

ARTÍCULO ORIGINAL

## Polimorfismos de los genes *JAG1*, *MEF2C* y *BDNF* asociados con la densidad mineral ósea en mujeres del norte de México

Sandra Marlen González-Peña<sup>1</sup>, Eduardo Campos-Góngora<sup>1</sup>, Hilda Guadalupe Ávila-Rodríguez<sup>1</sup>, Erik Ramírez-López<sup>1</sup>, Rafael Velázquez-Cruz<sup>2</sup>, Zacarías Jiménez-Salas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México

<sup>2</sup> Laboratorio de Genómica del Metabolismo Óseo, Instituto Nacional de Medicina Genómica, Ciudad de México, México

**Introducción.** La osteoporosis se caracteriza por una baja densidad mineral ósea; la composición genética es uno de los factores que más influyen en ella, pero hay pocos estudios de genes asociados con esta condición en la población mexicana.

**Objetivo.** Investigar la posible asociación de ocho polimorfismos de un solo nucleótido (*Single Nucleotide Polymorphism*, SNP) de los genes *JAG1*, *MEF2C* y *BDNF* con la densidad mineral ósea en mujeres del norte de México.

**Materiales y métodos.** Participaron 124 mujeres de 40 a 80 años, sin parentesco entre ellas. Su densidad mineral ósea se determinó mediante absorciometría dual de rayos X y la genotipificación se hizo utilizando discriminación alélica mediante PCR en tiempo real; se estudiaron cuatro de los SNP del gen *JAG1* (rs6514116, rs2273061, rs2235811 y rs6040061), tres del *MEF2C* (rs1366594, rs12521522 y rs11951031) y uno del *BDNF* (rs6265). El análisis estadístico de los datos obtenidos se hizo por regresión lineal.

**Resultados.** El SNP rs2235811 presentó asociación significativa con la densidad mineral ósea de todo el cuerpo bajo el modelo de herencia dominante ( $p=0,024$ ) y, aunque los otros SNP no tuvieron relación significativa con esta densidad, en ninguno de los modelos de herencia estudiados, se observó una tendencia hacia esta asociación.

**Conclusión.** Los resultados sugieren que el SNP rs2235811 del gen *JAG1* podría contribuir a la variación en la densidad mineral ósea de las mujeres del norte de México.

**Palabras clave:** densidad mineral ósea; osteoporosis; polimorfismo genético; mujeres; México.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.4014>

### *JAG1*, *MEF2C* and *BDNF* polymorphisms associated with bone mineral density in women from Northern México

**Introduction:** Osteoporosis is characterized by a low bone mineral density. Genetic composition is one of the most influential factors in determining bone mineral density (BMD). There are few studies on genes associated with BMD in the Mexican population.

**Objective:** To investigate the association of eight single nucleotide polymorphisms (SNP) of *JAG1*, *MEF2C* and *BDNF* genes with BMD in women of Northern México.

**Materials and methods:** This study involved 124 unrelated Mexican women between 40 and 80 years old. BMD was determined by dual X-ray absorptiometry. Genotyping was performed using allelic discrimination by real time PCR. We analyzed the SNP of *JAG1* (rs6514116, rs2273061, rs2235811 and rs6040061), *MEF2C* (rs1366594, rs12521522 and rs11951031), and *BDNF* (rs6265) and the data using linear regression.

**Results:** The *JAG1* SNP rs2235811 was associated with the BMD of the total body under the dominant inheritance model ( $p=0,024$ ). Although the other SNPs were not associated with BMD in any of the inheritance models studied, a trend was observed.

#### Contribución de los autores:

Sandra Marlen González-Peña: desarrollo del proyecto, mediciones y redacción del manuscrito

Eduardo Campos-Góngora: desarrollo del proyecto, interpretación de resultados y redacción del manuscrito

Hilda Guadalupe Ávila-Rodríguez: desarrollo del proyecto y determinación de la densidad mineral ósea

Erik Ramírez-López: mediciones de densidad mineral ósea y redacción del manuscrito

Rafael Velázquez-Cruz: análisis de los polimorfismos y redacción del manuscrito

Zacarías Jiménez-Salas: diseño del estudio, análisis de resultados y redacción del manuscrito

**Conclusion:** Our results suggest that the SNP rs2235811 in the *JAG1* gene might contribute to the variation in BMD in women from northern México.

**Key words:** Bone mineral density; osteoporosis; polymorphism, genetic; women; México.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i3.4014>

La osteoporosis es una alteración esquelética común que se caracteriza por una baja densidad mineral ósea, deterioro de la microarquitectura ósea y un incremento de la propensión a las fracturas, especialmente de cadera, columna vertebral y muñeca (1). Se ha determinado que su relevancia aumenta en relación directa con el envejecimiento de la población, ya que la probabilidad de fracturas relacionadas con esta condición es mayor en mujeres de más de 50 años (2). En México, la osteoporosis representa un serio problema de salud pública; Clark, *et al.*, en el 2009, señalaron que el 17 % de las mujeres y el 9 % de los hombres mayores de 50 años de ese país presentaban osteoporosis y estimaron que para el 2050 la cantidad de casos de fracturas de cadera será de 110.055, lo que representaría un costo sumamente elevado para los sistemas de salud (3).

La patogenia de la osteoporosis es multifactorial, ya que resulta de la interacción de componentes genéticos y ambientales. Se estima que la densidad mineral ósea es de carácter hereditario en más del 60 % de los casos (4,5). En diversos estudios, se han podido identificar múltiples regiones génicas que se asocian con variaciones en la densidad mineral ósea y con la etiología de la osteoporosis, principalmente, en poblaciones con ascendencia europea y asiática (6-8). En el caso de la población mexicana, los estudios de caracterización de los factores genéticos involucrados en la propensión a desarrollar osteoporosis han sido de asociación en series de casos y controles. Los principales genes han sido el del receptor de la vitamina D, *VDR* (9-12), el del receptor de estrógenos alfa, *ER-alfa* (13), el del colágeno de tipo I alfa1, *COL1A1* (14), el de la interleucina 6, *IL-6* (15), el de la calcitonina (16) y el de la proteína 5 relacionada con el receptor de las lipoproteínas de baja densidad (*Low-Density Lipoproteins*, LDL), *LRP5* (17).

En varios estudios sobre la asociación con genes candidatos y del genoma completo (*Genome-Wide*

*Association Study*), se han evidenciado múltiples regiones génicas relacionadas con variaciones en la densidad mineral ósea en algunas poblaciones. Sin embargo, algunos resultados son contradictorios, ya que dichas asociaciones no se repiten en otras poblaciones (6,18). Una de estas regiones se localiza en el gen *MEF2C* (*Miocyte Enhancer Factor 2C*), miembro de la vía de señalización Wnt (19). El producto de este gen participa en la regulación de la expresión de la esclerostina (SOST), la cual controla la actividad osteoblástica (20,21), y se ha sugerido que algunos de sus polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) pueden estar asociados con variaciones de la densidad mineral ósea en el cuello femoral y en ambas caderas en la población europea y asiática, respectivamente (7,8,22).

Otro gen que participa en las variaciones de la densidad mineral ósea es el gen *JAG1*, el cual está involucrado en la diferenciación osteoblástica de las células madre mesenquimales (*Human Mesenchymal Stem Cells*, hMSC) por medio de la vía de señalización canónica Notch (23,24). En recientes informes del *Genome-Wide Association Study*, se ha establecido que el SNP rs2273061 del gen *JAG1* se asocia con una baja densidad mineral ósea en la columna lumbar y en el cuello femoral en sujetos de ascendencia europea y en poblaciones asiáticas (25). En cuanto a los estudios en población mexicana, los grupos de trabajo de Rojano-Mejía y Velázquez-Cruz han investigado la posible asociación del polimorfismo rs2273061 con la densidad mineral ósea en mujeres mestizas mexicanas posmenopáusicas, en la Ciudad de México y en Cuernavaca, respectivamente, sin encontrar asociación (26,27).

Por otro lado, la proteína del factor neurotrófico derivado del cerebro (*Brain-Derived Neurotrophic Factor*, BDNF) codifica un miembro de la familia de neurotrofinas de factores de crecimiento que están relacionadas con la vía canónica del factor de crecimiento nervioso. En varios estudios se ha demostrado que dicho factor desempeña un papel clave en la diferenciación de los condrocitos, el desarrollo del cartílago y la osteogénesis (28). Se ha reportado que su ARN mensajero (ARNm) se expresa en osteoblastos de ratón (células MC3T3-E1) (29), y que el SNP rs6265,

Correspondencia:

Zacarías Jiménez-Salas, Facultad de Salud Pública y Nutrición, Universidad Autónoma de Nuevo León, Aguirre Pequeño y Yuriria, s/n. 64460, Monterrey, Nuevo León, México  
zacarias.jimenezs@uanl.mx

Recibido: 10/08/17; aceptado: 05/11/17

relacionado con la fosforilación en el factor neurotrófico derivado del cerebro, está asociado con la densidad mineral ósea en humanos (30). En estudios recientes, se ha descrito que el gen *BDNF* está asociado con las fracturas debidas a la osteoporosis y, en estudios funcionales, se ha demostrado que tiene un papel preponderante en la diferenciación osteoblástica (31).

La población mexicana es una mezcla con una estructura genética compleja; incluye genes de origen nativo americano (51 %), europeo (45,4 %) y africano (3,7 %) (32,33). Dicha complejidad genética se ha puesto de manifiesto en los análisis de las variaciones existentes entre las diferentes regiones geográficas (34) y, por ello, es necesario estudiar detalladamente la estructura poblacional con datos geográficos para evaluar la frecuencia y la prevalencia de enfermedades genéticas en las diversas poblaciones del país.

Delezé, *et al.*, compararon la densidad mineral ósea del cuello femoral y de la columna lumbar de 4.460 mujeres entre los 20 y los 69 años de edad, provenientes de zonas urbanas de México, y concluyeron que la densidad mineral ósea variaba significativamente según la región de la población estudiada: las mujeres del norte tenían una densidad mineral ósea más alta en la columna lumbar que las mujeres del centro o del sur (35).

Dado que son pocos los estudios que examinan la asociación de los SNP y la variación de la densidad mineral ósea, y que estos corresponden a poblaciones del centro del país, el objetivo de este estudio fue examinar la posible asociación de los SNP de los genes *JAG1* (rs2273061, rs6514116, rs2235811 y rs6040061), *MEF2C* (rs12521522, rs11951031 y rs1366594) y *BDNF* (rs6265), con la variación de la densidad mineral ósea en mujeres del norte de México.

## **Materiales y métodos**

### **Población de estudio**

El grupo de estudio incluyó mujeres nacidas en el norte de México, con antecedentes de, al menos, dos generaciones oriundas de esta región; no se consideraron la raza ni la etnia.

La invitación a participar en el estudio se hizo de forma directa o a través de redes sociales. En total, 180 mujeres de 40 a 80 años de edad respondieron a la invitación y acudieron al Centro de Investigación en Nutrición y Salud Pública de la Facultad de Salud Pública y Nutrición de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Se excluyeron las participantes con enfermedades o condiciones que pudiesen tener efecto sobre el metabolismo óseo (trastornos crónicos, enfermedades metabólicas y enfermedades esqueléticas diferentes a la osteoporosis), menopausia precoz (antes de los 40 años), pacientes que utilizaban fármacos con efecto en el metabolismo óseo (terapia de reemplazo hormonal, corticoides, anabolizantes, medicamentos anticonvulsivos e inhibidores de la resorción ósea); además, como lo sugieren Deng, *et al.* (36), para este tipo de estudios, se excluyeron las mujeres con parentesco familiar, con lo cual se incluyeron 124 mujeres aparentemente sanas.

El estudio fue aprobado por el Comité de Investigación de la Facultad de Salud Pública y Nutrición (14-FaSPyN-SA-07), y se obtuvo el consentimiento informado de todas las participantes según lo establecido en el Reglamento de la Ley General de Salud de México en materia de investigación para la salud (37).

### **Determinación de la densidad mineral ósea**

La determinación de la densidad mineral ósea de todo el cuerpo, en ambas caderas, en el cuello femoral, en el triángulo de Ward, en el trocánter, en la columna lumbar antero-posterior, L1-L4 y L2-L4, se hizo mediante absorciometría dual de rayos X utilizando el densitómetro Lunar Prodigy Advance™, modelo 301264, (GE Healthcare), según el protocolo proporcionado por el fabricante. Las mediciones se presentan en gramos por centímetro cuadrado (g/cm<sup>2</sup>).

### **Genotipificación**

La extracción del ADN genómico a partir de muestras de sangre periférica de las participantes, se hizo utilizando el estuche comercial QIAamp DNA Blood Maxi Kit™ (QIAGEN Inc., Valencia, CA), según las instrucciones del fabricante.

Los SNP se seleccionaron de acuerdo con los siguientes criterios: una frecuencia del alelo menor (*Minor Allele Frequency*, MAF) de más del 5 % en población caucásica, aquellos previamente asociados con la densidad mineral ósea en estudios de asociación con el gen candidato, en el *Genome-Wide Association Study* y en metaanálisis.

La genotipificación de los SNP se hizo mediante ensayos de discriminación alélica, utilizando las siguientes sondas TaqMan™ ya diseñadas (Applied Biosystems, Foster City, CA): C\_29449322\_10 para rs6514116, C\_16177763\_10 para rs2273061, C\_1265674\_1\_ para rs2235811 y C\_1265679\_20

para rs6040061 en el gen *JAG1*; C\_3297670\_10 para rs1366594, C\_2836624\_10 para rs12521522, C\_2836609\_10 para rs11951031 en el gen *MEF2C*, y C\_11592758\_10 para rs6265 del gen *BDNF*.

Cada sonda TaqMan™ consta de un solo tubo listo para su uso, el cual contiene dos oligonucleótidos específicos de la secuencia para amplificar el SNP de interés, dos sondas TaqMan™ específicas para la detección de los alelos del SNP, una marcada en el extremo 5' con el fluoróforo VIC™ para el alelo 1 y con FAM™ para el alelo 2. Además, ambas sondas contienen en el extremo 3' una molécula apagadora (*quencher*) unida al fluoróforo TAMRA™, el cual inhibe la emisión de la fluorescencia mientras la sonda permanece intacta.

Durante la reacción de PCR, hay hibridación de los oligonucleótidos con una secuencia específica del molde de ADN; si este contiene la secuencia polimórfica, la sonda TaqMan también presenta hibridación con su secuencia homóloga. En la PCR, la enzima AmpliTaqGold, que tiene actividad tanto de la ADN polimerasa como de la exonucleasa 5' → 3', es capaz de digerir la sonda marcada durante la amplificación y liberar al fluoróforo de la acción del *quencher*, por lo que, bajo las condiciones utilizadas durante la reacción, solo la sonda específica para el SNP presente sufre hibridación. De esta forma, es posible diferenciar un alelo del otro con base en el tipo de fluorescencia emitida.

Las reacciones de PCR se hicieron en un volumen final de 5 µl cada una, siguiendo el protocolo del fabricante; se llevaron a cabo en una placa de 96 pocillos en un sistema de PCR en tiempo real (StepOnePlus Real-Time PCR System™, Thermo Fisher Scientific, Inc.). El protocolo de amplificación consistió en un ciclo de 10 minutos a 95 °C, seguido de 45 ciclos de 15 segundos a 95 °C y de 60 segundos a 60 °C. Los genotipos se asignaron mediante la detección de fluorescencia específica del alelo con el programa SDS 2.2.3 para la discriminación alélica (Applied Biosystems, Foster City, CA).

### Análisis estadístico

Los datos bioquímicos y antropométricos se presentan como promedios y desviaciones estándar. Las frecuencias genotípicas y alélicas de todos los SNP se expresaron como porcentajes. Para descartar la subestructura genética de la población, se compararon las frecuencias alélicas de los SNP presentes en las mujeres que conformaban la generación 15 (54 a 80 años) y la generación

16 (menores de 53 años), para lo cual, primero se determinó que ambas poblaciones estuvieran en equilibrio de Hardy-Weinberg y, posteriormente, se analizó la similitud en la frecuencia de alelos con la prueba de ji al cuadrado. El equilibrio de Hardy-Weinberg se determinó utilizando el programa de Court (38), disponible en internet.

La asociación entre la densidad mineral ósea y los polimorfismos, se determinó mediante un análisis de regresión lineal simple, ajustando los valores por edad e índice de masa corporal (IMC). En estos análisis se utilizaron los modelos de herencia aditivo (1/1 Vs. 1/2 Vs. 2/2), dominante (1/1 Vs. 1/2 + 2/2) y recesivo (1/1 + 1/2 Vs. 2/2), como lo proponen Iniesta, *et al.* (39). Los análisis estadísticos se hicieron con el programa SPSS™, versión 20 (SPSS, Inc.; Chicago, IL, USA). Los valores de p menores de 0,05 se consideraron estadísticamente significativos.

### Resultados

Las características generales de la población estudiada se presentan en el cuadro 1. En la etapa inicial se analizaron ocho SNP: cuatro del gen *JAG1*, tres del gen *MEF2C* y uno del gen *BDNF*, cuyos detalles se describen en el cuadro 2. Dos de los polimorfismos del gen *MEF2C* resultaron monomorfos en la población estudiada (para el rs12521522 solo se obtuvo el genotipo TT y, para el rs11951031, solamente el genotipo CC), por lo que fueron excluidos de los análisis posteriores.

Para descartar la existencia de subestructuras genéticas y, dado que la ciudad de Monterrey fue fundada en 1596 y hasta el momento han transcurrido 17 generaciones, se compararon las frecuencias alélicas de los SNP presentes en las generaciones 15 (mujeres de 54 a 80 años, n=103) y 16 (mujeres de 40 a 53 años, n=21). En general, en las dos generaciones la distribución alélica de los SNP analizados fue similar, observándose valores de p entre 0,19 y 0,52; ambas poblaciones estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg (p entre 0,51 y 0,99). El único SNP que no cumplió con esta condición fue el rs6265 del gen *BDNF* (p=0,01 y p=0,03 para las generaciones 15 y 16, respectivamente).

Las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos en la población total, se muestran en el cuadro 3. Se observó que los polimorfismos de los genes *JAG1* y *MEF2C* se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg, en tanto que el correspondiente al gen *BDNF* no cumplía con esta condición.

**Cuadro 1.** Características generales de la población estudiada

Variable	Media (DE)
Edad (años)	63,45 (9,02)
Peso (kg)	69,34 (13,13)
Estatura (cm)	154,39 (6,34)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	29,14 (4,95)
Grasa corporal (%)	44,69 (6,09)
DMO (g/cm <sup>2</sup> )	
DMO-CT	1,058 (0,099)
DMO-C	0,926 (0,127)
DMO-CF	0,862 (0,120)
DMO-TW	0,682 (0,137)
DMO-T	0,749 (0,115)
DMO L1-L4	0,999 (0,154)
DMO L2-L4	1,018 (0,165)
	n=124

DE: desviación estándar; IMC: índice de masa corporal; DMO: densidad mineral ósea; CT: todo el cuerpo; C; cadera, CF: cuello femoral; TW: triángulo de Ward; T: trocánter; n: número de pacientes.

L1-L4: lumbar 1-4

L2-L4: lumbar 2-4

**Cuadro 2.** Información correspondiente a los polimorfismos de un solo nucleótido analizados en este estudio

Gen	Posición del gen	SNP	Alelo	Posición en el gen
<i>MEF2C</i>	5q14.3	rs1366594	C/A	Intergénico
		rs12521522	A/T	Intrón 4
		rs11951031	C/T	Intrón 3
<i>JAG1</i>	20p12.1 – p11.23	rs6514116	A/G	Intrón 4
		rs2273061	A/G	Intrón 3
		rs2235811	C/T	Intrón 3
		rs6040061	A/C	Intrón 3
<i>BDNF</i>	11p14.1	rs6265	G/A	Exón 2

SNP: polimorfismo de un solo nucleótido

Los resultados de los análisis de regresión lineal con asociación significativa o tendencias de asociación entre los SNP y las variaciones de la densidad mineral ósea, se presentan en el cuadro 4. Solo el rs2235811 del gen *JAG1* se asoció significativamente con variaciones de la densidad mineral ósea de todo el cuerpo, al utilizar el modelo dominante. El resto de los SNP del gen *JAG1* (rs6514116, rs2273061 y rs6040061) mostraron tendencias a asociarse (valores de  $p > 0,050$  y  $< 0,099$ ) con variaciones de la densidad mineral ósea de todo el cuerpo con el mismo modelo. Asimismo, los SNP rs2273061, rs2235811 y rs6040061 mostraron tendencia a asociarse con la densidad del trocánter en el modelo dominante, en tanto que con los rs2235811 y rs6040061 se observaron tendencias de asociación con la densidad mineral ósea del triángulo de Ward en el modelo recesivo.

Por otra parte, el rs1366594 del gen *MEF2C* no mostró asociación estadísticamente significativa con las regiones óseas analizadas; sin embargo, en la columna lumbar (L1-L4) se determinó una tendencia a la asociación con variaciones de la densidad mineral ósea en los modelos aditivo y recesivo; también, se observó esta tendencia a la asociación con la región L2-L4. Por último, con el rs6265 del gen *BDNF* solo se observó una tendencia a la asociación con la región L1-L4 en el modelo de herencia recesivo.

## Discusión

En este estudio se analizó la asociación de ocho polimorfismos de los genes *JAG1*, *MEF2C* y *BDNF* con variaciones en la densidad mineral ósea de mujeres del norte de México.

En la población analizada, los SNP rs12521522 y rs11951031 del gen *MEF2C* fueron monomorfos,

**Cuadro 3.** Frecuencias genotípicas, alélicas y valores de p del equilibrio de Hardy-Weinberg de los polimorfismos de un solo nucleótido de los genes *JAG1*, *MEF2C* y *BDNF* en mujeres del norte de México

SNP	Genotipo	Número de pacientes	%	HWE
rs6514116	A/A	42	33,9	p=0,483
<i>JAG1</i>	A/G	57	45,9	
	G/G	25	20,2	
Frecuencia alélica	A	141	56,9	p=0,963
	G	107	43,1	
rs2273061	A/A	35	28,2	
<i>JAG1</i>	A/G	62	50,0	p=0,382
	G/G	27	21,8	
Frecuencia alélica	A	132	53,2	
	G	116	46,8	p=0,965
rs2235811	C/C	49	40,2	
<i>JAG1</i>	C/T	53	43,7	p=0,899
	T/T	20	16,1	
Frecuencia alélica	C	151	61,9	
	T	93	38,1	p=0,005
rs6040061	A/A	45	36,9	
<i>JAG1</i>	A/C	58	47,5	p=0,899
	C/C	19	15,6	
Frecuencia alélica	A	148	60,7	
	C	96	39,3	p=0,005
rs1366594	C/C	41	33,1	
<i>MEF2C</i>	C/A	60	48,4	p=0,005
	A/A	23	18,5	
Frecuencia alélica	C	142	57,3	
	A	106	42,7	p=0,005
rs6265	G/G	90	72,6	
<i>BDNF</i>	G/A	26	21,0	p=0,005
	A/A	8	6,4	
Frecuencia alélica	G	206	83,1	
	A	42	16,9	

SNP: polimorfismo de un solo nucleótido

HWE: equilibrio de Hardy-Weinberg

resultados similares a los reportados en estudios de otros autores en la población mexicana (27). Con el rs1366594, el alelo A resultó ser el de menor frecuencia, aunque con una frecuencia superior (0,43) a la encontrada previamente en la población mexicana (0,33) y en la africana (0,14) (27), y fue similar a la de la europea (0,52) y la asiática (0,39) (8,40). Aunque se confirmó la presencia del rs1366594, no se encontró asociación significativa con la densidad mineral ósea de las diferentes regiones corporales analizadas. Este resultado concuerda con lo descrito previamente en la población del centro de México (27), pero difiere de los resultados obtenidos por Park, *et al.* (23), quienes reportaron una asociación de este SNP con la densidad mineral ósea del cuello femoral, pero no con la de la columna lumbar, en una población coreana.

Las frecuencias de los alelos menores de los SNP rs2273061, rs2235811 y rs6040061 del gen *JAG1*, fueron similares a las reportadas previamente para la población mexicana (26,27); la frecuencia del alelo menor del rs2273061 fue superior a la descrita para la población de Hong Kong (25). Los análisis de asociación de los polimorfismos del *JAG1* con la

densidad mineral ósea, revelaron que únicamente el rs2235811 se asociaba con variaciones en la densidad ósea de todo el cuerpo. Estos resultados concuerdan con lo reportado en estudios en mujeres mexicanas posmenopáusicas de origen étnico mestizo en el centro del país, en los que tampoco se encontró una asociación significativa (26,27). Aunque no de manera significativa, algunos SNP mostraron tendencia a asociarse con diferentes regiones óseas, principalmente en el modelo dominante.

Es interesante señalar que los resultados obtenidos, tanto en este estudio como en estudios previos en población mexicana, evidencian que, mientras que el rs2235811 del *JAG1* se asoció con variaciones de la densidad mineral ósea, en el resto de los SNP no se observó tal asociación. Estos resultados son completamente antagónicos a los reportados en estudios en poblaciones europeas o asiáticas, en los cuales se ha determinado que los SNP rs2273061 y rs6514116 son los que presentan asociación significativa con la densidad mineral ósea del cuello femoral y la columna lumbar, mientras que con el rs2235811 no se ha observado tal asociación.

**Cuadro 4.** Asociación de los polimorfismos de los genes *JAG1*, *MEF2C* y *BDNF* con la densidad mineral ósea en mujeres del norte de México

Polimorfismo de un solo nucleótido	Genotipo			Modelo	$\beta$ (IC <sub>95%</sub> )	p
<i>JAG1</i>						
rs6514116	A/A	A/G	G/G			
	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)			
DMO-CT	1,079 (0,104)	1,046 (0,093)	1,064 (0,106)	Dominante	- 0,026 (-0,001; 0,053)	0,062
rs2273061	A/A	A/G	G/G			
DMO-CT	1,081 (0,098)	1,054 (0,095)	1,050 (0,114)	Dominante	- 0,028 (0,000; 0,056)	0,052
DMO-T	0,776 (0,123)	0,742 (0,102)	0,733 (0,128)	Dominante	- 0,032 (-0,005; 0,069)	0,087
rs2235811	C/C	C/T	T/T			
DMO-CT	1,071 (0,102)	1,040 (0,097)	1,079 (0,100)	Dominante	- 0,030 (0,004; 0,056)	0,024*
DMO-TW	0,694 (0,109)	0,660 (0,145)	0,722 (0,175)	Recesivo	0,042 (-0,091; 0,007)	0,093
DMO-T	0,741 (0,119)	0,731 (0,110)	0,774 (0,115)	Dominante	- 0,032 (-0,001; 0,066)	0,061
rs6040061	A/A	A/C	C/C			
DMO-CT	1,075 (0,100)	1,045 (0,098)	1,074 (0,103)	Dominante	- 0,024 (-0,003; 0,051)	0,078
DMO-TW	0,695 (0,108)	0,659 (0,143)	0,729 (0,173)	Recesivo	0,047 (-0,097; 0,003)	0,063
DMO-T	0,771 (0,111)	0,735 (0,115)	0,747 (0,119)	Dominante	- 0,029 (-0,005; 0,063)	0,099
<i>MEF2C</i>						
rs1366594	C/C	C/A	A/A			
DMO L1-L4	1,000 (0,169)	0,991 (0,143)	1,027 (0,167)	Aditivo	0,034 (-0,069; 0,001)	0,057
				Recesivo	0,054 (-0,116; 0,009)	0,091
DMO L2-L4	1,026 (0,179)	1,006 (0,153)	1,049 (0,180)	Aditivo	0,032 (-0,070; 0,005)	0,092
				Recesivo	0,058 (-0,125; 0,009)	0,091
<i>BDNF</i>						
rs6265	G/G	G/A	A/A			
DMO L1-L4	1,001 (0,159)	1,032 (0,150)	0,902 (0,111)	Recesivo	- 0,084 (-0,014; 0,182)	0,092

DE: desviación estándar; DMO: densidad mineral ósea; CT: todo el cuerpo; TW: triángulo de Ward; T: trocánter; L1-L4: lumbar 1-lumbar 4; L2-L4: lumbar 2-lumbar 4; \*Diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ )

En cuanto a los polimorfismos del gen *BDNF*, en investigaciones recientes se ha encontrado que el polimorfismo rs6265 se asociaba con variaciones en la densidad mineral ósea (6,30,41). Este SNP se caracteriza por el cambio alélico G/A y, en el estudio de Estrada, *et al.*, de 2012 en varones de Europa y de Asia Oriental, se asoció significativamente con la densidad mineral ósea del cuello femoral, siendo los homocigotos para el alelo de menor frecuencia (A) los que presentaron menor densidad mineral ósea, en comparación con los individuos con el alelo G (GA y GG) (6). En otro estudio, Deng, *et al.* (30), reportaron resultados similares al encontrar una asociación entre el rs6265 y la densidad mineral ósea de ambas caderas en sujetos tanto de origen caucásico como de origen asiático, en tanto que, en los individuos homocigotos AA, se determinaron niveles menores de densidad mineral ósea comparados con quienes presentaban el alelo G (GA y GG).

Por el contrario, en el presente estudio no se encontró asociación entre el rs6265 y la densidad mineral ósea de las mujeres participantes, aunque debe señalarse que este SNP no presentaba el equilibrio de Hardy-Weinberg. La pérdida de dicho equilibrio puede deberse a una baja frecuencia del alelo menor y al método de genotipificación empleado, lo que podría dar lugar a sesgos en la interpretación de los resultados, ya que en ocasiones resulta más fácil detectar un genotipo que otros (39). Esta es una de las posibles razones de no haber encontrado asociación entre el rs6265 y la densidad mineral ósea en la población de estudio, ya que la frecuencia del alelo menor fue muy baja en ella (0,17) y, por ello, estos datos deben tratarse con reserva. Otra posible interpretación de las discrepancias encontradas es que en el estudio de Deng, *et al.*, de 2013, se hizo en varones de origen caucásico y asiático.

Por último, es importante considerar que, en la población estudiada, el alelo que presentó mayor frecuencia fue el G (83,1), el cual se ha asociado con valores de densidad mineral ósea mayores en el cuello femoral en comparación con el alelo A, hallazgo que sugiere que la población incluida en el presente estudio posee un alelo protector frente a los valores bajos de densidad mineral ósea.

La población de México es genéticamente diversa (34,42), por lo que se requieren estudios más detallados de la estructura genética para evaluar la frecuencia y la prevalencia de las enfermedades genéticas más comunes en sus poblaciones

nativas y mestizas. En estudios anteriores, se han reportado diferencias significativas tanto genéticas como fenotípicas según la región geográfica, lo cual evidencia la necesidad de un análisis exhaustivo de las diferentes poblaciones del país.

En conclusión, este es el primer reporte sobre las frecuencias de los polimorfismos de los genes *JAG1*, *MEF2C* y *BDNF* en mujeres del norte de México en el que se ha detectado una asociación entre el SNP rs2235811 y la densidad mineral ósea de todo el cuerpo. Sin embargo, debido a la gran diversidad genética de la población mexicana, se requiere de una muestra más grande para confirmar la asociación detectada y tener un cuadro más completo de la predisposición genética hacia la osteoporosis y los SNP asociados con ella en la población del norte de México.

### Agradecimientos

Los autores desean agradecer a todos los participantes en la investigación por su colaboración, así como a la Universidad Autónoma de Nuevo León por la Beca de Formación Académica de Profesores y Egresados (0479-13-E) y a la Facultad de Salud Pública y Nutrición de dicha institución.

### Financiación

Este trabajo fue financiado por el Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica PAICYT-UANL 2010-2012 (CS1168-11) y por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (SALUD-2010-01-139795).

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

### Referencias

1. **World Health Organization.** Prevention and management of osteoporosis: Report of a WHO scientific group. Singapur: WHO; 2003. p. 921.
2. **Muñoz-Torres M, Varsavsky M, Avilés-Pérez MD.** Osteoporosis. Definición epidemiología. Rev Osteoporos Metab Miner. 2010;2(Supl.3):S5-7.
3. **Clark P, Carlos F, Vázquez-Martínez LJ.** Epidemiology, costs and burden of osteoporosis in México. Arch Osteoporos. 2010;5:9-17.
4. **Özbaş H, Tutgun-Onrat S, Özdamar K.** Genetic and environmental factors in human osteoporosis. Mol Biol Rep. 2012;39:11289-96. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-2038-5>
5. **Ng MYM, Sham PC, Paterson AD, Chan V, Kung AW.** Effect of environmental factors and gender on the heritability of bone mineral density and bone size. Ann Hum Genet. 2006;70: 428-38. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.2005.00242.x>

6. Estrada K, Styrkarsdottir U, Evangelos E, Hsu YH, Duncan EL, Ntzani EE, *et al.* Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture. *Nat Genet.* 2012;44:491-501. <https://doi.org/10.1038/ng.2249>
7. Rivadeneira F, Styrkarsdottir U, Estrada K, Halldórsson BV, Hsu YH, Richards JB, *et al.* Twenty bone mineral density loci identified by large-scale meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat Genet.* 2009;41:1199-206. <https://doi.org/10.1038/ng.446>
8. Styrkarsdottir U, Halldórsson BV, Gudbjartsson DF, Tang NL, Koh JM, Xiao S, *et al.* European bone mineral density loci are also associated with BMD in East-Asian population. *PLoS One.* 2010;5:e13217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013217>
9. Lisker R, López MA, Jasqui S, Ponce de León Rosales, S, Correa-Rotter R, Sánchez S, *et al.* Association of vitamin D receptor polymorphisms with osteoporosis in Mexican postmenopausal women. *Hum Biol.* 2003;75:399-403. <https://doi.org/10.1353/hub.2003.0045>
10. González-Mercado A, Sánchez-López JY, Regla-Nava JA, Gámez-Nava JI, González-López L, Durán-González J, *et al.* Association analysis of vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density in postmenopausal Mexican-Mestizo women. *Genet Mol Res.* 2013;12:2755-63. <https://doi.org/10.4238/2013.July.30.13>
11. Castelan-Martínez OD, Vivanco-Muñoz N, Falcón-Ramírez E, Valdés-Flores M, Clark P. *VDR* polymorphism and osteoporosis risk in postmenopausal Mexican women. *Gac Med Mex.* 2015;151:472-6.
12. Jiménez-Salas Z, Hernández-Tobías EA, Ramírez-López TE, Campos-Góngora E. Association of polymorphism TaqI of vitamin D receptor with bone mineral density in young Mexican women. *Nutr Hosp.* 2012;27:1505-10. <https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.5.5673>
13. Gómez R, Magaña JJ, Cisneros B, Pérez-Salazar E, Faugeron S, Véliz D, *et al.* Association of the estrogen receptor alpha gene polymorphisms with osteoporosis in the Mexican population. *Clin Genet.* 2007;72:574-81. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2007.00898.x>
14. Falcón-Ramírez E, Casas-Ávila L, Miranda A, Díez P, Castro C, Rubio J, *et al.* *Sp1* polymorphism in collagen I  $\alpha 1$  gene is associated with osteoporosis in lumbar spine of Mexican women. *Mol Biol Rep.* 2011;38:2987-92. <https://doi.org/10.1007/s11033-010-9963-y>
15. Magaña JJ, Gómez R, Cisneros B, Casas L, Valdés-Flores M. Association of interleukin-6 gene polymorphisms with bone mineral density in Mexican women. *Arch Med Res.* 2008;39:618-24. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2008.05.006>
16. Magaña JJ, Gómez R, Cisneros B, Casas L, Castorena F, Miranda A, *et al.* Association of the CT gene (CA) polymorphism with BMD in osteoporotic Mexican women. *Clin Genet.* 2006;70:402-8. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2006.00703.x>
17. Falcón-Ramírez E, Casas-Ávila L, Cerda-Flores RM, Castro-Hernández C, Rubio-Lightbourn J, Velázquez-Cruz R, *et al.* Association of *LRP5* haplotypes with osteoporosis in Mexican women. *Mol Biol Rep.* 2013;40:2705-10. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-2357-6>
18. Villalobos-Comparán M, Jiménez-Ortega RF, Estrada K, Parra-Torres AY, González-Mercado A, Patiño N, *et al.* A pilot genome-wide association study in postmenopausal Mexican-Mestizo women implicates the RMND1/CCDC170 locus is associated with bone mineral density. *Int J Genomics.* 2017;2017:5831020. <https://doi.org/10.1155/2017/5831020>
19. Kramer I, Baertschi S, Halleux C, Keller H, Kneissel M. *Mef2c* deletion in osteocytes results in increased bone mass. *J Bone Miner Res.* 2012;27:360-73. <https://doi.org/10.1002/jbmr.1492>
20. Monroe DG, McGee-Lawrence ME, Oursler MJ, Westendorf JJ. Update on Wnt signaling in bone cell biology and bone disease. *Gene.* 2012;492:1-18. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2011.10.044>
21. Gifre L, Ruiz-Gaspá S, Monegal A, Nomdedeu B, Filella X, Guañabens N, *et al.* Effect of glucocorticoid treatment on Wnt signalling antagonists (sclerostin and Dkk-1) and their relationship with bone turnover. *Bone.* 2013;57:272-6. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2013.08.016>
22. Johnson ME, Deliard S, Zhu F, Xia Q, Wells AD, Hankenson KD, *et al.* A ChIP-seq-defined genome-wide map of *MEF2C* binding reveals inflammatory pathways associated with its role in bone density determination. *Calcif Tissue Int.* 2014;94:396-402. <https://doi.org/10.1007/s00223-013-9824-5>
23. Park SE, Oh KW, Lee WY, Baek KH, Yoon KH, Son HY, *et al.* Association of osteoporosis susceptibility genes with bone mineral density and bone metabolism related markers in Koreans: The Chungju Metabolic Disease Cohort (CMC) study. *Endocr J.* 2014;61:1069-78. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ14-0119>
24. Zhu F, Sweetwyne MT, Hankenson KD. *PKC $\delta$*  is required for Jagged-1 induction of human mesenchymal stem cell osteogenic differentiation. *Stem Cells.* 2013;31:1181-92. <https://doi.org/10.1002/stem.1353>
25. Kung AW, Xiao SM, Cherny S, Li GH, Gao Y, Tso G, *et al.* Association of *JAG1* with bone mineral density and osteoporotic fractures: A genome-wide association study and follow-up replication studies. *Am J Hum Genet.* 2010;86:229-39. <https://doi.org/10.1016/j.ahg.2009.12.014>
26. Rojano-Mejía D, Coral-Vázquez RM, Cortés-Espinosa L, López-Medina G, Aguirre-García MC, Coronel A, *et al.* *JAG1* and *COL1A1* polymorphisms and haplotypes in relation to bone mineral density variations in postmenopausal Mexican-Mestizo women. *Age (Dordr).* 2013;35:471-8. <https://doi.org/10.1007/s11357-011-9363-9>
27. Velázquez-Cruz R, Jiménez-Ortega RF, Parra-Torres A, Castillejos-López M, Patiño N, Quiterio M, *et al.* Analysis of association of *MEF2C*, *SOST* and *JAG1* genes with bone mineral density in Mexican-Mestizo postmenopausal women. *BMC Musculoskelet Disord.* 2014;15:400. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-15-400>
28. McDowell KA, Hutchinson AN, Wong-Goodrich SJ, Presby MM, Su D, Rodríguez RM, *et al.* Reduced cortical *BDNF* expression and aberrant memory in *Carf* knock-out mice. *J Neurosci.* 2010;30:7453-65. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3997-09.2010>
29. Nakanishi T, Takahashi K, Aoki C, Nishikawa K, Hattori T, Taniguchi S. Expression of nerve growth factor family



- neurotrophins in a mouse osteoblastic cell line. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994;198:891-7. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1994.1127>
30. **Deng FY, Tan LJ, Shen H, Liu YJ, Liu YZ, Li J, *et al.*** SNP rs6265 regulates protein phosphorylation and osteoblast differentiation and influences BMD in humans. *J Bone Miner Res.* 2013;28:2498-507. <https://doi.org/10.1002/jbmr.1997>
  31. **Guo Y, Dong SS, Chen XF, Jing YA, Yang M, Yan H, *et al.*** Integrating epigenomic elements and GWASs identifies *BDNF* gene affecting bone mineral density and osteoporotic fracture risk. *Sci Rep.* 2016;6:30558. <https://doi.org/10.1038/srep30558>
  32. **Price AL, Butler J, Patterson N, Capelli C, Pascali VL, Scarnicci F, *et al.*** Discerning the ancestry of European Americans in genetic association studies. *PLoS Genet.* 2008;4:e236. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030236>
  33. **Silva-Zolezzi I, Hidalgo-Miranda A, Estrada-Gil J, Fernández-López JC, Uribe-Figueroa L, Contreras A, *et al.*** Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in México. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106:8611-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.0903045106>
  34. **Moreno-Estrada A, Gignoux CR, Fernández-López JC, Zakharia F, Sikora M, Contreras AV, *et al.*** Human genetics. The genetics of México recapitulates Native American substructure and affects biomedical traits. *Science.* 2014; 344:1280-5. <https://doi.org/10.1126/science.1251688>
  35. **Delezé M, Cons-Molina F, Villa AR, Morales-Torres J, González-González JG, Calva JJ, *et al.*** Geographic differences in bone mineral density of Mexican women. *Osteoporos Int.* 2000;11:562-9.
  36. **Deng HW, Shen H, Xu FH, Deng HY, Conway T, Zhang HT, *et al.*** Test of linkage and/or association of genes for vitamin D receptor, osteocalcin, and parathyroid hormone with bone mineral density. *J Bone Miner Res.* 2002;17:678-86. <https://doi.org/10.1359/jbmr.2002.17.4.678>
  37. **Secretaría de Salud.** Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. Fecha de consulta: 21 de marzo de 2016. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/rlgsmis.html>
  38. **Court MH.** A simple calculator to determine whether observed genotype frequencies are consistent with Hardy-Weinberg equilibrium. (2005-2008). Comparative and Molecular Pharmacogenomics Laboratory, Tufts University. Fecha de consulta: 12 de marzo de 2016. Disponible en: <http://fletcher.tufts.edu/~media/Fletcher/Microsites/congratulations/AY2016-2017%20Certification%20of%20Souces%20of%20Funds%20Form.pdf>
  39. **Iniesta R, Guinó E, Moreno V.** Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gac Sanit.* 2005;19:333-41.
  40. **Ensembl.org.** Human (GRCh38.p10). Fecha de consulta: 12 de marzo de 2016. Disponible en: [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?db=core;r=5:89079744-89080744;v=rs1366594;vdb=variation;vf=926764#population\\_freq\\_AMR](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=5:89079744-89080744;v=rs1366594;vdb=variation;vf=926764#population_freq_AMR)
  41. **Kajiya M, Shiba H, Fujita T, Ouhara K, Takeda K, Mizuno N, *et al.*** Brain-derived neurotrophic factor stimulates bone/cementum-related protein gene expression in cementoblasts. *J Biol Chem.* 2008;283:16259-67. <https://doi.org/10.1074/jbc.M800668200>
  42. **Contreras-Cubas C, Sánchez-Hernández BE, García-Ortiz H, Martínez-Hernández A, Barajas-Olmos F, Cid M, *et al.*** Heterogenous distribution of MTHFR gene variants among Mestizos and diverse Amerindian groups from Mexico. *PLoS One.* 2016;11:e0163248. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163248>