard H.F., et al. Heritability of X chromosome—inactivation phenotype in a large family. *Am J Hum Genet.* 1996; 58:1111–9.
413. Vottero A., Stratakis C.A., Ghizzoni L., Longui C.A., Karl M., Chrousos G.P. Androgen receptor-mediated hypersensitivity to androgens in women with nonhyperandrogenic hirsutism: skewing of X-chromosome inactivation. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84:1091–5.

VIII. ANEXOS

VIII.1: DATOS DE FILIACION

Nombre: _____

Sexo: 1 Varón 2 Mujer HC: _____

Fecha nacimiento: ____ / ____ / ____ Edad: ____ Teléfonos: _____

Área: 1 Rural < 25000 hab. 2 Urbana > 25000 hab. (preguntar zona)*

FACTORES DE RIESGO PARA LA OSTEOPOROSIS.

Edad Menarquia: ____ Edad menopausia: ____

Menopausia: 1 Natural 2 Quirúrgica 3 Perimenopausia 4 Química o Radioterapia
5 No menopausia

Paridad: (nº nacidos vivos) ____ Lactó: 1 si 2 no Meses lactancia acumulados: ____

Lateralidad: 1 Diestra 2 Zurda 3 Ambidiestra 4 Zurda forzada

Tabaco: 1 si 2 no 3 exfumador Alcohol: 1 si 2 no 3 exbebedor

En caso de si beber: 1 Moderado 2 De riesgo

Café: 1 si 2 no Cantidad tazas/día promedio ____

Actividad física habitual tiempo libre: 1 sedentaria 2 ligera 3 moderada (ver hoja en panel)

Ingesta habitual de Calcio: ____ mg/día** (calcular según unidades, ver hoja en panel)

Antecedentes fracturas por fragilidad en familiares de primer grado: 1 si 2 no

Madre fractura de cadera: 1 si 2 no Nivel socioeconómico: 1 Bajo 2 Medio 3 Alto

FÁRMACOS:

Tiazidas: 1 Ahora 2 Lo tomó alguna vez 3 Nunca

Estatinas: 1 Ahora 2 Lo tomó alguna vez 3 Nunca

Beta bloqueantes: 1 Ahora 2 Lo tomó alguna vez (>6 meses) 3 Nunca

Esteroides orales: 1 Ahora 2 Lo tomó alguna vez 3 Nunca

Esteroides inhalados: 1 Ahora 2 Lo tomó alguna vez 3 Nunca

Sintrom: 1 Ahora 2 Lo tomó alguna vez 3 Nunca

Hipnóticos/tranquilizantes: 1 Ahora 2 Lo tomó alguna vez 3 Nunca

Tratamiento hormonal sustitutivo: 1 Lo tomó alguna vez 2 Nunca

Tomó anticonceptivos: 1 si 2 no Si tomó: meses acumulados ____

Antiepilépticos: 1 Ahora 2 Lo tomó alguna vez 3 Nunca

• Frax

-Mayor:

-Hip:

ENFERMEDADES EXISTENTES EN 1ª VISITA

Cáncer: 1 si 2 no En caso de si, especificar origen: 1 Mama 2 Colon/Recto 3 Estómago
4 Pulmón 5 Mieloma 6 Próstata 7 Riñón 8 Hígado 9 Vejiga 10 Otros

Presencia de metástasis: 1 si 2 no Ha recibido PQT: 1 si 2 no

HTA 1 si 2 no

Hipercolesterolemia: 1 si 2 no Artritis reumatoide: 1 si 2 no

HPT 1ario 1 si 2 no 3 HHF 4 HPT Tumoral 5 HPT normocalcémico

Enfermedades de tiroides: 1 Hipertiroidismo 2 Hipotiroidismo 3 No enfermedad tiroidea
4 Cáncer

Urolitiasis: 1 si 2 no Cardiopatía isquémica 1 si 2 no En caso de si: Angina 1 si 2 no
Infarto 1 si 2 no Arritmias 1 si 2 no Insuficiencia cardíaca 1 si 2 no

Diabetes: 1 Insulino-dependiente (Tipo I) 2 No insulino-dependiente (Tipo 2) 3 No diabetes

CLÍNICA: (en la primera visita)

Dolor: 1 si 2 asintomática **Si dolor:** 1 difuso 2 toda la columna 3 C. dorsal 4 C. lumbar

Se ha caído en el último año: 1 si 2 no **¿Ha notado aparición de cifosis?** 1 si 2 no

¿Puede levantarse sola sin ayuda desde una silla? 1 si 2 no

FRACTURAS

¿Existen fracturas por fragilidad en la 1ª visita? (incluye las fracturas previas): 1 si 2 no

Solo en el caso de si: Tipo de fractura: 1 vertebral 2 cadera 3 Colles 4 Otras 5 varias fracturas

En el caso de varias fracturas especificar una a una:

= Vertebral 1. Si 2. No **¿Cuántas vértebras: Dorsales** ____ **Lumbares** ____ (Genant)

= Cadera 1. Si 2. No **Lado fracturado:** 1. Derecho 2. Izquierdo 3. Ambos

= Colles 1. Si 2. No **Lado fracturado:** 1. Derecho 2. Izquierdo 3. Ambos

= Húmero 1. Si 2. No **Lado fracturado:** 1. Derecho 2. Izquierdo 3. Ambos

= Tibia 1. Si 2. No **Lado fracturado:** 1. Derecho 2. Izquierdo 3. Ambos

= Costillas 1. Si 2. No **Lado fracturado:** 1. Derecho 2. Izquierdo 3. Ambos

EXPLORACIÓN FÍSICA:

Talla: ____ (cm) **Peso:** ____ (Kg) **Envergadura:** ____ (cm)

DENSITOMETRÍA (G/CM²):

L2L4: ____ **Cuello:** ____ **Total:** ____ **Trocánter:** ____ **Intertrocánter:** ____

ULTRASONIDOS : BUA : ____ dB/MgHz **SOS:** ____ m/s **QUI:** ____

ANALÍTICA

Glucosa ____ **Urea** ____ **Creatinina** ____ **Ac. Úrico** ____ **Proteínas totales** ____

Colesterol total ____ **HDL-Colest.** ____ **No-HDL-Colest.** ____ **LDL-Colest.** ____

Triglicéridos: ____ **Cálcio** ____ **Fósforo** ____ **FATR** ____ **TSH** ____

Fosf. alcalina ____ **Beta-crosslaps** ____ **Osteocalcina** ____ **PTH** ____ **PINP** ____

25-HCC ____ **Cuando se disponga: Ca/Cr** ____ **NTX/Cr** ____

Datos para el cálculo de Qfracture:

Asma: 1 Sí 2 No

Antidepresivos: 1 Sí 2 No

Enf. Crónica hep: 1 Sí 2 No

Malabsorción: 1 Sí 2 No

S. Menopausia: 1 Sí 2 No

Estrógenos: 1 Sí 2 No

VIII.2: LISTADO GENERAL DE PROGRAMAS R.

```
__Datos.__
```{r,echo=FALSE,eval=FALSE}
library(foreign)
setwd("~/Google Drive/OSEO/Alberto")
df0 <- read.spss("oseo_F.sav",to.data.frame=TRUE)
miss=which(is.na(df0$sggn+df0$scag))
df=df0[-miss,]
(n=nrow(df))
ds <- read.spss("oseo_S.sav",to.data.frame=TRUE)
d0=subset(ds,visita==1)
d1=d0[-miss,]
(n1=nrow(d1))
sel=NULL
for(i in 1:n)
 sel=c(sel,which(d1$HC==df$HC[i]))
d1=d1[sel,]
plot(df$HC,d1$HC);abline(c(0,1))
dt=merge(df,d1,by.x="HC",by.y="HC")
dt$IMC=dt$peso/(dt$stalla/100)^2
dt$female=ifelse(dt$sexo=="Mujer",1,0)
save(dt,file="oseo.RData")
```

__Lectura de datos.__
```{r}
library(mgcv);library(stepPlr)
setEPS(horizontal=F,paper="special",onefile=F)
setwd("~/Google Drive/OSEO/Alberto")
load(file="oseo.RData")
(n=nrow(dt))
attach(dt)
#write.xlsx(dt,"dt.xlsx")
clase=female+1
#clase=g
(ng=as.numeric(table(clase)))
names(table(clase))
lg=c("Male","Female")
#lg=c("No FX","No vertebral","Vertebral")

X=data.frame(Edad,IMC,glucosa,colester,ldl,trig,hdl,urea,creatina,urico,
 calcio, fosforo, fosfatas, fatr, proteina, tsh, vitad, osteocal,
 betacros, pth, pinp, l2l4, cuello, total, trocante, intertro, bua, sos, qui)
(p=ncol(X))

labx=c("Edad","IMC","Glucemia","Colesterol total","LDL","Triglicéridos","HDL",
 "Urea","Creatinina","A. úrico","Calcio","Fósforo","Fosfatasa alcalina",
 "F. alc. tartrato resistente","Proteínas totales","TSH","25-HCC",
 "Osteocalcitona","Beta-crosslaps","PTH","PINP procolágeno","L2-L4",
 "Cuello femoral","Total de cadera","Trocanter","Intertrocanter",
 "Bua","SOS","Qui-Stiffness")
length(labx)
table(sexo)
HDL_low=ifelse(female==1 & hdl<50,1,0)+ifelse(female==0 & hdl<40,1,0)
table(HDL_low)
im=c(1,2,4,5,22:29) ##Variables que se resumen en medias (SD)

##Clasificación según repeticiones CAG
SS=ifelse(scag<=22 & lcag<=22,0,1)
LL=ifelse(scag>=23 & lcag>=23,1,0)
dt$gcag=SS+LL

##Clasificación según repeticiones GGN
SSg=ifelse(sggn<24 & lgg<24,0,1)
LLg=ifelse(sggn>=24 & lgg>=24,1,0)
dt$gggn=SSg+LLg # 0 = SS ; 1 = SL ; 2 = LL

df=subset(dt,female==1)
dm=subset(dt,female==0)
```
```

__Exploración gráfica de las repeticiones CAG y GGN.__

```

```{r}
postscript("histogramas.eps",height=10)
par(mfrow=c(3,2))
hist(scag[female==0],main="Varones",cex.lab=1.5,xlab="CAG",
 ylab="Nº de repeticiones",breaks=seq(10,31,by=1))
hist(sggn[female==0],main="Varones",xlab="GGN",
 ylab="",breaks=seq(14,28,by=1),cex.lab=1.5)
hist(scag[female==1],main="Mujeres",cex.lab=1.5,xlab="S-CAG",
 ylab="Nº de repeticiones",breaks=seq(8,31,by=1.5))
hist(sggn[female==1],main="Mujeres",xlab="S-GGN",
 ylab="",breaks=seq(11,24,1),cex.lab=1.5)
hist(lcag[female==1],main="Mujeres",cex.lab=1.5,xlab="L-CAG",
 ylab="Nº de repeticiones",breaks=seq(14,35,by=1))
hist(lggn[female==1],main="Mujeres",xlab="L-GGN",
 ylab="",breaks=seq(12,30,1),cex.lab=1.5)
dev.off()
```

```

__Exploración de variables numéricas.__

```

```{r}
postscript("box_22_29.eps",height=10.5)
par(mfrow=c(4,2))
for(j in 22:p)
 boxplot(X[,j] ~ sexo,boxwex=.3,xlab="Sexo",ylab=labx[j])
dev.off()
```

```

Medias (SD)

```

```{r,echo=TRUE,eval=TRUE}
detach(dt);attach(df)
X2=X[,im]
lv2=labx[im]
(p2=ncol(X2))
x2=list()
for(j in 1:p2)
 {
 x2[[j]]=list()
 x2[[j]][[1]]=lv2[j]
 z=cbind(mean(X2[,j],na.rm=TRUE),sd(X2[,j],na.rm=TRUE))
 colnames(z)=c("Media","SD")
 x2[[j]][["Total"]]=z
 mv=NULL
 for(r in 1:length(ng))
 mv=c(mv,length(which(is.na(X2[clase==r,j]))))
 N=ng-mv
 Media=by(X2[,j],clase,mean,na.rm=TRUE)
 SD=by(X2[,j],clase,sd,na.rm=TRUE)
 z=cbind(N,Media,SD)
 rownames(z)=lg
 x2[[j]][["Grupos"]]=z
 aov <- anova(lm(X2[,j] ~ 1),lm(X2[,j] ~ factor(clase)))
 x2[[j]][["p-valor"]]=aov$`Pr(>F)`[2]
 }
x2
```

```

Medianas (IQR)

```

```{r,echo=TRUE,eval=TRUE}
X3=X[,-im]
lv3=labx[-im]
(p3=ncol(X3))
x3=list()
for(j in 1:p3)
 {
 x3[[j]]=list()
 x3[[j]][[1]]=lv3[j]
 x3[[j]][["Total"]]=quantile(X3[,j],probs=c(.5,.25,.75),na.rm=TRUE)
 mv=NULL
 for(r in 1:length(ng))
 mv=c(mv,length(which(is.na(X3[clase==r,j]))))
 }

```

```

N=ng-mv
q=by(X3[,j],clase,quantile,probs=c(.5,.25,.75),na.rm=TRUE)
z=NULL
for(l in 1:length(ng))
z=rbind(z,c(N[l],round(q[[1]][1],1),round(q[[1]][2],2),round(q[[1]][3],1)))
colnames(z)=c("N","Mediana","PCT25th","PCT75th")
rownames(z)=lg
x3[[j]][["Grupos"]]=z
x3[[j]][["p-valor"]]=round(kruskal.test(X3[,j],clase)$p.value,3)
}
x3
...

```

```

Frecuencias (%)
```{r,echo=TRUE,eval=TRUE}
BEBEahora=ifelse(alcohol=="Si",1,0)
X4=data.frame(activida,niveleco,area,cafe,alcohol,BEBEahora,tabaco,
             hta,DM,cardio,artritis,urolitia,caidas,FX_CLASIF,
             tiaziadas,estatina,betablo,est.oral,est.inha,sintrom,
             hipnotico,HDL_low)
lv4=names(X4)
(p4=length(X4))
x4=list()
for(j in 1:ncol(X4))
{
  x4[[j]]=list()
  x4[[j]][[1]]=lv4[j]
  t=table(X4[,j])
  x4[[j]][[2]]=t
  x4[[j]][[3]]=round(100*prop.table(t),2)
  ta=table(X4[,j],clase)
  colnames(ta)=lg
  x4[[j]][[4]]=ta
  x4[[j]][[5]]=round(100*prop.table(ta,2),1)
  x4[[j]][[6]]=chisq.test(ta,correct=FALSE)
  x4[[j]][[7]]=fisher.test(ta)
}
x4
...

```

```

__Yamada et al para repeticiones CAG (mujeres).__
```{r}
detach(dt);attach(df)
table(gcag)
(ng=as.numeric(table(gcag)))
names(table(gcag))
lg=c("SS","SL","LL")
X=data.frame(Edad,IMC,glucosa,coleston,ldl,trig,hdl,urea,creatina,urico,
 calcio,fosforo,fosfatas,fatr,proteina,tsh,vitad,osteocal,
 betacros,pth,pinp,l2l4,cuello,total,trocante,intertro,bua,sos,qui)
X2=X[,im]
lv2=labx[im]
(p2=ncol(X2))
x2=list()
for(j in 1:p2)
{
 x2[[j]]=list()
 x2[[j]][[1]]=lv2[j]
 mv=NULL
 for(r in 1:length(ng))
 mv=c(mv,length(which(is.na(X2[gcag==r,j]))))
 N=ng-mv
 Media=by(X2[,j],gcag,mean,na.rm=TRUE)
 SD=by(X2[,j],gcag,sd,na.rm=TRUE)
 z=cbind(N,Media,SD)
 rownames(z)=lg
 x2[[j]][["Grupos"]]=z
 m1 <- summary(lm(X2[,j] ~ factor(gcag)))
 d=m1$fstatistic
 x2[[j]][["p-valor"]]=round(1-pf(d[1],d[2],d[3]),3)
}

```

```

x2

X3=X[, -im]
lv3=labx[-im]
(p3=ncol(X3))
x3=list()
for(j in 1:p3)
{
 x3[[j]]=list()
 x3[[j]][[1]]=lv3[j]
 mv=NULL
 for(r in 1:length(ng))
 mv=c(mv,length(which(is.na(X3[gcag==r,j]))))
 N=ng-mv
 q=by(X3[,j],gcag,quantile,probs=c(.5,.25,.75),na.rm=TRUE)
 z=NULL
 for(l in 1:length(ng))
 z=rbind(z,c(N[l],round(q[[l]][1],1),round(q[[l]][2],2),round(q[[l]][3],1)))
 colnames(z)=c("N","Mediana","PCT25th","PCT75th")
 rownames(z)=lg
 x3[[j]][["Grupos"]]=z
 x3[[j]][["p-valor"]]=round(kruskal.test(X3[,j],gcag)$p.value,3)
}
x3

y=cbind(menopausia,caidas,FX_CLASIF)
(tc <- table(y[,3],gcag))
round(100*prop.table(tc,2),1)
chisq.test(tc)
fisher.test(tc)
plot(Edad,osteocal,cex=.4)
abline(lm(osteocal ~ Edad))

(tm <- table(df$menopausia))
round(100*prop.table(tm),2)
detach(df)
attach(dt)
...

__Repeticiones GGN: mujeres.__
...{r}
detach(dt)
attach(df)
table(gggn)
(ng=as.numeric(table(gggn)))
names(table(gggn))
lg=c("SS","SL","LL")
X=data.frame(Edad,IMC,glucosa,colester,ldl,trig,hdl,urea,creatina,urico,
 calcio, fosforo, fosfatas, fatr, proteina, tsh, vitad, osteocal,
 betacros, pth, pinp, l2l4, cuello, total, trocante, intertro, bua, sos, qui)

X2=X[,im]
lv2=labx[im]
(p2=ncol(X2))
x2=list()
for(j in 1:p2)
{
 x2[[j]]=list()
 x2[[j]][[1]]=lv2[j]
 mv=NULL
 for(r in 1:length(ng))
 mv=c(mv,length(which(is.na(X2[gggn==r,j]))))
 N=ng-mv
 Media=by(X2[,j],gggn,mean,na.rm=TRUE)
 SD=by(X2[,j],gggn,sd,na.rm=TRUE)
 z=cbind(N,Media,SD)
 rownames(z)=lg
 x2[[j]][["Grupos"]]=z
 m1 <- summary(lm(X2[,j] ~ factor(gggn)))
 d=m1$fstatistic
 x2[[j]][["p-valor"]]=round(1-pf(d[1],d[2],d[3]),3)
}
x2

```

```

X3=X[, -im]
lv3=labx[-im]
(p3=ncol(X3))
x3=list()
for(j in 1:p3)
{
 x3[[j]]=list()
 x3[[j]][[1]]=lv3[j]
 mv=NULL
 for(r in 1:length(ng))
 mv=c(mv,length(which(is.na(X3[gggn==r,j])))
 N=ng-mv
 q=by(X3[,j],gggn,quantile,probs=c(.5,.25,.75),na.rm=TRUE)
 z=NULL
 for(l in 1:length(ng))
 z=rbind(z,c(N[l],round(q[[l]][1],1),round(q[[l]][2],2),round(q[[l]][3],1)))
 colnames(z)=c("N","Mediana","PCT25th","PCT75th")
 rownames(z)=lg
 x3[[j]][["Grupos"]]=z
 x3[[j]][["p-valor"]]=round(kruskal.test(X3[,j],gggn)$p.value,3)
}
x3

y=cbind(menopausia,caidas,FX_CLASIF)
(tc <- table(y[,3],gggn))
round(100*prop.table(tc,2),1)
chisq.test(tc)
fisher.test(tc)
plot(Edad,osteocal,cex=.4)
abline(lm(osteocal ~ Edad))

(tm <- table(df$menopausia))
round(100*prop.table(tm),2)
detach(df)
```


___Varones. ___



```

```{r}
detach(dt)
dm$gcag=ifelse(dm$scag<=23,"Corto","Largo")
table(dm$gcag)

dm$gcag=ifelse(dm$sggn<=23,"Corto","Largo")
table(dm$gggn)

(r=which(is.na(dm$gcag)))
attach(dm)
(ng=as.numeric(table(gcag)))
(lg=names(table(gcag)))
X=data.frame(Edad,IMC,glucosa,colester,ldl,trig,hdl,urea,creatina,urico,
             calcio,fosforo,fosfatas,fatr,proteina,tsh,vitad,osteocal,
             betacros,pth,pinp,l2l4,cuello,total,trocante,intertro,bua,sos,qui)
X2=X[,im]
lv2=labx[im]
(p2=ncol(X2))
x2=list()
for(j in 1:p2)
{
  x2[[j]]=list()
  x2[[j]][[1]]=lv2[j]
  mv=NULL
  for(r in 1:length(ng))
    mv=c(mv,length(which(is.na(X2[gcag==r,j])))
  N=ng-mv
  Media=by(X2[,j],gcag,mean,na.rm=TRUE)
  SD=by(X2[,j],gcag,sd,na.rm=TRUE)
  z=cbind(N,Media,SD)
  rownames(z)=lg
  x2[[j]][["Grupos"]]=z
  aov <- anova(lm(X2[,j] ~ 1,data=df),lm(X2[,j] ~ factor(gcag),data=df))
  x2[[j]][["p-valor"]]=aov$"Pr(>F)"[2]
}
x2

```


```

```

X3=X[, -im]
lv3=labx[-im]
(p3=ncol(X3))
x3=list()
for(j in 1:p3)
{
 x3[[j]]=list()
 x3[[j]][[1]]=lv3[j]
 mv=NULL
 for(r in 1:length(ng))
 mv=c(mv,length(which(is.na(X3[gcag==r,j])))
 N=ng-mv
 q=by(X3[,j],gcag,quantile,probs=c(.5,.25,.75),na.rm=TRUE)
 z=NULL
 for(l in 1:length(ng))
 z=rbind(z,c(N[l],round(q[[l]][1],1),round(q[[l]][2],2),round(q[[l]][3],1)))
 colnames(z)=c("N", "Mediana", "PCT25th", "PCT75th")
 rownames(z)=lg
 x3[[j]][["Grupos"]]=z
 x3[[j]][["p-valor"]]=round(wilcox.test(X3[,j] ~ gcag)$p.value,3)
}
x3

y=cbind(caidas,FX_CLASIF)
(tc <- table(y[,1],gcag))
round(100*prop.table(tc,2),1)
chisq.test(tc)
fisher.test(tc)
detach(df)
```



___Correlaciones CAG;GGN - X. ___



```

```{r,echo=TRUE,eval=TRUE}
library(xlsx)
scor=NULL
for(j in 2:p)
{
  r1=cor.test(sggn[female==1],X[female==1,j],method="spearman")
  r2=cor.test(lggn[female==1],X[female==1,j],method="spearman")
  scor=rbind(scor,c(r1$estimate,r1$p.value,r2$estimate,r2$p.value))
}
scor=round(scor,4)
colnames(scor)=c("Cor", "p-value", "Cor", "p-value")
rownames(scor)=labx[-1]
write.xlsx(scor,"corGGN.xlsx")

ggn=(lggn+sggn)/2; cag=(lcag+scag)/2
scor=NULL
for(j in 2:p)
{
  r1=cor.test(cag[female==1],X[female==1,j],method="spearman")
  r2=cor.test(ggn[female==1],X[female==1,j],method="spearman")
  scor=rbind(scor,c(r1$estimate,r1$p.value,r2$estimate,r2$p.value))
}
scor=round(scor,4)
colnames(scor)=c("Cor", "p-value", "Cor", "p-value")
rownames(scor)=labx[-1]
write.xlsx(scor,"corCAG_GGN.xlsx")

### Hombres
scor=NULL
for(j in 2:p)
{
  r1=cor.test(scag[female==0],X[female==0,j],method="spearman")
  r2=cor.test(sggn[female==0],X[female==0,j],method="spearman")
  scor=rbind(scor,c(r1$estimate,r1$p.value,r2$estimate,r2$p.value))
}
scor=round(scor,4)
colnames(scor)=c("Cor", "p-value", "Cor", "p-value")
rownames(scor)=labx[-1]
write.xlsx(scor,"corHombres.xlsx")

```


```

...

```
__Exploración de la combinación lineal convexa óptima
```{r,echo=TRUE,eval=TRUE}
attach(dt)
mdxa=cbind(dt$L2L4,dt$cuello,dt$total,dt$trocante,dt$intertro,
           dt$bua,dt$sos,dt$qui,dt$osteocal)
lb=c("L2-L4","Cuello femoral","Total de cadera","Trocánter","Intertrocánter",
     "BUA","SOS","Qui-Stiffness")
j=1 ### Selecciona marcador
dt$dxa=mdxa[,j]
q=seq(0,1,by=.01)
cag=rep(NA,n)
cag[female==0]=scag[female==0]
df=subset(dt,female==1 & menopausia==1)
nrow(df)

pv=NULL
for(l in 1:length(q))
{
  cag[female==1]=q[l]*scag[female==1]+(1-q[l])*lcag[female==1]
  df$cag=cag[female==1]
  ma <- gam(dxa ~ s(Edad) + s(IMC) + cag,method="REML",data=df)
  sma=summary(ma)
  pv=c(pv, sma$p.pv[2])
  #pv=c(pv, sma$s.pv[3])
}

(l0=which(pv==min(pv)))
q[l0];pv[l0]
cag[female==1]=q[l0]*scag[female==1]+(1-q[l0])*lcag[female==1]
df$cag=cag[female==1]
ma <- gam(dxa ~ s(Edad) + s(IMC) + s(cag),method="REML",data=df)
summary(ma)

ma <- gam(dxa ~ s(Edad) + s(IMC) + scag ,method="REML",data=df)
summary(ma)

postscript(paste(lb[j],".eps"),width=5,height=8.3)
par(mfrow=c(3,1))
plot(ma,cex.lab=1.5,main=lb[j])
dev.off()

pl=ma$fitted.values
obs1=ma$model$dxa
r1=obs1-pl

pc=ma$fitted.values
obsc=ma$model$dxa
rc=obsc-pc

pt=ma$fitted.values
obst=ma$model$dxa
rt=obst-pt

pi=ma$fitted.values
obsi=ma$model$dxa
ri=obsi-pi

postscript("Residuales.eps",height=9)
par(mfrow=c(2,2))
plot(pl,r1,cex=.4,main="L2-L4",xlab="Predicción",ylab="Residual",pch=19)
abline(c(0,0),lwd=2,col="blue")
plot(pc,rc,cex=.4,main="Total de cadera",xlab="Predicción",ylab="Residual",
     ylim=c(-.4,.4),pch=19)
abline(c(0,0),lwd=2,col="blue")
plot(pt,rt,cex=.4,main="Trocánter",xlab="Predicción",ylab="Residual",pch=19)
abline(c(0,0),lwd=2,col="blue")
plot(pi,ri,cex=.4,main="Intertrocánter",xlab="Predicción",ylab="Residual",pch=19)
abline(c(0,0),lwd=2,col="blue")
dev.off()
```
```

```

__POSTMENOPÁUSICAS.__
```{r}
attach(dt)
table(sexo,menopausia)
dfp=subset(df,menopausia==1)
nrow(dfp)
pm=which(female==1 & menopausia==1)
dfp$mdxa=X[pm,22:29]
detach(dt);attach(dfp)
lb=c("L2-L4","Cuello femoral","Total de cadera","Trocánter","Intertrocánter",
      "BUA","SOS","Qui-Stiffness")
j=3 ### Selecciona marcador

q=seq(0,1,by=.01)
pv=NULL
for(l in 1:length(q))
  {
    cag=q[l]*scag+(1-q[l])*lcag
    dfp$cag=cag
    ma <- gam(mdxa[,j] ~ s(Edad) + s(IMC) + cag,method="REML",data=dfp)
    sma=summary(ma)
    pv=c(pv,sma$p.pv[2])
    #pv=c(pv,sma$s.pv[3])
  }
min(pv)
pvinte=pv
#dpv=data.frame(q,pv1214,pvtotal,pvtroc,pvinte)
#save(dpv,file="pvOPTpm.RData")

(l0=which(pv==min(pv)))
q[l0];pv[l0]
cag[pm]=q[l0]*scag[pm]+(1-q[l0])*lcag[pm]
dfp$cag=cag[pm]
ma <- gam(mdxa[,j] ~ s(Edad) + s(IMC) + cag,method="REML",data=dfp)
summary(ma)

postscript(paste(lb[j],".eps"),width=5,height=8.3)
par(mfrow=c(3,1))
plot(ma,cex.lab=1.5,main=lb[j])
dev.off()

pl=ma$fitted.values
obs1=ma$model$dxa
r1=obs1-pl

pc=ma$fitted.values
obs2=ma$model$dxa
rc=obs2-pc

pt=ma$fitted.values
obs3=ma$model$dxa
rt=obs3-pt

pi=ma$fitted.values
obs4=ma$model$dxa
ri=obs4-pi

postscript("ResidualesPM.eps",height=9)
par(mfrow=c(2,2))
plot(pl,r1,cex=.4,main="L2-L4",xlab="Predicción",ylab="Residual",pch=19)
abline(c(0,0),lwd=2,col="blue")
plot(pc,rc,cex=.4,main="Total de cadera",xlab="Predicción",ylab="Residual",
      ylim=c(-.4,.4),pch=19)
abline(c(0,0),lwd=2,col="blue")
plot(pt,rt,cex=.4,main="Trocánter",xlab="Predicción",ylab="Residual",pch=19)
abline(c(0,0),lwd=2,col="blue")
plot(pi,ri,cex=.4,main="Intertrocánter",xlab="Predicción",ylab="Residual",pch=19)
abline(c(0,0),lwd=2,col="blue")
dev.off()
```

```

```

__Figura.__
```{r,echo=TRUE,eval=TRUE}
load(file="pvOPTpm.RData")
attach(dpv)
postscript("pvoptPM.eps",height=7)
par(mfrow=c(2,2))
plot(q,pv1214,type="l",xlab="Coeficiente ponderación (q)",
      ylab="p-valor",main="CAG - L2-L4",lwd=3,col="blue")
l1=which(pv1214==min(pv1214))
legend(0,0.24,paste("q-óptimo = ",q[l1]),bty="n")
legend(0,0.22,paste("p-valor = ",round(pv1214[l1],4)),bty="n")
plot(q,pvttotal,type="l",xlab="Coeficiente ponderación (q)",
      ylab="p-valor",main="CAG - Total de cadera",lwd=3,col="blue")
l2=which(pvttotal==min(pvttotal))
legend(0,0.8,paste("q-óptimo = ",q[l2]),bty="n")
legend(0,0.7,paste("p-valor = ",round(pvttotal[l2],4)),bty="n")
plot(q,pvtroc,type="l",xlab="Coeficiente ponderación (q)",
      ylab="p-valor",main="CAG - Trocanter",lwd=3,col="blue")
l3=which(pvtroc==min(pvtroc))
legend(0,0.20,paste("q-óptimo = ",q[l3]),bty="n")
legend(0,0.16,paste("p-valor = ",round(pvtroc[l3],4)),bty="n")
plot(q,pvinte,type="l",xlab="Coeficiente ponderación (q)",
      ylab="p-valor",main="CAG - Intertrocanter",lwd=3,col="blue")
l4=which(pvinte==min(pvinte))
legend(0,0.9,paste("q-óptimo = ",q[l4]),bty="n")
legend(0,0.8,paste("p-valor = ",round(pvinte[l4],4)),bty="n")
dev.off()
detach(dpv)
```

```

\_\_Osteoporosis postmenopáusicas.\_\_

```

```{r}
detach(dt);attach(dfp) #Se seleccionan mujeres postmenopáusicas
nrow(dfp)
miss=which(is.na(OSTEO )) #Tres pacientes sin determinación osteoporosis

grupo=OSTEO[-miss]
boxplot(lcag ~ OSTEO)
by(lcag,OSTEO,quantile,probs=c(.5,.25,.75),na.rm=TRUE)
wilcox.test(lcag ~ OSTEO)
by(scag,OSTEO,quantile,probs=c(.5,.25,.75),na.rm=TRUE)
wilcox.test(scag ~ OSTEO)

(ta <- table(gcag,OSTEO))
round(100*prop.table(ta,2),1)
chisq.test(ta)

(ta <- table(gggn,OSTEO))
round(100*prop.table(ta,2),1)
chisq.test(ta)

X=data.frame(Edad,IMC,calcio,fosforo,fosfatas,fatr,proteina,
             tsh,vitad,osteocal,betacros,pth,pinp)[-miss,]
(ng=as.numeric(table(grupo)))
(lg=names(grupo))
(lv=colnames(X))
(p=ncol(X))
x=list()
for(j in 1:p)
{
  x[[j]]=list()
  x[[j]][[1]]=lv[j]
  Media=by(X[,j],grupo,mean,na.rm=TRUE)
  SD=by(X[,j],grupo,sd,na.rm=TRUE)
  z=cbind(ng,Media,SD)
  rownames(z)=lg
  x[[j]][[ "Grupos" ]]=z
  x[[j]][[ "p-valor" ]]= t.test(X[,j] ~ grupo)$p.value
}
x

y=cbind(caidas,FX_CLASIF)
(tc <- table(y[,2],grupo))

```

```
round(100*prop.table(tc,2),1)
chisq.test(tc)
...
```

Regresión logística.

```
...{r}
detach(dt);attach(df)
(mis=which(is.na(lcag+scag)))
df0=dfp[-mis,]
nrow(df0)
q=seq(0,1,by=.01)
pv=NULL
for(l in 1:length(q))
{
  df0$cag=q[l]*df0$scag+(1-q[l])*df0$lcag
  ml0 <- gam(OSTEO ~ Edad + IMC ,family=binomial,data=df0)
  ml <- gam(OSTEO ~ Edad + IMC + s(cag) ,family=binomial,data=df0)
  ao <- anova(ml0,ml,test="Chisq")
  pv=c(pv,pv=ao[, 'Pr(>Chi)'] [2])
}

(l0=which(pv==min(pv)))
q[l0];pv[l0]
postscript("pvoptOsteopor.eps",height=4)
plot(q,pv,type="l",xlab="Coeficiente ponderación (q)",lwd=3,col="blue",
      ylab="p-valor (test de razón de verosimilitudes)",main="CAG - Pr(Osteoporosis)")
dev.off()
```

```
df0$cag=q[l0]*df0$scag+(1-q[l0])*df0$lcag
ml0 <- gam(OSTEO ~ IMC + s(cag) ,family=binomial,data=df0)
ml0 <- gam(OSTEO ~ Edad + IMC ,family=binomial,data=df0)
ml <- gam(OSTEO ~ Edad + IMC + s(cag) ,family=binomial,data=df0)
ao <- anova(ml0,ml,test="Chisq")
ao[, 'Pr(>Chi)'] [2]
summary(ml)
b=ml$coef[2:3]
sb=sqrt(diag(ml$ve[2:3,2:3]))
(za=qnorm(.975))
or=exp(b)
or.l=or*exp(-za*sb)
or.u=or*exp(za*sb)
data.frame(or,or.l,or.u)
postscript("CagOsteopor.eps",height=6)
plot(ml,col=c("black","blue","black"),lwd=c(1,3,1),
      xlab="Media ponderada de repeticiones CAG",
      ylab="Efecto sobre la probabilidad de osteoporosis (IC-95%)",cex.lab=1.2)
legend(20,3,"P-valor = 0.034",bty="n",cex=1.5)
dev.off()
```

```
df0$cag=q[l0]*df0$scag+(1-q[l0])*df0$lcag
ml <- gam(OSTEO ~ s(Edad) + s(IMC) + s(cag) ,family=binomial,data=df0)
summary(ml)
```

```
xx=cbind(age=df0$Edad,bmi=df0$IMC,cag=df0$cag,osteo=df0$OSTEO)
(mi=which(is.na(apply(xx,1,sum))))
x=xx[-mi,]
Y=x[,ncol(x)]
z=x[,1:(ncol(x)-1)]
ms <- step.plr(z,Y,cp = "aic")
summary(ms)
```

...