

# Universidad Católica de Santa María

## Facultad de Medicina Humana

### Escuela Profesional de Medicina Humana



## “ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO DEL GEN T869C DEL TGF BETA 1 CON OSTEOPOROSIS EN MUJERES POSMENOPÁUSICAS - AREQUIPA 2019”

**Tesis Presentada por la bachiller:**

Atahualpa Manrique, Andrea del Rosario.

**para optar el Título Profesional de Médico Cirujano.**

**Asesor:** Dr. Huanqui Guerra, Carlos Efraín

**AREQUIPA - PERÚ**

**2019**

**INFORME DICTAMEN BORRADOR DE TESIS**  
**DECRETO N° 284 - FMH-2018**

Visto el Borrador de Tesis titulado:

**"ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO DEL GEN T869C DEL TGF BETA 1 CON OSTEOPOROSIS EN MUJERES POSMENOPÁUSICAS - AREQUIPA 2019"**

Presentado por el (la) Sr. (ta):

**ANDREA DEL ROSARIO ATAHUALPA MANRIQUE**

Nuestro dictamen es:

*Es Favorable.*

OBSERVACIONES:

*Cumplió con señalar las observaciones*

Arequipa, ..... 27 / 08 / 19 .....

*[Signature]*  
.....  
DR. JESÚS SANCHEZ MERO

*[Signature]*  
.....  
DR. EUGENIA CHIRINOS ZEPEDA

GINECOLOGO OBSTETRA  
CMP 17418 RNE 9247  
MAG-Salud

*[Signature]*  
.....  
DR. PERCY CALDERON PEREZ

## DEDICATORIA



**A DIOS**  
POR HABERME DADO SALUD, PACIENCIA Y PERSEVERANCIA PARA  
ALCANZAR MIS OBJETIVOS.

**A MIS PADRES**  
POR SU APOYO CONSTANTE, CONSEJOS Y VALORES INFUNDADOS, PERO  
PRINCIPALMENTE POR SU AMOR.

**A MI HERMANA**  
POR SER MI PRINCIPAL EJEMPLO DE RESPONSABILIDAD, PERSEVERANCIA Y  
SUPERACION.



*“Dondequiera que el arte de la medicina es amado, también hay un amor a la humanidad.”*

Hipócrates

## ÍNDICE

Dedicatoria.....	i
Epigrafe .....	ii
Índice .....	iii
Resumen .....	iv
Abstract.....	v
Introduccion.....	vi
Capitulo 1: Materiales y Métodos .....	1
Capitulo 2: Resultados.....	13
Capitulo 3: Discusión .....	29
Capitulo 4: Conclusiones.....	33
Capitulo 5: Recomendaciones .....	35
Referencia bibliográfica .....	37
Anexos.....	41

## RESUMEN

Se realiza un estudio para probar la hipótesis que el polimorfismo del gen TGF beta 1 este asociado al desarrollo de la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas en Arequipa 2019.

**OBJETIVO:** Evaluar la asociación del polimorfismo T869C del gen TGF beta 1 con osteoporosis en mujeres posmenopáusicas. **DISEÑO:** Transversal, casos y controles, retrospectivo.

**MATERIALES Y METODOS:** Se estudiaron 49 mujeres postmenopáusicas, las que fueron elegidas inicialmente por conveniencia; se formaron dos grupos: uno de mujeres sin osteoporosis (osteopenia), y otro de mujeres con osteoporosis. A ambos grupos se les realizo toma para evaluar la expresión del polimorfismo TGF beta 1.

Este estudio fue realizado entre Marzo y Abril del 2019. **RESULTADOS Y DISCUSION:**

El polimorfismo del TGF beta 1 y la edad mayor a 59 años se asocian con el desarrollo de osteoporosis ( $P \leq 0.05$ ). Del total de las muestras de estudio, el 26.5% presenta genotipo heterocigoto mutado (TC), el 73.5% genotipo homocigoto normal (TT) y no se encontró genotipo homocigoto mutado (CC). La determinación de la expresión del polimorfismo del gen TGF beta 1, es una prueba de predictibilidad. **CONCLUSIONES: Primera:** Existe asociación entre la expresión del polimorfismo T869C del gen TGF beta 1 y el desarrollo de la osteoporosis. **Segunda:** No existe asociación entre el grado de severidad de la osteoporosis y la expresión del polimorfismo T869C del gen TGF beta 1. **Tercera:** El genotipo predominante en la población de estudio fue el genotipo homocigoto normal (TT), seguido del genotipo heterocigoto mutado (TC). No hubo casos del genotipo homocigoto mutado (CC). **Cuarta:** Se concluye de los resultados, que el polimorfismo T869C del gen TGF beta 1 este asociado al desarrollo de osteoporosis. Y su valor es de predictibilidad.

**PALABRAS CLAVES:** Osteoporosis, diagnostico, TGF beta 1, polimorfismo.

## ABSTRACT

This study is carried out to test the hypothesis that the polymorphism of the TGF beta 1 gene is associated with the development of osteoporosis in postmenopausal women in Arequipa, 2019. **OBJECTIVE:** Evaluate the association of the T869C polymorphism of the TGF beta 1 gene with osteoporosis in postmenopausal women. **DESIGN:** Transversal, cases and controls, retrospective. **MATERIALS AND METHODS:** 49 postmenopausal women were studied, which were initially chosen for convenience; two groups were formed: one of women without osteoporosis (osteopenia), and another of women with osteoporosis. Both groups were taken to evaluate the expression of TGF beta 1 polymorphism. This study was conducted between March and April 2019. **RESULTS AND DISCUSSION:** TGF beta 1 polymorphism and the age over 59 years are associated with development of osteoporosis ( $P \leq 0.05$ ). Of the total study samples, 26.5% presented mutated heterozygous genotype (CT), 73.5% normal homozygous genotype (TT) and no mutated homozygous genotype (CC) was found. The determination of the expression of the TGF beta 1 gene polymorphism is a test of predictability. **CONCLUSIONS: First:** There is association between the expression of the T869C polymorphism of the TGF beta 1 gene and the development of osteoporosis. **Second:** There is no association between the degree of severity of osteoporosis and the expression of the T869C polymorphism of the TGF beta 1 gene. **Third:** The predominant genotype in the study population was the normal homozygous genotype (TT), followed by the mutated heterozygous genotype (CT). There were no cases of the homozygous mutated genotype (CC). **Fourth:** It is concluded from the results that the T869C polymorphism of the TGF beta 1 gene is associated with the development of osteoporosis. And its value is predictability.

**KEYWORDS:** Osteoporosis, diagnosis, TGF beta 1, polymorphism.

## INTRODUCCIÓN

La osteoporosis es una enfermedad considerada un problema de salud pública, debido a las complicaciones y secuelas que genera dando un alto nivel de compromiso en la calidad de vida de quienes la padecen, así como de aquellos implicados en su cuidado<sup>11</sup>.

Según un reporte de la Fundación Internacional de Osteoporosis (IOF) del año 2010, se estima que un promedio de 200 millones de personas a nivel mundial sufre de esta enfermedad; y aproximadamente el 30% de mujeres postmenopáusicas en EEUU y Europa tienen osteoporosis<sup>11</sup>.

A nivel mundial se estima que la incidencia de fracturas por osteoporosis es de un 40% en mujeres y 15 a 30% en hombres aproximadamente. Estas cifras se mantienen elevadas debido a que la osteoporosis es una enfermedad silente, por lo que una forma importante de sospecha es teniendo en cuenta los factores de riesgo presentes en la población para realizar un diagnóstico oportuno, previo a la aparición de complicaciones<sup>11,12</sup>.

Si bien se tiene conocimiento de los factores de riesgo relacionados con osteoporosis como edad avanzada, sexo femenino, disminución de la función ovárica, menopausia temprana, historia familiar de fracturas, baja ingesta de calcio en la dieta, ingesta de alcohol, fumar, etc.; aún no se conoce con certeza el mecanismo exacto como se produce la enfermedad<sup>1,4,5,6,7,8 11,16,17</sup>.

Se conoce que es una enfermedad hereditaria, se ha relacionado con causas genéticas; para lo cual se han realizado estudios recientemente en los cuales se estudió que el gen del TGF beta 1 cataliza las enzimas relacionadas a la osteoporosis, por lo que se considera un regulador importante de la formación y resorción del hueso<sup>4,10</sup>, y al estudiar este gen en poblaciones con osteoporosis, se observó presencia de polimorfismos que están significativamente relacionados en la población asiática, caucásica y tailandesa; a diferencia de lo observado en la población de Turquía en la que no se observó relación<sup>5,6,7,22,23</sup>.

Este polimorfismo no ha sido estudiado aun en la población peruana, por lo que con la presente investigación se busca analizar la asociación de la misma con osteoporosis, además comparándola con otros factores de riesgo conocidos para la enfermedad.



---

*CAPÍTULO 1:*  
*Materiales y Métodos*

---

## PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

### 1. DISEÑO DEL ESTUDIO:

#### TIPIFICACIÓN DEL ESTUDIO

**Diseño:** Transversal, casos y controles, retrospectivo.

### 2. MÉTODOS, TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN:

#### 2.1. Métodos

Observación documental: se observó densitometría ósea en historia clínica

Observación de laboratorio

#### 2.2. Instrumento

Ficha de recolección de datos (Anexo 4)

T score para densitometría ósea:

T-Score	Interpretación
Entre +1 y -1 DE	Normal
Entre -1 y -2,5 DE	Osteopenia
< de -2,5 DE	Osteoporosis
< de -2,5 DE y presencia de fractura patológica	Osteoporosis severa

#### 2.3. Obtención de la muestra:

Los datos necesarios fueron recolectados de las historias clínicas de las pacientes, del servicio de reumatología que acudieron a consulta externa y para realización del examen de densitometría ósea al centro médico OSREM, del distrito de Yanahuara en Arequipa.

La muestra está compuesta por todas aquellas pacientes que cumplan con los criterios de inclusión y exclusión.

Se dividió la muestra en 2 grupos,

Grupo A: Pacientes con densitometría ósea completa que informe osteoporosis.

Grupo B: Pacientes con densitometría ósea completa que informe osteopenia.

A cada una se le realizó una encuesta previa a la toma de muestra, y contaban con resultado de densitometría ósea completa al momento del ingreso.

Ingresaron al estudio pacientes mujeres postmenopáusicas que se encuentran entre los 48 y 70 años, que cuentan con densitometría ósea completa. Se les procedió a explicar los objetivos de la investigación, el procedimiento de la toma de muestra y se resolvieron las dudas presentes. Luego de dicho procedimiento, con absoluto conocimiento del objetivo de la investigación, se procedió al correcto llenado y firma del consentimiento informado, y posteriormente se realizó la toma de muestra de células bucales.

El procesamiento de la muestra de células bucales recolectada, se realizó en el Laboratorio de Biología Molecular y Farmacología experimental (H-401) de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas de la Universidad Católica de Santa María (UCSM) - Arequipa, mediante secuenciación (PCR) para identificar el probable polimorfismo presente en el gen TGF beta 1.

## 24. Técnicas:

### a. Selección de la muestra

Se asignó un número a cada unidad de estudio, y se designó la pertenencia a los grupos según los resultados obtenidos en la densitometría ósea, contando con las fichas de recolección de datos adecuadamente numeradas, conteniendo los datos de las participantes.

### b. Densitometría ósea

Es un examen radiológico, el cual se realiza mediante la emisión de rayos X en bajas cantidades para medir la densidad mineral ósea, que es el contenido de calcio y otros minerales en el hueso, siendo las más representativas las de la cadera y región lumbar. Se utilizó un Densitómetro Hologic Discovery Wi.

Útil para el diagnóstico de osteoporosis, así como para evaluar el riesgo de fracturas patológicas (sin trauma previo).

Para la interpretación de los resultados, se cuenta con el T-score y el Z-score. Ambos relacionan el valor de la densitometría del paciente con datos correspondientes a otros pacientes (con el valor medio de la población de 20 a 39 años del mismo sexo en el T-score y población de la misma edad y sexo en el caso del Z-score), calculando así las desviaciones estándar con respecto al valor medio de la población.

T-Score	Interpretación	Riesgo de fractura
Entre +1 y -1 DE	Normal	Normal
Entre -1 y -2,5 DE	Osteopenia	Doble de lo normal
< de -2,5 DE	Osteoporosis	Cuádruple de lo normal
< de -2,5 DE y presencia de fractura relacionada con fragilidad ósea	Osteoporosis severa	Por cada DE de disminución, el riesgo se multiplica por 1,5-2

Siendo considerada:

- Normal cuando el valor de T-score es mayor a -1 desviación estándar (DE).
- Osteopenia: cuando el valor de T-score se encuentra entre -1 y -2.5 DE, donde el riesgo de fractura patológica es 2 veces mayor que el de la población sana.
- Osteoporosis: cuando el valor de T-score es menor a -2.5 DE, donde el riesgo de fractura patológica es 4 veces mayor que el de la población sana.
- Osteoporosis grave: cuando el valor de T-score es menor a -2.5 DE y se asocia a antecedente de fracturas patológicas por fragilidad ósea, y cuenta con un riesgo de fractura que se multiplica por 1.5 a 2 por cada DE disminuido.

### c. PCR

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un estudio de laboratorio utilizado ampliamente en estudios genéticos y de biología molecular, siendo esta una reacción enzimática in vitro cuyo fin es producir la replicación del ADN, con el objetivo de

lograr el estudio de secuencias específicas de un gen y poder estudiarla.

### **Obtención de muestras de células bucales de pacientes con Osteoporosis y voluntarios**

Previo consentimiento informado firmado, se obtuvieron las muestras de células bucales por raspado del epitelio bucal con un citocepillo, los cuales fueron depositados en tubos de 1.5 mL rotulados con un código para cada muestra.

### **Detección del polimorfismo T869C (codón 10) en el gen TGF $\beta$ 1 mediante RFLP**

#### **Extracción de ADN genómico a partir de células bucales**

Se utilizó el método en fase sólida utilizando columnas de sílica, GeneJET Genomic DNA Purification kit (Thermo Scientific™) según las instrucciones del fabricante. El ADN extraído fue rotulado con un código y almacenado a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis.

#### **Evaluación de la integridad del ADN**

La integridad del ADN se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa (1%). Se pesó 0.15 g de agarosa y se añadió 15 mL de buffer TAE 1X, se calentó la mezcla y se vertió en el molde.

En cada pozo se cargó 8  $\mu\text{L}$  de ADN con 2  $\mu\text{L}$  de Loading dye. La corrida se realizó utilizando buffer TAE 0,5 X durante 30 minutos a 90V. Las bandas se revelaron colocando el gel en el transiluminador (luz UV).

#### **Cuantificación del ADN**

La cuantificación se realizó por fluorimetría utilizando el Qubit dsDNA HS Assay Kit y 1  $\mu\text{L}$  de ADN extraído. El procedimiento de cuantificación se realizó según las instrucciones del fabricante.

Se preparó una solución de trabajo (working solution) diluyendo el reactivo Qubit dsDNA HS Reagent con el Qubit dsDNA HS Buffer (1:200) por cada muestra y estándar. Para cuantificar las muestras se mezcló 199  $\mu\text{L}$  de solución de trabajo con 1  $\mu\text{L}$  de ADN extraído. Cada tubo se agitó, se incubó en oscuridad a

temperatura ambiente durante 2 minutos y posteriormente se realizó la lectura en el fluorómetro Qubit 2.0.

#### Amplificación del gen MDR1 por PCR convencional

Se utilizó el 2X PCR Taq Plus MasterMix (Applied Biological Materials). La secuencia de nucleótidos de los cebadores específicos para cada mutación se muestra en la siguiente tabla:

Las secuencias de los cebadores utilizados para realizar la PCR del polimorfismo T869C del gen TGFB1 se muestran en la siguiente tabla.

Polimorfismo	Secuencia
T869C	Forward:
	5'- ACCACACCAGCCCTGTTCGC -3'
	Reverse:
	5'- AGTAGCCACAGCAGCGGTAGCAGCTGC -3'

La concentración final de los cebadores y el protocolo de amplificación se muestran a continuación. La cantidad de ADN añadida en cada reacción fue entre 50 y 100 ng; el volumen agregado fue calculado para cada muestra a partir de los datos de cuantificación.

Mutación	Concentración final de los cebadores	Protocolo de amplificación
T869C	500 nM	95°C 5 min
		95°C 50 s
		65°C 30 s 40 ciclos
		72°C 45 s
		72°C 7 min

El mix, con un volumen final de 50 µL, fue preparado en tubos de 200 µL dentro de la cabina de PCR, previamente esterilizada con luz UV durante 15 minutos y

el ADN se añadió fuera de la cabina. Se colocaron los tubos en el termociclador y se insertó el protocolo de amplificación indicado en la Tabla 2. Los productos de PCR se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### Digestión de productos de PCR con enzimas de restricción

Se utilizó la enzima de restricción PstI para la digestión de los productos de PCR, siguiendo las instrucciones del fabricante. La digestión enzimática se llevó a cabo en el termobloque a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 90 minutos. Se realizaron dos digestiones por producto de PCR. Los productos de digestión se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### Electroforesis de productos de PCR y productos de digestión

Se prepararon geles de agarosa al 2% para la electroforesis de los productos de PCR. Para la electroforesis de productos de digestión se utilizó agarosa ultrapura al 3% con de buffer TAE 1X. Después se añadió SYBR Safe y se vertió la mezcla en el molde. En cada pozo se cargó 8  $\mu\text{l}$  de muestra más 2  $\mu\text{l}$  de Loading dye 6X. En uno de los pozos de cada gel se cargó el marcador de peso molecular 100bp Opti-DNA Marker, según el volumen indicado en el inserto. La corrida se realizó a 70-80 V durante 35 minutos utilizando buffer TAE 0,5 X. Las bandas fueron reveladas colocando el gel en el transiluminador (luz UV).

## **25. Materiales:**

### Material biológico

El material biológico empleado corresponde a muestras de células bucales, extraídas de voluntarias con osteoporosis y voluntarias control (con osteopenia). Las muestras fueron obtenidas en OSREM (Centro de Osteoporosis y Reumatismos) en la ciudad de Arequipa.

### Material de laboratorio

- Micropipetas (P1000, P200, P100, P20 y P10)
- Probetas de 25, 500 y 1000 mL
- Vaso de precipitado de 25, 50 y 100 mL
- Matraz Erlenmeyer de 50 y 100 mL
- Tubos falcon estériles de 15 mL

- Tubos de 1.5 mL
- Tubos de PCR de 200  $\mu$ L
- Tips estériles para micropipetas de 1000, 200, 20 y 10  $\mu$ L
- Racks para tubos falcon, tubos de 1.5 mL y 200  $\mu$ L
- Parafilm
- Citocepillos para toma de muestra

#### Reactivos

- Etanol 96° y 70°
- Agarosa grado biología molecular
- Agarosa ultrapura
- Agua grado biología molecular
- Buffer tris-acetato-EDTA 50x (TAE)
- Cebadores u oligonucleótidos
- Enzima de restricción PstI (Invitrogen)
- Marcador de peso molecular (100bp Opti-DNA Marker, Applied Biological Materials)
- Buffer de carga (Loading dye)
- Agente intercalante de ADN (SybrSafe)

#### Kits

- GeneJET Genomic DNA Purification kit (Thermo Scientific™)
- 2X PCR Taq Plus MasterMix (Applied Biological Materials)
- Qubit dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen)

#### Equipos

- Centrífuga para tubos de 1.5 mL
- Termobloque para tubos de 1.5 mL
- Termociclador
- Cámara de electroforesis horizontal tipo submarino
- Transiluminador UV
- Congeladora
- Cabina de PCR

- Fluorómetro
- Agitador vórtex
- Mini spin

#### Otros

- Papel bond A4
- Materiales de escritorio
- Laptop
- Impresora
- Fichas de recolección de datos
- Software: Microsoft Office y estadístico

### 3. CAMPO DE VERIFICACIÓN

#### 3.1. Ubicación espacial

##### **Precisión del lugar**

- **Ámbito general:** Departamento de Arequipa
- **Ámbito Específico:** Provincia de Arequipa y distrito de Yanahuara.

##### **Caracterización del Lugar**

- **Ámbito institucional:** Servicio de reumatología y densitometrías del centro médico OSREM.
- 

##### **Delimitación Geográfica:**

La toma de datos y de muestras se realizó en los ambientes de Consultorio externo de la especialidad de Reumatología y área de Densitometrías del centro de salud OSREM, Calle Ronda Recoleta 200, ubicada en el distrito de Yanahuara, provincia de Arequipa.

#### 3.2. Ubicación temporal

El estudio se desarrolló en el periodo comprendido en el período comprendido entre el 5 y el 18 de marzo del 2019.

### 33. Unidades de estudio

#### a) Población

- **Por su contenido:**

Son mujeres con edades entre 48 y 70 años, que acudieron a la especialidad de Reumatología del centro médico OSREM por consulta externa y área de densitometría en el período comprendido entre el 5 y el 18 de marzo del 2019.

- **Población objetivo o blanco:**

Son mujeres con edades entre 48 y 70 años, con el diagnóstico de osteoporosis, que acudieron a la especialidad de Reumatología del centro médico OSREM por consulta externa y área de densitometría en el período comprendido entre el 5 y el 18 de marzo del 2019.

- **Población accesible:**

Mujeres postmenopáusicas, con edades entre 48 y 70 años, que cuenten con densitometría ósea que acudan a la especialidad de Reumatología del centro médico OSREM por consulta externa y área de densitometría en el período comprendido entre el 5 y el 18 de marzo del 2019.

- **Características de la población accesible:**

○ **Criterios de inclusión:**

Mujeres postmenopáusicas con edades entre 48 y 70 años.

Mujeres con diagnóstico de osteopenia u osteoporosis que cuenten con densitometría ósea.

○ **Criterios de exclusión o eliminación:**

Mujeres que no aceptaron participar en la investigación

Mujeres con diagnóstico de Diabetes Mellitus

Mujeres con diagnóstico de Hipertensión arterial

Mujeres con enfermedades cardiovasculares

Los pacientes serán clasificados en dos grupos: voluntarios con osteoporosis y voluntarios control.

Grupos de estudio:

- GRUPO A (n=37), pacientes con osteoporosis.
- GRUPO B (n=12) grupo control, personas con osteopenia.

Los “n” indicados para cada grupo de estudio representan el número de pacientes que se utilizaron en el presente estudio para realizar el análisis estadístico.

**b) Muestreo y muestra:**

- **Muestreo**

**Elección de las unidades de análisis:**

**Técnica de muestreo:**

- Por su variabilidad:  
Es fijo
- Por la posibilidad de integrar la muestra:  
Oportunidad única.
- Por la elección de sus elementos constitutivos:  
Es determinista, se basa en las unidades que cumplen los criterios de inclusión y exclusión.
- Tipo de muestreo:  
Es No probabilístico. Por conveniencia, intencional o deliberado.

- **Muestra:**

**Grupos:**

Grupo A: Casos de pacientes con diagnóstico de osteoporosis, 37 unidades de estudio.

Grupo B: 12 unidades de estudio sin diagnóstico de osteoporosis.

**34. Criterios para manejo de resultados:**

a) Plan de Procesamiento:

Los datos registrados en la ficha de datos fueron codificados y tabulados para su análisis e interpretación.

b) Plan de Clasificación:

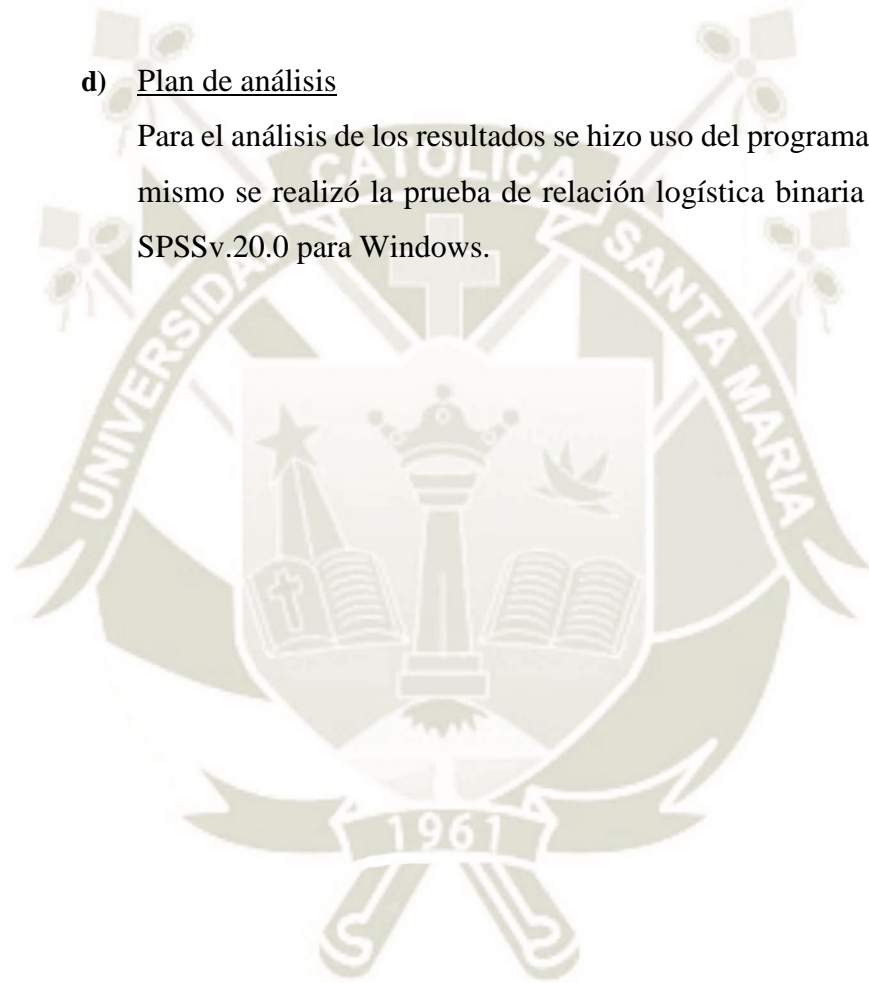
Se empleo una matriz de sistematización de datos diseñada en una hoja de cálculo electrónica en Excel 2016.

c) Plan de Recuento.

El recuento de los datos será electrónico, en base a la matriz diseñada en la hoja de cálculo.

d) Plan de análisis

Para el análisis de los resultados se hizo uso del programa EPIDAT 3.1; así mismo se realizó la prueba de relación logística binaria con el programa SPSSv.20.0 para Windows.





---

# *CAPÍTULO 2:*

## *Resultados*

---

**TABLA N° 1**  
**OSTEOPENIA Y OSTEOPOROSIS DIAGNOSTICADAS POR**  
**DENSITOMETRÍA ÓSEA ASOCIADAS A FACTORES DE RIESGO EN**  
**MUJERES POSMENOPAUSICAS – AREQUIPA 2019**

FACT. RIESGO	OSTEOPOROSIS (n=37)		OSTEOPENIA (n=12)	
	N	%	N	%
<b>EDAD &gt;59 AÑOS</b>	26	70.2	2	16.67
<b>TIEMPO DE MENOPAUSIA &gt;15 AÑOS</b>	19	51.4	3	25.00
<b>IMC &lt;19</b>	1	2.7	0	0.00
<b>NULIPARIDAD</b>	2	5.4	1	8.33
<b>HISTERECTOMÍA</b>	3	8.1	2	16.67
<b>NO REALIZO EJERCICIO EN LA ADOLESCENCIA</b>	18	48.65	4	33.33
<b>SEDENTARISMO</b>	13	35.14	5	41.66
<b>USO DE CORTICOIDES</b>	2	5.4	0	0.00
<b>ANTECEDENTE DE FRACTURA PATOLÓGICA</b>	7	18.92	0	0.00
<b>ANTECEDENTE DE FAMILIARES CON OSTEOPOROSIS</b>	11	29.73	5	41.67
<b>CONSUMO DE CAFÉ</b>	18	48.65	4	33.33
<b>EXPRESIÓN DEL POLIMORFISMO TGF</b>	13	35.14	0	0.00

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N° 1, se observa que las pacientes con diagnóstico de osteoporosis mayores de 59 años son 26 (70.2%) y 2 (16.67%) con diagnóstico de osteopenia. Fueron nulíparas con osteoporosis 2 (5.4%). De las pacientes con osteoporosis, el 51.4% (19) tuvieron un tiempo de menopausia mayor a 15 años y 25% (3) de las pacientes con osteopenia contaron con el mismo antecedente. Fueron histerectomizadas 3 mujeres (8.1%) con diagnóstico de osteoporosis y 1 mujer (8.33%) con osteopenia. El 48.65% (18) de las mujeres con osteoporosis no realizaron ejercicio durante la adolescencia. El uso de corticoides, antecedente de fractura patológica y el índice de masa corporal menor a 19 estuvieron

presentes únicamente en mujeres con osteoporosis. El 29.73% (11) de las mujeres con diagnóstico de osteoporosis refirieron el antecedente de familiares con osteoporosis y 41.67% (5) de las mujeres con osteopenia contaban con el mismo antecedente. El consumo de café predominó en pacientes con osteoporosis. Se expresó el polimorfismo del gen TGF beta 1 en 35.14% (13) de pacientes con diagnóstico de osteoporosis y ningún caso de osteopenia.



**TABLA N° 2**  
**OSTEOPOROSIS DIAGNOSTICADA POR DENSITOMETRÍA ÓSEA**  
**ASOCIADA A LA EXPRESIÓN DEL POLIMORFISMO DEL GEN TGF BETA 1**  
**EN MUJERES POSMENOPAUSICAS – AREQUIPA 2019**

POLIMORFISMO	OSTEOPOROSIS		OSTEOPENIA	
	N	%	N	%
SI	13	35.14	0	0.00
NO	24	64.86	12	100.0
TOTAL	37	100.0	12	100.0

$\chi^2=5.73$

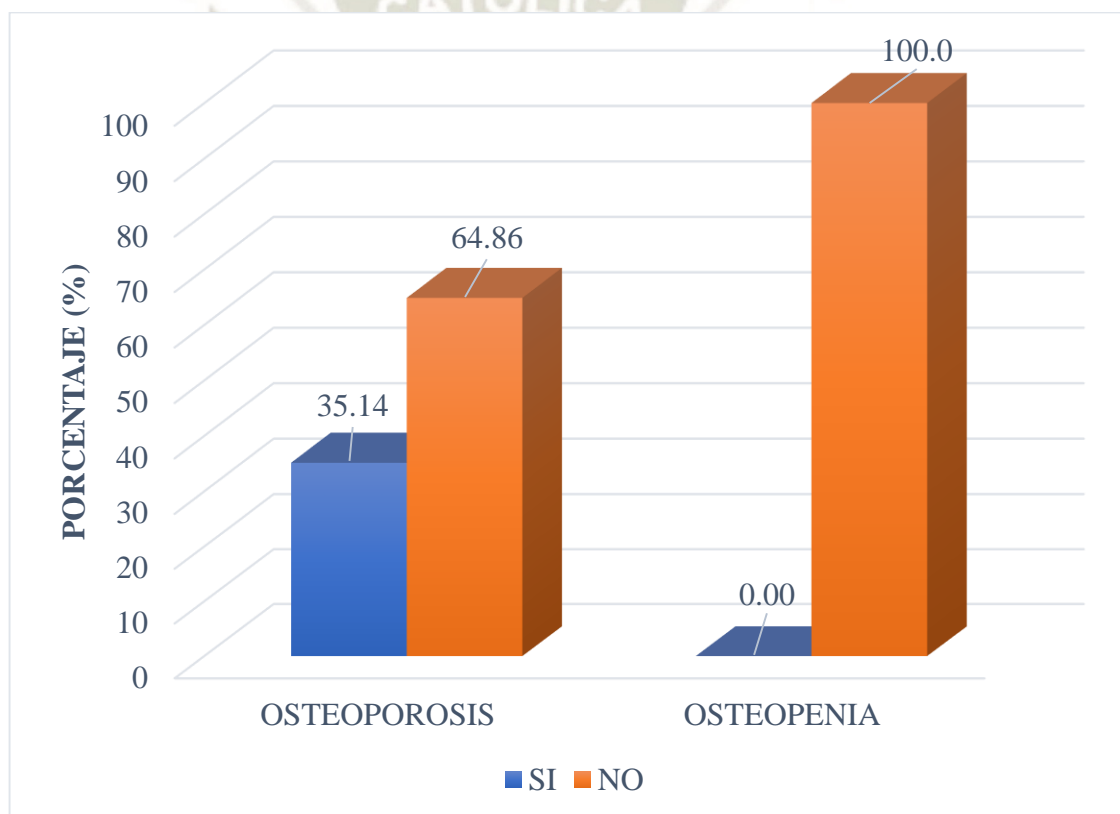
$P \leq 0.05$

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N° 2; la asociación de osteoporosis con la expresión del polimorfismo del gen TGF beta 1 en mujeres posmenopáusicas fue significativa.

## GRAFICA N°1

**OSTEOPOROSIS DIAGNOSTICADA POR DENSITOMETRÍA ÓSEA  
ASOCIADA A LA EXPRESIÓN DEL POLIMORFISMO DEL GEN TGF BETA 1  
EN MUJERES POSMENOPAUSICAS – AREQUIPA 2019**



Fuente: Elaboración propia

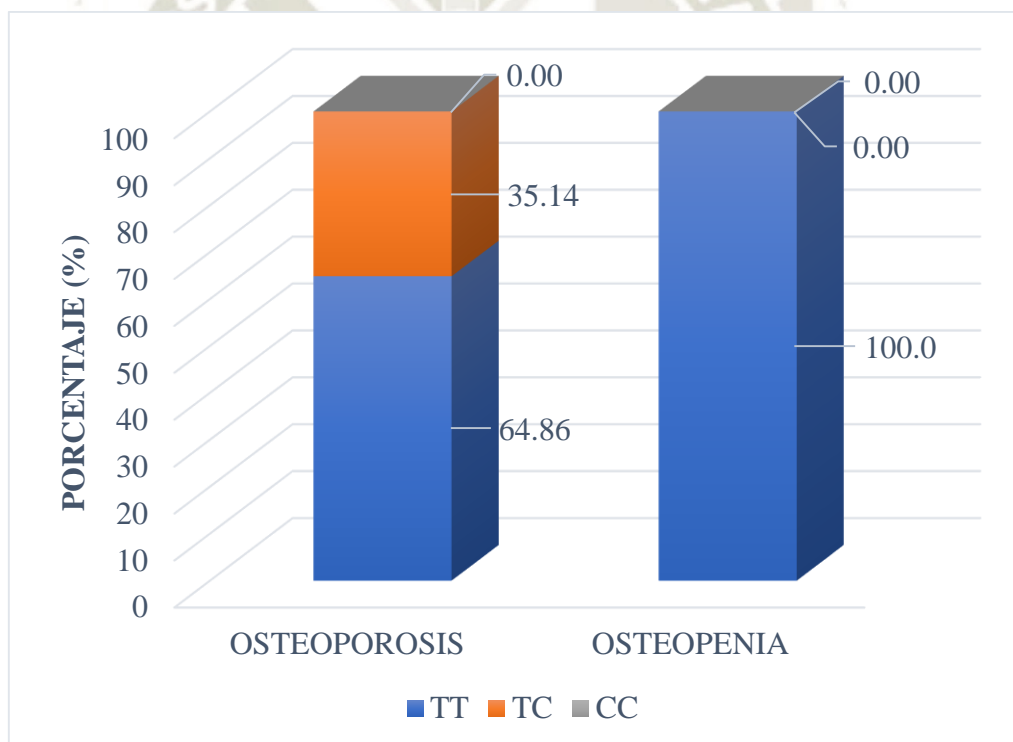
**TABLA N° 3**  
**ASOCIACIÓN DE OSTEOPOROSIS DIAGNOSTICADA POR**  
**DENSITOMETRÍA ÓSEA CON EL GENOTIPO HETEROCIGOTO U**  
**HOMOCIGOTO DEL GEN TGF BETA 1 EN MUJERES POSMENOPAUSICAS-**  
**AREQUIPA 2019**

POLIMORFISMO	OSTEOPOROSIS		OSTEOPENIA	
	N	%	N	%
<b>Homocigoto normal (TT)</b>	24	64.86	12	100.0
<b>Heterocigoto mutado (TC)</b>	13	35.14	0	0.00
<b>Homocigoto mutado (CC)</b>	0	0.00	0	0.00
<b>TOTAL</b>	37	100.0	12	100.0

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N° 3, no alcanza valores de predictibilidad por el tamaño de muestra.

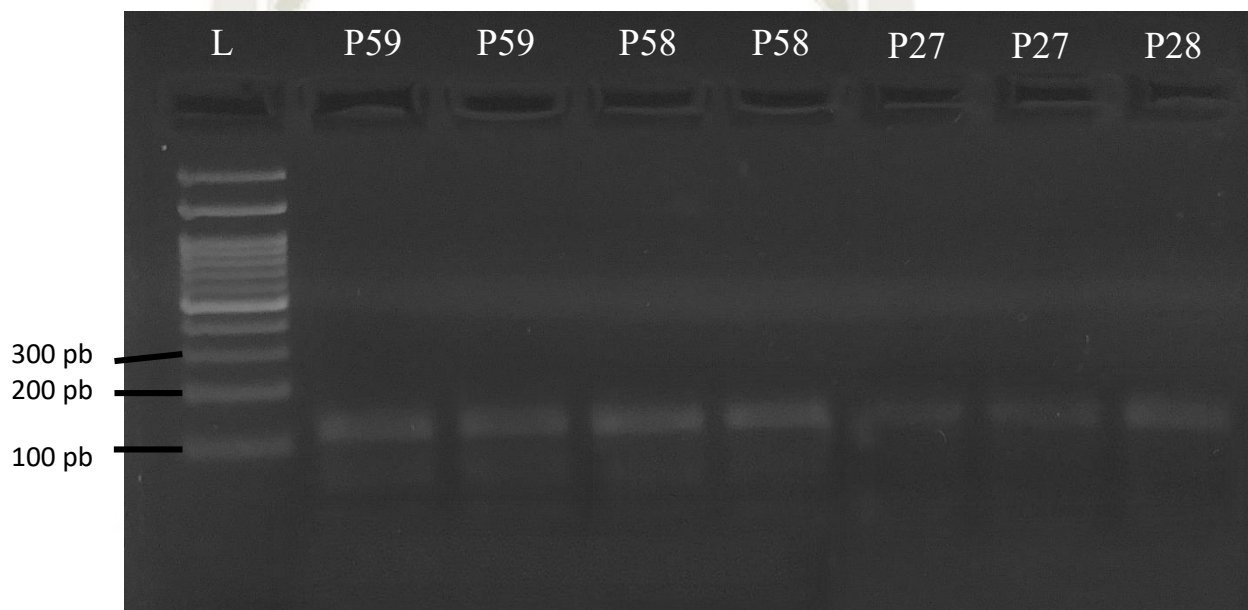
**GRAFICA N°2-A**  
**ASOCIACIÓN DE OSTEOPOROSIS DIAGNOSTICADA POR**  
**DENSITOMETRÍA ÓSEA CON EL GENOTIPO HETEROCIGOTO U**  
**HOMOCIGOTO DEL GEN TGF BETA 1 EN MUJERES POSMENOPAUSICAS –**  
**AREQUIPA 2019**



Fuente: Elaboración propia

## GRAFICA N°2-B

### ASOCIACIÓN DE OSTEOPOROSIS DIAGNOSTICADA POR DENSITOMETRÍA ÓSEA CON EL GENOTIPO HETEROCIGOTO U HOMOCIGOTO DEL GEN TGF BETA 1 EN MUJERES POSMENOPAUSICAS – AREQUIPA 2019



Fuente: Elaboración propia

En la gráfica N° 2-B se observa la corrida electroforética de las muestras de los casos (pacientes) N°58 y N°59 donde muestra el genotipo heterocigoto mutado (TC); y en la muestra de los casos N°27 y N°28 se observa el genotipo homocigoto normal, sin cambio nucleótido (TT).

Normalmente el fragmento amplificado del gen 869 tiene un peso molecular de 110 pares de bases, y al ser la única banda identificada corresponde al genotipo homocigoto normal (TT). El gen mutado es identificado por la aparición de otras dos bandas con peso molecular de 86 y 24 pares de bases (esta última banda es imperceptible por su tamaño y el tiempo de corrida electroforética); cuando esta banda acompaña a la banda normal expresa el genotipo heterocigoto (TC), y cuando es única representa el genotipo homocigoto mutado (CC).

**TABLA N° 4**

**ASOCIACIÓN DEL DIAGNOSTICO DEL GRADO DE SEVERIDAD DE LA  
OSTEOPOROSIS POR DENSITOMETRÍA ÓSEA CON EL POLIMORFISMO  
DEL GEN TGF BETA 1 – AREQUIPA 2019**

POLIMORFISMO	OSTEOPOROSIS SEVERA (con fractura)		OSTEOPOROSIS (sin fractura)	
	N	%	N	%
SI	2	28.57	11	36.67
NO	5	71.43	19	63.33
<b>TOTAL</b>	7	100.0	30	100.0

**$X^2=0.16$**

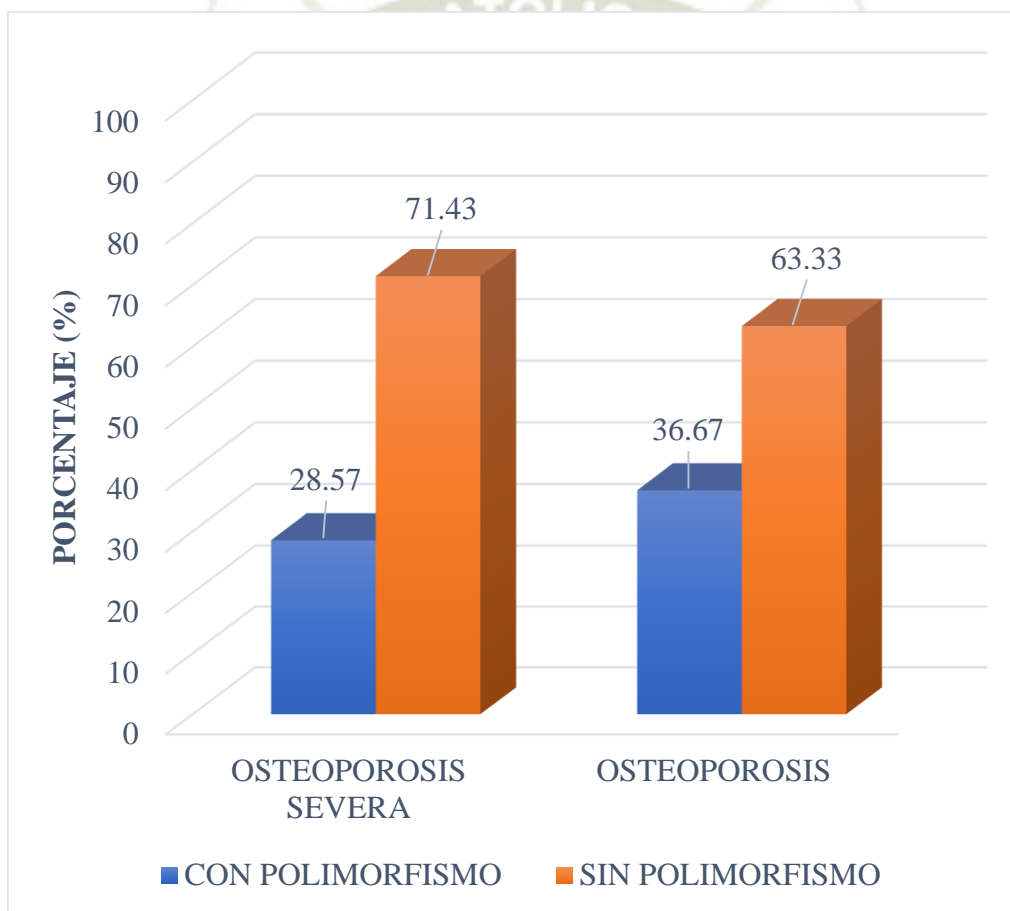
**$P>0.05$**

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N° 4, no se observa asociación de la severidad diagnosticada por densitometría ósea y la presencia del polimorfismo del gen TGF beta 1. Ello nos indica que la prueba laboratorial no es diagnóstica, sino de predictibilidad (sensibilidad).

### GRAFICA N°3

ASOCIACIÓN DEL GRADO DE SEVERIDAD DE LA OSTEOPOROSIS  
DIAGNOSTICADA POR DENSITOMETRÍA ÓSEA CON EL POLIMORFISMO  
DEL GEN TGF BETA 1 – AREQUIPA 2019



Fuente: Elaboración propia

**TABLA N° 5**  
**AJUSTE DEL MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA BINARIA DE LOS**  
**FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A OSTEOPOROSIS Y OSTEOPENIA**  
**EN MUJERES POSMENOPAUSICAS – AREQUIPA 2019**

Resumen de los modelos

Paso	-2 log de la verosimilitud	R cuadrado de Cox y Snell	R cuadrado de Nagelkerke
<b>1</b>	43.474(a)	0.202	0.301
<b>2</b>	35.822(b)	0.318	0.473

a. La estimación ha finalizado en el número de iteración 5 porque las estimaciones de los parámetros han cambiado en menos de 0.001.

b. La estimación ha finalizado en el número de iteración 20 porque se han alcanzado las iteraciones máximas. No se puede encontrar una solución definitiva.

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N° 5, muestra que el modelo matemático se ajusta en medida que se eliminan las variables predictoras, de esta forma el modelo se ajusta mejor en concordancia del criterio de reducción de verosimilitud, lo cual se aprecia por el cambio negativo del logaritmo negativo de la verosimilitud de 43.47 a 35.82.

En relación a las pruebas de Cox y Snell, y la prueba de Nagelkerke, cuyos resultados son mayores a 0.05, se restringe la posibilidad de rechazar la hipótesis nula, por lo que concluimos que los datos se ajustan de forma razonable sin que exista gran diferencia en los valores observados y esperados. En base a los resultados de las pruebas utilizadas, podemos afirmar que el ajuste del modelo a la distribución de los datos es bueno.

**TABLA N° 6**  
**VALORES DEL ESTADISTICO DE PUNTUACIÓN RAO PARA IDENTIFICAR**  
**LOS FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A OSTEOPOROSIS EN MUJERES**  
**POSMENOPAUSICAS – AREQUIPA 2019**

Variables que no están en la ecuación

			Puntuación	gl	Sig.
Paso 0	<b>Variables</b>	<b>EDAD &gt;59 AÑOS</b>	10.631	1	0.001
		<b>TIEMPO DE MENOPAUSIA &gt;15 AÑOS</b>	2.543	1	0.111
		<b>IMC &lt;19</b>	0.331	1	0.565
		<b>NULIPARIDAD</b>	0.135	1	0.713
		<b>HISTERECTOMIA</b>	0.724	1	0.395
		<b>NO REALIZO EJERCICIO EN LA ADOLESCENCIA</b>	0.859	1	0.354
		<b>SEDENTARISMO</b>	0.166	1	0.683
		<b>USO DE CORTICOIDES</b>	0.676	1	0.411
		<b>ANTECEDENTE DE FRACTURA PATOLOGICA</b>	2.649	1	0.104
		<b>ANTECEDENTE DE FAMILIARES CON OSTEOPOROSIS</b>	0.587	1	0.444
		<b>CONSUMO DE CAFÉ</b>	0.859	1	0.354
		<b>POLIMORFISMO DEL GEN TGF BETA1</b>	5.739	1	0.017
	<b>Estadísticos globales</b>		19.148	12	0.085

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N° 6, se analizan los factores de riesgo asociados con osteoporosis en mujeres posmenopáusicas. La puntuación de RAO muestra los factores que no están en la ecuación de regresión logística, de estos aquellos factores que deben ser analizados son: Edad mayor a 59 años y la expresión de polimorfismo del gen TGF beta 1. El valor de  $\alpha$  fue: ( $P \leq 0.05$ ), lo cual indica que presentan covariación con el desarrollo de la osteoporosis. Estas variables son las que serán utilizadas para el proceso de regresión logística binaria condicional por pasos.

**TABLA N° 7**

**REGRESION LOGISTICA BINARIA PARA LOS FACTORES RELACIONADOS A LA  
OSTEOPOROSIS EN MUJERES POSTMENOPAUSICAS – AREQUIPA 2019**

	<b>B</b>	<b>Error estándar</b>	<b>Wald</b>	<b>gl</b>	<b>Sig.</b>	<b>Exp(B)</b>
<b>EDAD &gt; 59 AÑOS</b>	2,276	1,131	4,049	1	0,044	9,734
<b>TIEMPO DE MENOPAUSIA &gt; 15 AÑOS</b>	1,045	1,051	0,988	1	0,320	2,843
<b>IMC &lt; 19</b>	22,070	40192,969	0,000	1	1,000	3842969251,395
<b>NULIPARIDAD</b>	0,961	1,757	0,299	1	0,585	2,614
<b>HISTERECTOMIA</b>	-0,433	1,814	0,057	1	0,811	0,648
<b>NO REALIZO EJERCICIO EN LA ADOLESCENCIA</b>	-0,458	1,223	0,140	1	0,708	0,633
<b>SEDENTARISMO</b>	0,002	1,154	0,000	1	0,999	1,002
<b>USO DE CORTICOIDES</b>	18,965	25915,412	0,000	1	0,999	172372549,827
<b>ANTECEDENTE DE FRACTURA PATOLOGICA</b>	18,523	13646,941	0,000	1	0,999	110728071,337
<b>ANTECEDENTE DE FAMILIARES CON OSTEOPOROSIS</b>	-1,094	1,372	0,635	1	0,425	0,335
<b>CONSUMO DE CAFÉ</b>	0,004	1,016	0,000	1	0,997	1,004
<b>POLIMORFISMO DEL GEN TGF BETA 1</b>	20,427	9880,809	0,000	1	0,998	743840947,732
<b>Constante</b>	-0,415	1,017	0,166	1	0,683	0,661

Fuente: Elaboración propia

La tabla N° 7, muestra la relación multivariada de los factores con la osteoporosis en las mujeres posmenopáusicas, en la cual se observa que la edad mayor de 59 años esta asociada.

## TABLA N° 8

### MATRIZ DE CONFUSION (tasas de clasificación)

Tabla de clasificación(a)

Observado	PCTE		Pronosticado		Porcentaje correcto
			PCTE		
			sin osteoporosis	con osteoporosis	
Paso 1	PCTE	sin osteoporosis	0	12	0.0
		con osteoporosis	0	37	100.0
Porcentaje global					75.5
Paso 2	PCTE	sin osteoporosis	10	2	83.3
		con osteoporosis	7	30	81.1
Porcentaje global					81.6

a.El valor de corte es 0.500

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N° 8, se muestra las tasas de clasificación. La matriz de confusión muestra a su vez los resultados de la clasificación de los datos de la estructura de la investigación, prediciendo la eficacia en la clasificación de los datos del modelo. El porcentaje global de la clasificación es de 75.5%, llegando hasta 81.6%, siendo aceptable y nos indica que la prueba del polimorfismo del gen TGF beta 1 es de sensibilidad o screening.

**TABLA N° 9**  
**DESIGUALDADES RELATIVAS CALCULADAS POR LA TÉCNICA DE**  
**REGRESIÓN LOGÍSTICA BINARIA CONDICIONAL EVALUANDO LOS**  
**FACTORES DE RIESGO PARA OSTEOPOROSIS EN MUJERES**  
**POSMENOPAUSICAS – AREQUIPA 2019**

Variables en la ecuación(c)

		B	E.T.	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	I.C. 95.0% para EXP(B)	
								Inferior	Superior
<b>Paso 1(a)</b>	<b>EDAD</b>	2.470	0.854	8.362	1	0.004	11.818	2.216	63.024
	<b>Constante</b>	0.095	0.437	0.048	1	0.827	1.100		
<b>Paso 2(b)</b>	<b>EDAD</b>	2.497	0.895	7.776	1	0.005	12.143	2.100	70.220
	<b>TGFBETA1</b>	20.377	10216.625	0.000	1	0.998	706973229.231	0.000	.
	<b>Constante</b>	-0.357	0.493	0.524	1	0.469	0.700		

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: EDAD.

b. Variable(s) introducida(s) en el paso 2: TGFBETA1.

c. Se ha detenido un procedimiento por pasos ya que al eliminar la variable menos significativa se obtuvo un modelo previamente ajustado.

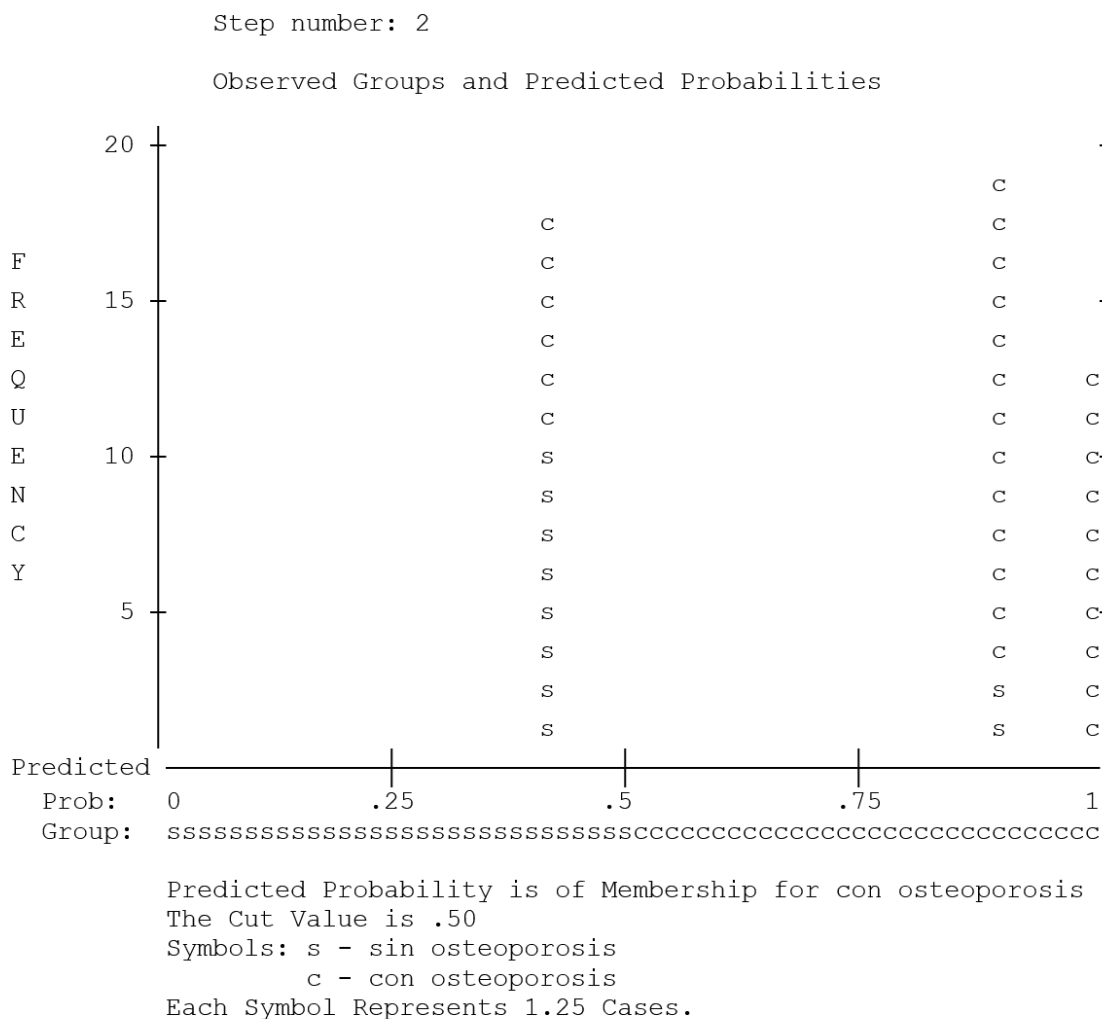
Fuente: Elaboración propia

En la tabla N° 9, se analizan la edad y el polimorfismo del gen TGF beta 1, que fueron los factores asociados al desarrollo de osteoporosis y que fueron discriminados por la puntuación de RAO. La estimación de los coeficientes críticos del modelo matemático de Regresión Logística Binaria nos permite clasificar las variables cuyo impacto fue mayor en el desarrollo de la enfermedad estudiada, por el mayor valor estadístico de Wald.

La edad mayor de 59 años mostro impacto de riesgo para el desarrollo de osteoporosis, dando a conocer que la presencia de este factor aumenta el riesgo a padecer de esta enfermedad en 11.82 veces en la población de estudio.

## GRAFICA N°4

### HISTOGRAMA DE PROBABILIDADES ESTIMADAS



Fuente: Elaboración propia

En el grafico N° 4, se analizó las probabilidades estimadas. El punto de corte fue 0.50. Al observar la distribución de los casos del grupo A (c) y B (s), se ubican en su mayoría hacia el lado izquierdo, corroborando que el poder predictivo del modelo es adecuado (81.6%).



---

*CAPÍTULO 3:*  
*Discusión*

---

La osteoporosis es considerada actualmente un problema de salud pública a nivel mundial, por lo que resulta primordial identificar los factores de riesgo genéticos u ambientales asociados, con el objetivo de prevenir o retrasar el desarrollo de esta enfermedad; desde el momento en que se dio a conocer el rol del gen TGF beta 1 como regulador del proceso de formación y resorción ósea, se convirtió en objeto de estudio, ya que su alteración estaría implicada en el desarrollo de la osteoporosis.

El presente estudio tiene como finalidad estudiar la asociación entre diversos factores de riesgo conocidos para la osteoporosis, dentro de los cuales se incluyó la expresión del polimorfismo T869C del gen TGF beta 1, con la presencia de osteoporosis en mujeres posmenopáusicas, durante el periodo comprendido entre Marzo y Abril del 2019, en la ciudad de Arequipa, Perú

En la Tabla N° 2, se muestra la distribución de las unidades de estudio según la expresión del polimorfismo del gen TGF beta 1 como un factor de riesgo para la osteoporosis, encontrándose asociación entre este y la osteoporosis ( $P < 0.05$ ). El polimorfismo T869C del gen TGF beta 1 se expresó en el 35.14% de las pacientes con diagnóstico de osteoporosis, a diferencia de las pacientes con osteopenia de las cuales ninguna presentó mutaciones para este gen. En los estudios realizados por: Yamada y colaboradores<sup>6</sup>, realizado en Japón; Lau y colaboradores<sup>7</sup>, realizado en China; Utennam y colaboradores<sup>22</sup>, realizado en Tailandia, se encontraron resultados similares, indicando que existe asociación entre la expresión del polimorfismo del gen TGF beta 1 y el desarrollo de osteoporosis en la población caucásica y asiática. A diferencia de estos, el estudio realizado por Tural y colaboradores en la población de Turquía, no mostró asociación entre el desarrollo de osteoporosis y el polimorfismo T869C del gen TGF beta 1 por sí solo; sin embargo, sí se encontró relación entre el desarrollo de la enfermedad y el polimorfismo combinado del gen TGF beta 1 con interleucina 10<sup>23</sup>.

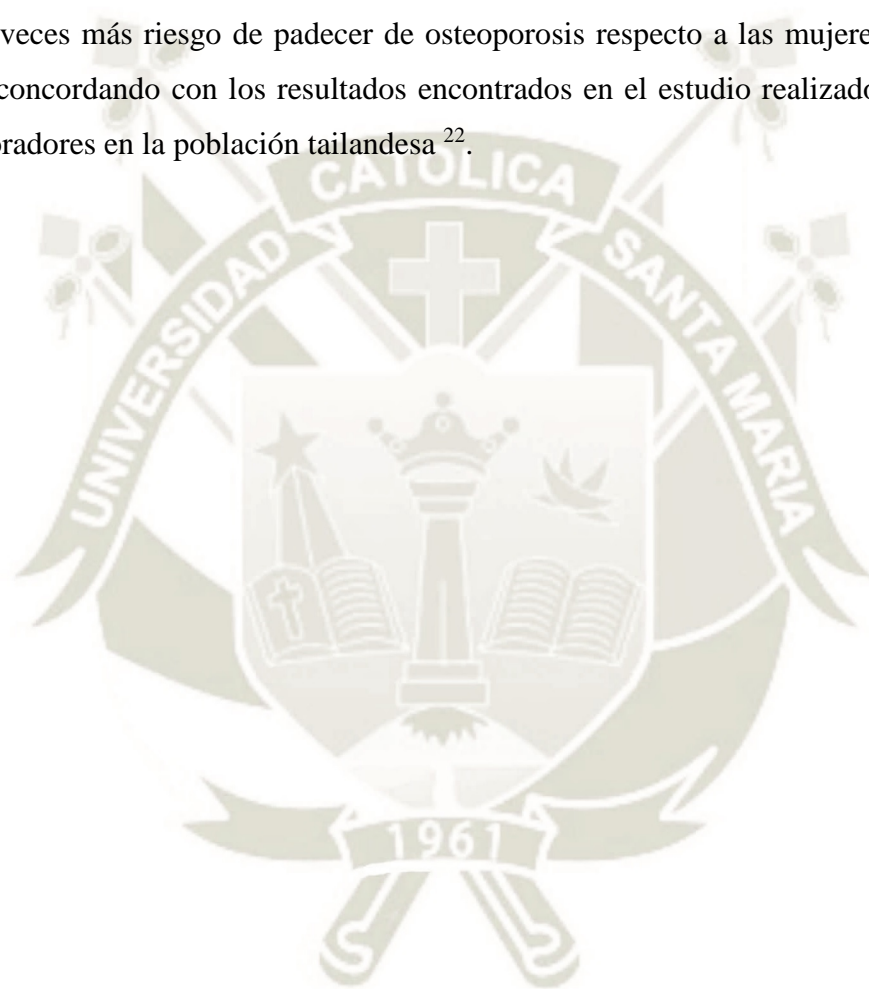
La forma de expresión del polimorfismo del gen TGF beta 1, se da en distintas combinaciones en relación a los alelos afectados, dando como resultado 3 distintos genotipos: homocigoto normal (TT), en el cual no se encuentra mutación del gen; heterocigoto mutado (TC), en el cual un alelo se encuentra mutado y el otro alelo es normal; y homocigoto mutado (CC) en que ambos alelos se encuentran mutados. Del total de la población estudiada el 26.5% expresa genotipo heterocigoto mutado (TC), el 73.5%

genotipo normal (TT) y no se encontró genotipo homocigoto mutado (CC); al comparar con el estudio realizado por Lau y colaboradores en China<sup>7</sup>, se evidencia que el 40.5% de los casos estudiados expresaron el genotipo normal (TT), el 43.9% el genotipo heterocigoto mutado (TC) y 15.6% el genotipo homocigoto mutado (CC)<sup>7</sup>. Esta discordancia, se podría explicar por el diferencia étnica y genética de las poblaciones estudiadas en ambas investigaciones.

Entre las unidades de estudio con diagnóstico de osteopenia (controles) el 100% expresaron genotipo homocigoto normal (TT), y de los casos con diagnóstico de osteoporosis el 64.86% genotipo normal, el 35.14% expreso genotipo heterocigoto mutado (TC), y no se encontró genotipo homocigoto mutado (CC). En comparación con el estudio realizado por Tural y colaboradores en Turquía<sup>23</sup>, donde las mujeres sanas (controles) en su mayoría (52%) expresaron el genotipo heterocigoto mutado (TC) y el 22% expreso genotipo homocigoto mutado (CC); y de los casos con diagnóstico de osteoporosis en su mayoría (43%) expresaron el genotipo heterocigoto mutado (TC) y 32% expresaron genotipo homocigoto mutado (CC)<sup>23</sup>. La discordancia encontrada entre ambos estudios, se podría explicar por la variabilidad genética y étnica de ambas poblaciones.

En la Tabla N° 4 se muestra la distribución de los casos según el grado de severidad de osteoporosis y la expresión del polimorfismo del gen TGF beta 1, los cuales no presentan asociación ( $P>0.05$ ), encontrándose que el 28.57% de los casos con osteoporosis severa (con fractura) expresaron el polimorfismo del gen TGF beta 1, frente al 36.67% de las unidades de estudio con diagnóstico de osteoporosis (sin fractura) que también expresaron el polimorfismo. En otros estudios no se evaluó esta asociación, en su lugar se realizó la asociación entre el riesgo de fracturas por fragilidad o patológicas, y la expresión del polimorfismo del gen TGF beta 1; los estudios realizados por Utennam y colaboradores en Tailandia<sup>22</sup>, y el estudio realizado en Japón por Yamada y colaboradores <sup>6</sup>, obtuvieron resultados similares entre sí, demostrando en este último asociación ( $P<0.05$ ) entre el riesgo de fractura por fragilidad con la expresión del genotipo heterocigoto mutado (TC) (38.1%); a diferencia del genotipo homocigoto normal (TT) con 18.6% y el genotipo homocigoto mutado (CC) con 25.5% <sup>7</sup>. En contraste con estos estudios, en nuestra investigación no se encontró relación estadística significativa ( $P>0.05$ ) entre las fracturas por fragilidad y la expresión del polimorfismo; esta diferencia se puede explicar por la variabilidad genética, étnica y del estilo de vida de las poblaciones estudiadas.

Finalmente, del análisis descriptivo de los resultados, se observa que el promedio de la edad del grupo A (casos con osteoporosis) fue de 62 años, y el promedio del grupo B (casos con osteopenia) fue de 54 años, siendo edades adecuadas para el estudio de la enfermedad, ya que a esta edad inicia el desarrollo de la osteoporosis. En ambos grupos se buscó asociación con factores de riesgo conocidos para osteoporosis, entre los cuales la edad mayor de 59 años se encontró asociada a osteoporosis ( $P < 0.05$ ) demostrando que esta población tiene 11.82 veces más riesgo de padecer de osteoporosis respecto a las mujeres menores de 60 años; concordando con los resultados encontrados en el estudio realizado por Utennam y colaboradores en la población tailandesa <sup>22</sup>.





---

# *CAPÍTULO 4:*

## *Conclusiones*

---

**PRIMERA:** Existe asociación entre la expresión del polimorfismo T869C del gen TGF beta 1 y el desarrollo de la osteoporosis.

**SEGUNDA:** No existe asociación entre el grado de severidad de la osteoporosis y la expresión del polimorfismo T869C del gen TGF beta 1.

**TERCERA:** El genotipo predominante en la población de estudio fue el genotipo homocigoto normal (TT), seguido del genotipo heterocigoto mutado (TC). No hubo casos del genotipo homocigoto mutado (CC).

**CUARTA:** Se concluye de los resultados, que el polimorfismo T869C del gen TGF beta 1 este asociado al desarrollo de osteoporosis. Y su valor es de predictibilidad.



---

*CAPÍTULO 5:*  
*Recomendaciones*

---

## RECOMENDACIONES

**PRIMERA:** Evaluar la asociación entre el antecedente de familiares con osteoporosis y la expresión del polimorfismo del gen TGF beta 1, con el fin de determinar si es un factor de riesgo hereditario no modificable.

**SEGUNDA:** Realizar estudios de asociación del polimorfismo del gen TGF beta 1 con niveles de proteínas e índices antropométricos.

**TERCERA:** Considerar el inicio de medidas preventivas para el desarrollo de osteoporosis en familiares de pacientes que presenten el factor de riesgo de polimorfismo del gen TGF beta 1.

**CUARTA:** Realizar más estudios biomoleculares del gen TGF beta 1 en población peruana y latinoamericana.

## REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

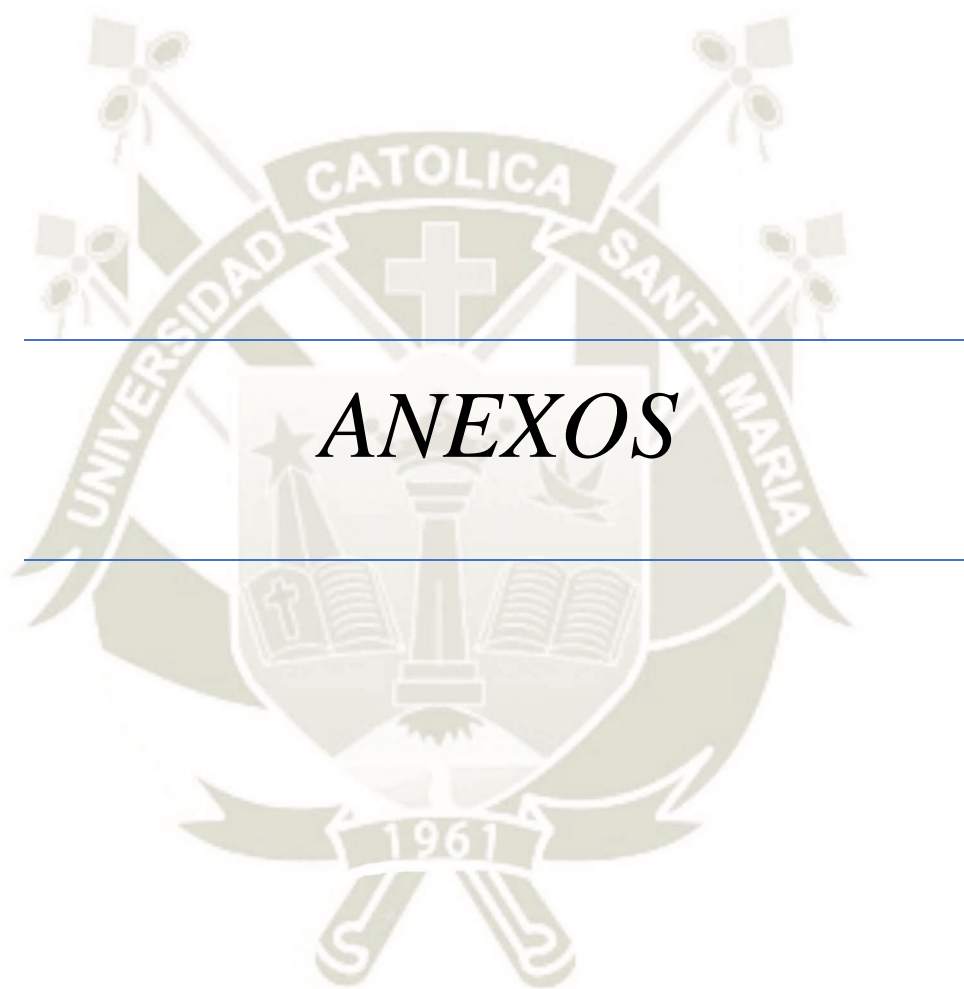
- 1 Faienza MF, Ventura A, Marzano F, Cavallo L. Postmenopausal Osteoporosis: The Role of Immune System Cells. *Clinical and Developmental Immunology*. 2013;2013:575936. doi:10.1155/2013/575936.
- 2 Mohammadi Z, Fayyazbakhsh F, Ebrahimi M, et al. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms (Fok1 and Bsm1) and osteoporosis: a systematic review. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*. 2014;13:98. doi:10.1186/s40200-014-0098-x.
- 3 Ginaldi L, De Martinis M. Osteoimmunology and Beyond. *Current Medicinal Chemistry*. 2016;23(33):3754-3774. doi:10.2174/09298673233666160907162546.
- 4 Sun J, Zhang C, Xu L, Yang M, Yang H. The Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) Gene Polymorphisms (TGF- $\beta$ 1 T869C and TGF- $\beta$ 1 T29C) and Susceptibility to Postmenopausal Osteoporosis: A Meta-Analysis. Franklin Kellam. J, ed. *Medicine*. 2015;94(4):e461. doi:10.1097/MD.0000000000000461.
- 5 Chao T-H, Yu H-N, Huang C-C, Liu W-S, Tsai Y-W, Wu W-T. Association of interleukin-1 beta (-511C/T) polymorphisms with osteoporosis in postmenopausal women. *Annals of Saudi Medicine*. 2010;30(6):437-441. doi:10.4103/0256-4947.71062.
- 6 Yamada Y, Miyauchi A, Goto J, Takagi Y, Okuizumi H, Kanematsu M, Hase M, Takai H, Harada A, Ikeda K. Association of a polymorphism of the transforming growth factor-beta1 gene with genetic susceptibility to osteoporosis in postmenopausal Japanese women. *J Bone Miner Res*. 1998 Oct;13(10):1569-76.. doi: 10.1359/jbmr.1998.13.10.1569
- 7 Lau HH, Ho AY, Luk KD, Kung AW. Transforming growth factor-beta1 gene polymorphisms and bone turnover, bone mineral density and fracture risk in southern Chinese women. *Calcif Tissue Int*. 2004 Jun;74(6):516-21. doi: 10.1007/s00223-004-0163-4

- 8 Faraji A, Abtahi S, Ghaderi A, Samsami Dehaghani A. Transforming Growth Factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) in the Sera of Postmenopausal Osteoporotic Females. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2016;14(4):e36511. doi:10.5812/ijem.36511.
- 9 Tzakas P, Wong BY, Logan AG, Rubin LA, Cole DE. Transforming growth factor beta-1 (TGFB1) and peak bone mass: association between intragenic polymorphisms and quantitative ultrasound of the heel. *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2005;6:29. doi:10.1186/1471-2474-6-29.
- 10 Kasagi S, Chen W. TGF-beta1 on osteoimmunology and the bone component cells. *Cell & Bioscience*. 2013;3:4. doi:10.1186/2045-3701-3-4.
- 11 International Osteoporosis Foundation. *Osteoporosis & Musculoskeletal Disorders*. <https://www.iofbonehealth.org/epidemiology> (accessed 21 November 2018)
- 12 Zanchetta J, MacDonald S, THE LATIN AMERICA REGIONAL AUDIT Epidemiología, costos e impacto de la osteoporosis en 2012. International Osteoporosis Foundation. 2012, 76. [https://www.iofbonehealth.org/sites/default/files/media/PDFs/Regional%20Audits/2012-Latin\\_America\\_Audit-ES\\_0\\_0.pdf](https://www.iofbonehealth.org/sites/default/files/media/PDFs/Regional%20Audits/2012-Latin_America_Audit-ES_0_0.pdf) (accessed 21 November 2018)
- 13 Mithal A, Ebeling P. The Asia-Pacific Regional Audit. International Osteoporosis Foundation; 2013. <https://www.iofbonehealth.org/data-publications/regional-audits/asia-pacific-regional-audit>. (accessed 21 November 2018)
- 14 Yu C, Jiang-Ying R, Ni-Rong B, Ting G, Jian-Ning Z. A single nucleotide polymorphism in the TGF- $\beta$ 1 gene (rs1982073 C>T) may contribute to increased risks of bone fracture, osteoporosis, and osteoarthritis: a meta-analysis. *Clinical Rheumatology* 2016; 35(4): 973–985.
- 15 Ego Seeman, M.D., M.B., B.S., and Pierre D. Delmas, M.D., Ph.D. Bone Quality — The Material and Structural Basis of Bone Strength and Fragility. *New England Journal of Medicine* 2016; 354:2250-2261.

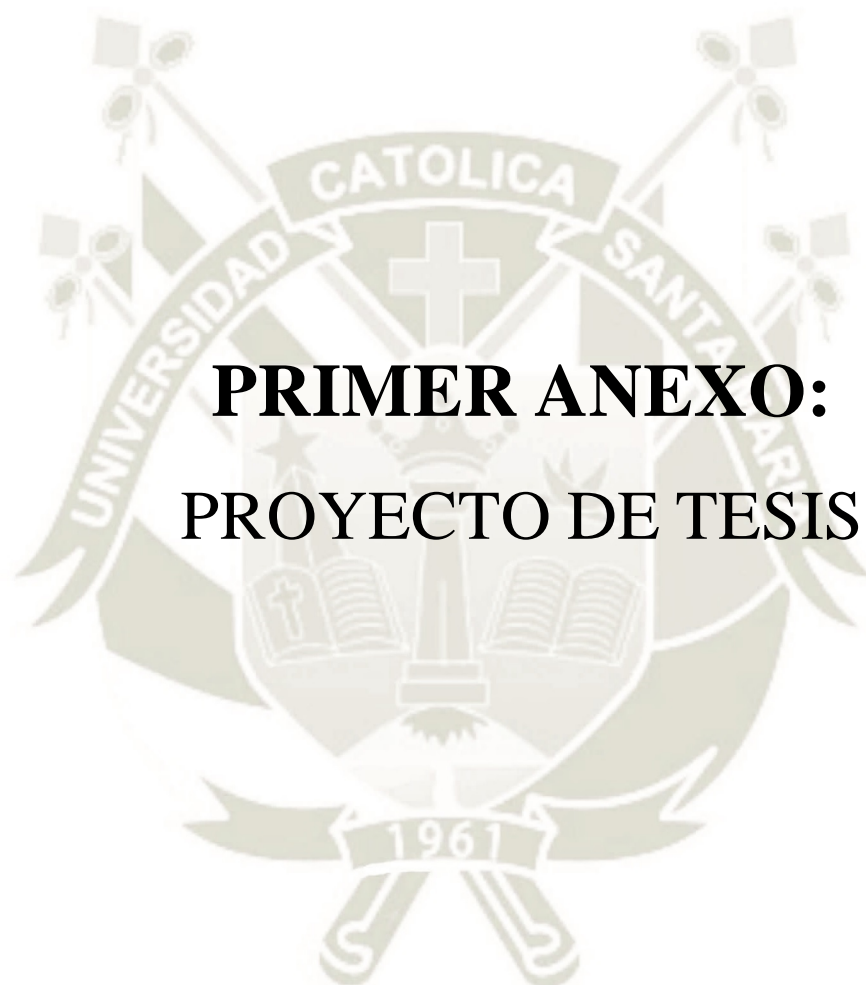
- 16 Cagnetta V, Patella V. The role of the immune system in the physiopathology of osteoporosis. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*. 2012;9(2):85-88.
- 17 Güemes M, Garcia AJ, Rigueur D, et al. GATA4 is Essential for Bone Mineralization via ER $\alpha$  and TGF $\beta$ /BMP Pathways. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2014;29(12):2676-2687. doi:10.1002/jbmr.2296.
- 18 E. S. Siris, R. Adler, J. Bilezikian, M. Bolognese, B. Dawson-Hughes, M. J. Favus, S. T. Harris, et al. The clinical diagnosis of osteoporosis: a position statement from the National Bone Health Alliance Working Group. *Osteoporosis international* 2014; 25(5): 1439–1443.
- 19 Siris, E. S., Adler, R., Bilezikian, J., Bolognese, M., Dawson-Hughes, B., Favus, M. J., ... & Lindsay, R. (2014). The clinical diagnosis of osteoporosis: a position statement from the National Bone Health Alliance Working Group. *Osteoporosis international*, 25(5), 1439-1443. Doi: 10.1007/s00198-014-2655-z
- 20 Dennis M. Black, Ph.D., and Clifford J. Rosen, M.D. Postmenopausal Osteoporosis. *New England Journal of Medicine* 2016; 374:254-262.
- 21 Zhang Z-C, He N-B, Zhang T. Association between TGF- $\beta$ 1 +869C/T polymorphism and fracture risk: a meta-analysis. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2014;7(12):5124-5129.
- 22 Utennam D, Tungtrongchitr A, Phonrat B, Tungtrongchitr R, Preutthipan S. Association of T869C gene polymorphism of transforming growth factor- $\beta$ 1 with low protein levels and anthropometric indices in osteopenia/osteoporosis postmenopausal Thai women. *Genetics and Molecular Research* 2012; 11(1): 87-99.
- 23 Sengul T, Gamze A, Nurten K, Berna T, Ayhan B, Omer K. Association between osteoporosis and polymorphisms of the IL-10 and TGF-beta genes in Turkish postmenopausal women. *Human Immunology* 2013; 74(9): 1179-1183.

- 24 Gallagher JC, Sai AJ. Molecular biology of bone remodeling: implications for new therapeutic targets for osteoporosis. *Maturitas*. 2010;65(4):301-307. doi:10.1016/j.maturitas.2010.01.002.





# *ANEXOS*



# **PRIMER ANEXO: PROYECTO DE TESIS**

*Universidad Católica de Santa María*  
“IN SCIENTIA ET FIDE ERIT FORTITUDO NOSTRA”  
**Escuela Profesional de Medicina Humana**  
*Facultad de Medicina Humana*



PROYECTO DE TESIS

**“ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO DEL  
GEN T869C DEL TGF BETA 1 CON  
OSTEOPOROSIS EN MUJERES  
POSMENOPÁUSICAS - AREQUIPA 2019”**

**Autor:**

Andrea del Rosario Atahualpa Manrique

**Asesor:**

Dr. Carlos Huanqui Guerra

**Arequipa - Perú**

**2019**

## II. PREÁMBULO

La osteoporosis es una enfermedad metabólica del hueso, en la cual hay una disminución de la masa ósea y alteración de la microarquitectura, lo cual lleva a la fragilidad del esqueleto, dando como resultado una disminución en la resistencia ósea y un elevado riesgo de fracturas. Esta patología conlleva a graves consecuencias físicas, psicológicas, sociales y económicas; a pesar de esta situación, debido a su desarrollo silencioso, es subestimada o tratada insuficientemente.

En el año 2011 la OMS considera a la osteoporosis como epidemia mundial del siglo XXI, afectando más frecuentemente a mujeres de 30 a 59 años. En el Perú en el año 2012 se estima que el 7% de las mujeres entre 40 y 60 años, y el 30% de las mujeres de más de 60 años tienen osteoporosis; y se encuentra una prevalencia de aproximadamente 40% en mujeres de más de 50 años. Se vio también que la relación de hombres y mujeres con osteoporosis era de 1:4 respectivamente, y que de los hombres mayores de 50 años con osteoporosis 1 de cada 4 sufrirá una fractura durante su vida a consecuencia de esta enfermedad.

Se sabe también que en pacientes sanos con familiares de primer grado con osteoporosis, existe un mayor riesgo de padecer la enfermedad, lo que nos hace pensar en un factor genético que aún falta estudiar con mayor profundidad, siendo esta una de las principales motivaciones para la realización de esta tesis.

Dado que el factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF b1) participa en el proceso de formación y resorción ósea, es que los pacientes con una alteración en el gen del TGF b1 tendrían mayor probabilidad de presentar osteoporosis que aquellos que no presentan ninguna alteración.

Es debido a esto que se considera importante determinar si existe el polimorfismo del gen TGF beta 1 en la población arequipeña, y así poder detectar los pacientes con este factor de riesgo y administrarles medidas preventivas para evitar que desarrollen la enfermedad, y evaluar su utilidad como blanco terapéutico en trabajos futuros.

### III. PLANTEAMIENTO TEORICO

#### 1. Problema de investigación

##### 1.1. Enunciado del Problema

¿Existe asociación del polimorfismo del gen TGF beta 1 con osteoporosis en mujeres posmenopáusicas?

##### 1.2. Descripción del Problema

###### a. Área del conocimiento

- Área general: Ciencias de la Salud
- Área específica: Medicina Humana
- Especialidad: Reumatología
- Línea: Genética molecular

###### b. Operacionalización de Variables

<b>Variable</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Subindicadores</b>	<b>Escala</b>
TGF	Normal Polimorfismo	TGF b1 TGF b1 T869C	Cualitativo
Osteoporosis (T score)	-Sano -Osteopenia -Osteoporosis -Osteoporosis grave	>-1.0 -1.0 a -2.49 <-2.5 <-2.5 + fractura por fragilidad	Cualitativo
<b>VARIABLES INTERVINIENTES</b>			
<b>Variable</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Subindicadores</b>	<b>Escala</b>
Edad	Edad	Años	Cuantitativo
Estilo de vida	Consumo de café	Si No	Cualitativo
	Ejercicio en la adolescencia	Si No	Cualitativo
	Ejercicio actualmente	Si No	Cualitativo

	Nutricion (IMC)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bajo peso (&lt;18.5)</li> <li>- Normal (18.5-24.99)</li> <li>- Sobrepeso (25 – 29.99)</li> <li>- Obesidad (&gt;30)</li> </ul>	Cualitativa
--	-----------------	--	-------------

**c. Interrogantes básicas**

1. ¿Está relacionado el polimorfismo con la osteoporosis?
2. ¿Los polimorfismos están relacionados con la severidad de la osteoporosis?

**d. Tipo de investigación:**

- ✓ Analítica

**e. Diseño de investigación:**

- ✓ Observacional, prospectivo, transversal.

**f. Nivel de investigación:**

- ✓ Nivel Correlacional.

**13. Justificación del problema**

Esta investigación tiene como objetivo principal determinar si existe una asociación entre los polimorfismos del gen TGF beta 1 y osteoporosis en las mujeres postmenopáusicas. Esto con el fin de encontrar un factor genético que pueda ser usado en el estudio de la enfermedad temprana en pacientes con parientes de primer grado con osteoporosis y que presenten el polimorfismo, para así poder instaurar medidas profilácticas y evitar la aparición temprana de la enfermedad en aquellas personas que presenten este factor de riesgo.

Actualmente no se conocen exactamente los factores genéticos que predisponen a padecer osteoporosis, pero se sabe que estos deben estar presentes, ya que los

familiares de primer grado de pacientes con esta enfermedad presentan un mayor riesgo de padecer osteoporosis en comparación con la población sin este factor de riesgo. Al estudiar a la población Arequipeña podremos determinar la presencia o no de estos polimorfismos y determinar su importancia como un factor genético asociado a esta enfermedad.

Como se sabe la osteoporosis es una enfermedad silente y que al momento de manifestar síntomas (fracturas) se encuentra en una etapa avanzada de la enfermedad, llegando a ser altamente incapacitante e influenciando negativamente en la calidad de vida de quien la padece y de su entorno familiar, afectando de igual forma su salud psicológica y emocional. Tiene además una seria implicancia social ya que limita la actividad habitual de quien la padece, así como de los familiares que los cuidan. También tiene una seria implicancia económica, ya que al presentarse las complicaciones de esta enfermedad el paciente queda incapacitado temporalmente para realizar actividades laborales, y los familiares que se encargan de su cuidado deben ausentarse temporalmente para atenderlo; además de tener que cubrir los gastos del tratamiento farmacológico y rehabilitación en caso de ser necesario.

La importancia de esta investigación radica, entonces, en encontrar un método de detección de un factor de riesgo genético para la osteoporosis, y de esta forma administrar medicación o medidas profilácticas para evitar el desarrollo de la enfermedad, y con esto evitar las consecuencias negativas en la calidad de vida del paciente, tanto psicológicas, emocionales, sociales, familiares y económicas que conllevan esta patología. Y en un futuro se podría estudiar este factor genético como un blanco terapéutico para mejorar los síntomas en la población enferma y que presentan estos polimorfismos.

El desarrollo de este trabajo es factible debido a que los materiales e insumos necesarios para la secuenciación del gen TGF beta 1 se encuentran disponibles en los laboratorios de la UCSM, y se cuenta con los recursos necesarios para su elaboración. El desarrollo de la presente tesis me servirá para obtener el grado de licenciada en Medicina Humana.

## 2. Marco conceptual

### a. La osteoporosis:

El hueso es un tejido metabólicamente activo que está en continuo remodelamiento por dos procesos: la formación y resorción ósea. Estos se desarrollan gracias a la intervención de distintas células con funciones específicas en este proceso, como son los osteoblastos (formación), osteocitos (mantenimiento) y los osteoclastos (resorción)<sup>1,2,3</sup>.

La osteoporosis es una enfermedad sistémica esquelética que se caracteriza por la disminución de la masa ósea y deterioro de la microarquitectura del tejido óseo que lleva a fragilidad ósea y aumenta el riesgo de fracturas<sup>1,4,5,6,7,8,9</sup>.

Esto se puede dar como resultado de la falla en la formación de masa ósea o por exceso en la resorción, dando como consecuencia una alteración de la remodelación ósea<sup>1,2,3,6,10</sup>.

#### o Epidemiología:

La información sobre la epidemiología de esta enfermedad, tanto a nivel mundial como a nivel nacional es escasa y no se encuentra actualizada, siendo necesarios más estudios<sup>11</sup>.

Según un reporte de la Fundación Internacional de Osteoporosis (IOF) del año 2010, se estima que un promedio de 200 millones de personas a nivel mundial sufre de esta enfermedad; y aproximadamente el 30% de mujeres postmenopáusicas en EEUU y Europa tienen osteoporosis,<sup>11</sup> siendo esta considerada un problema de salud pública por las complicaciones y secuelas que presenta<sup>11</sup>.

A nivel mundial se estima que 1 de cada 3 mujeres y 1 de cada 5 hombres mayores de 50 años están en riesgo de sufrir una fractura por osteoporosis, siendo la incidencia de 40% en mujeres y 15 a 30% en hombres aproximadamente. Las principales fracturas que pueden presentar los pacientes con osteoporosis son las fracturas de columna o vertebrales y las fracturas de cadera. Se considera que solo un 12 % de las fracturas vertebrales en mujeres y hombres se diagnostica con criterios radiológicos, siendo las demás subdiagnosticadas. Las fracturas de cadera

se asocian a severa limitación funcional y elevada mortalidad (10 a 20% más que la esperada para su edad)<sup>11,12</sup>. La incidencia anual de fractura de cadera es de 1.7 millones aproximadamente, siendo más frecuente en personas mayores de 50 años (90% se da en esta población) y más frecuente en hombres que en mujeres (5/4)<sup>11</sup>.

Se proyecta que para el año 2050, la incidencia de fractura de cadera aumentara hasta un 240% en mujeres y 310% en hombres, lo que significarían 6.26 millones en el año 2050 a comparación de 1.66 millones en el año 1990<sup>11</sup>.

En las estadísticas nacionales, los datos mas actuales son los reportados por EsSalud, donde se encontró una incidencia de osteoporosis del 7% en mujeres de 40 a 60 años, y de 30% en aquellas mayores de 60 años. Además de aquellas mujeres mayores de 50 años, el 12 a 16% sufrirán una fractura de cadera al año, determinando una tasa de mortalidad de 23.2% por año relacionada a esta complicación<sup>12</sup>.

La prevalencia de la osteoporosis varía entre los distintos grupos étnicos y poblaciones, por ejemplo, algunos estudios afirman una mayor prevalencia en la población asiática y caucásica<sup>9</sup>, a diferencia de la población latina y la población negra en la cual se encuentra una menor prevalencia en comparación<sup>2, 13, 14</sup>.

#### ○ Fisiopatología:

Una pérdida en la unidad multicelular ósea comprometerá la fuerza del hueso, pudiendo esta resultar de: la disminución en la formación de la masa ósea, aumento de la velocidad de remodelación o ambos<sup>15</sup>.

En los adultos uno de los primeros cambios que ocurren en el proceso de remodelación es una disminución en la producción por la unidad multicelular por lo cual se produce pérdida de hueso. Cuando esto ocurre la resorción es mayor que la formación, cada vez que se da el proceso de remodelación se pierde una pequeña cantidad de hueso resultando en pérdida de masa ósea y daño estructural<sup>15</sup>.

Otra causa de pérdida de masa ósea, es el remodelamiento rápido, este se asocia a un alto riesgo de fracturas por 3 motivos: Primero, es que el hueso que esta densamente mineralizado es retirado y luego es reemplazado por hueso nuevo

menos mineralizado, reduciendo la fuerza y resistencia del tejido óseo. Como consecuencia a esto el hueso se vuelve muy flexible y débil, por lo que tiende a lesionarse ante cualquier esfuerzo usual. Segundo, los lugares de donde fue extraído el hueso quedan temporalmente vacíos, dejando las zonas aledañas expuestas a mayor presión, que sufre microdaños. Tercero, se alteran las uniones de las fibras de colágeno lo que aumenta la fragilidad del hueso<sup>15</sup>.

De la misma forma el remodelamiento rápido y la resorción profunda producen cavidades y pérdida de las trabéculas y sus conexiones, que dejan al hueso muy debilitado. Este remodelamiento rápido no disminuye con la edad, sino que continua a causa de la disminución de las hormonas femeninas. En personas mayores, el hueso intersticial a pesar de estar fuertemente mineralizado tiene un número reducido de osteocitos y acumula microdaño. El adelgazamiento cortical y la porosidad disminuye la resistencia ósea, ya que estos van coalesciendo y disminuyendo la capacidad de absorber la energía de un impacto (como una caída)<sup>15</sup>.

La fragilidad ósea se da más en mujeres que en hombres, y esto es porque la disminución de los niveles de hormonas sexuales no tiende a caer tan rápido en los hombres comparado con las mujeres y no presentan el aumento en la velocidad de remodelación en la vida adulta <sup>15</sup>.

○ Factores de riesgo:

Los factores de riesgo asociados a esta enfermedad pueden ser:

- No modificables (edad avanzada, sexo femenino, disminución de la función ovárica, menopausia temprana, histerectomía <sup>1,6,8 11,16,17</sup>, historia familiar de fracturas)<sup>4,5</sup>.
- Modificables (como baja ingesta de calcio en la dieta, fumar, poca actividad física, ingesta alta de alcohol, caídas frecuentes)<sup>1, 7,11</sup>.

Conociendo esto, vemos la importancia de conocer los factores genéticos relacionados al origen de esta enfermedad <sup>7</sup>.

Sabemos que la osteoporosis es causada por la interacción de factores genéticos y ambientales, que contribuyen al desarrollo de esta enfermedad en un 70% y 30%

respectivamente. Los factores ambientales actúan sobre los genéticos y regulan en parte su expresión, aunque estos últimos no se conocen con mucha claridad<sup>2</sup>, aquellos que están relacionados según estudios son: HIF1 alfa,<sup>16</sup> RANKL<sup>17</sup>, GATA 4<sup>18</sup>, TNF alfa, IL 17t, , IL 1, IL 6, TGF beta, IL 4, IL 10<sup>3,5,8,11</sup>. Algunos estudios respaldan la importancia de estos en la patogenia de la osteoporosis, pero aún son necesarios más estudios para confirmar esto y a su vez dilucidar el mecanismo exacto mediante el cual estas citoquinas se relacionan con el desarrollo enfermedad<sup>3</sup>.

○ Diagnóstico y clasificación:

Se le llama una enfermedad silenciosa debido a que mucha gente que tiene osteoporosis no lo sabrá hasta tener una fractura<sup>11</sup>. En algunos casos, los signos o síntomas que nos pueden hacer pensar que nuestra paciente tiene osteoporosis es la disminución en la talla o altura de la paciente, o la aparición de una xifosis a nivel cervical<sup>11</sup>.

Para hacer el diagnóstico, se tiene como examen auxiliar principal la densitometría ósea, en la cual se toma como referencia el T score  $\leq -2.5$  a nivel de la columna, cuello del fémur o cadera; que nos indica la presencia de la enfermedad<sup>11,19,20,21,22</sup>.

Según el T score se clasifica en: Normal ( $\geq -1$ ), osteopenia ( $< -1$  a  $> -2.5$ ), osteoporosis ( $\leq -2.5$ ) y osteoporosis severa ( $\leq -2.5$ , y presencia de al menos una fractura por fragilidad)<sup>11</sup>.

○ Tratamiento:

El tratamiento utilizado actualmente, consta de tratamiento no farmacológico y tratamiento farmacológico. Al hablar del tratamiento no farmacológico nos referimos a el cambio en el estilo de vida y cambios en los factores de riesgo (como el realizar actividad física, cambios en el ambiente donde vive el paciente para disminuir lo más posible el riesgo de caídas que puedan producir una fractura, dejar el tabaco y el alcohol), la administración de calcio y vitamina D (1000 mg de suplemento de calcio elemental diariamente, con 400 UI de vitamina D diaria)<sup>21</sup>.

Al referirnos a la terapia farmacológica, actualmente se hace uso de agentes antiresortivos (buscan evitar la resorción por los osteoclastos) o anabólicos

(estimulan a la formación de nuevo tejido óseo por los osteoblastos) <sup>21</sup>.

- El estrógeno ayuda a evitar la resorción del hueso y mantener su formación, el problema son los efectos adversos que podría tener en la salud de la paciente como el riesgo de desarrollar cáncer de mama o eventos coronarios, trombóticos, cerebrovasculares; por lo que no se recomienda su uso como terapia de primera línea<sup>21</sup>.
- SERM (moduladores selectivos de los receptores de estrógeno) como el raloxifeno, inhibe la resorción ósea, disminuye el riesgo de fracturas vertebrales en un 30%, pero en otros tipos de fracturas no tiene efecto. Su uso en conjunto con el estrógeno se aprobó por la FDA como medicación preventiva para la osteoporosis, pero no como tratamiento<sup>21</sup>.
- Bifosfonatos, inhiben la remodelación del hueso, como alendronato y risendronato<sup>21</sup>.
- Denosumab, es un fármaco de terapia biológica, inhibe la resorción del hueso uniéndose al RANKL y así disminuyendo la diferenciación de los osteoclastos<sup>21</sup>.
- Teriparatide, es un agente anabólico que aumenta la formación del hueso más que disminuir la resorción<sup>21</sup>.

o Complicaciones:

La principal complicación son las fracturas, principalmente a nivel de cadera y columna, las cuales tienen una repercusión negativa en la capacidad funcional del individuo que la sufre, así como una alta morbilidad y mortalidad <sup>11,12</sup>.

Como se sabe las fracturas son la causa más común de discapacidad, que además de la limitación funcional que producen debido al dolor, también producen un deterioro en la calidad de vida del paciente, un aumento de la mortalidad e implica la necesidad de cubrir los costos de la atención médica<sup>22</sup>.

b. Factor de crecimiento transformante beta 1 (TNF beta 1):

o Localización:

Se localiza en el cromosoma 19q13 <sup>22,23</sup>.

○ Generalidades:

El TNF beta 1 tiene un papel muy importante en la formación, almacenamiento de mineral y la generación de células hematopoyéticas. Es una de las más potentes citocinas reguladoras<sup>10</sup>, a nivel de sistema inmune su trabajo consiste en inducir y mantener la tolerancia inmune mediante la regulación de la proliferación de linfocitos, diferenciación y supervivencia<sup>10</sup>.

Se vio que la super familia de factor de crecimiento transformante (TGF) cataliza enzimas relacionadas a la osteoporosis. El TGF beta 1, es el miembro de esta familia que se encuentra en mayor cantidad en el hueso y se considera un regulador importante de la formación y resorción del hueso, ya que puede estimular la proliferación, diferenciación y quimioatracción de los preosteoblastos, además de evitar la apoptosis de los osteoblastos, así como inhibir la maduración de los osteoclastos y la proliferación de los precursores mononucleares de los osteoclastos; todo esto demostrado en estudios in vitro<sup>4,10</sup>.

Este es producido por los osteoblastos como un propeptido inactivo y luego es incorporado a la matriz del hueso que está siendo formado; se libera durante la resorción y se activa en el microambiente ácido dado por los osteoclastos<sup>23</sup>.

Así mismo, se mostró que el TGF beta 1 aumenta la producción de matriz extracelular ósea mediante los osteoblastos en sus etapas tempranas de diferenciación<sup>10</sup>. En relación a los osteoclastos, se relacionan a apoptosis, reclutamiento de precursores de osteoclastos en el bazo o la médula ósea<sup>8,10,24</sup>.

En un estudio, se encontró que los niveles de TGF beta 1 en el suero de pacientes osteoporóticas postmenopáusicas es mayor que en aquellas no osteoporóticas, lo que llevaría a una mala resorción y formación ósea, que lleva a osteoporosis. Se necesitan más estudios para aclarar más este enunciado<sup>8</sup>.

○ Polimorfismos:

Los polimorfismos del gen TGF beta 1 resultan de una sustitución Leu-Pro a nivel del aminoácido 10, que incluye una transición entre los nucleótidos T-C del nucleótido 29 (T29C) y una transición T-C en el nucleótido 869 (T869C)<sup>5,25</sup>. Estas alteraciones afectan la remodelación ósea y de esta forma aumentan el

riesgo de osteoporosis<sup>5</sup>.

Al estudiar estos polimorfismos en la población, un estudio encontró que el polimorfismo T29C y T869C están significativamente relacionado en la población asiática, donde se encontraron estas alteraciones, a diferencia de la población caucásica con la que no se encontró relación<sup>5</sup>.

Además, se vio que la población que presentaba este polimorfismo T869C tenía un mayor riesgo de presentar una fractura en comparación con el resto de la población, de donde se concluye que la presencia de este polimorfismo actuaría como un factor de riesgo para fractura en personas con osteoporosis<sup>22</sup>.

○ Actualizaciones:

Las proteínas morfogenéticas óseas (BMP) es un factor de crecimiento que es parte de la superfamilia TGF beta. Son potentes inductores del hueso y se están estudiando en el tratamiento de fracturas en estudios clínicos; su inyección intraperitoneal incrementa el número de células stem mesenquimales del adulto, aumenta la actividad osteogénica, proliferación y la actividad de formación del hueso<sup>26</sup>.

### 3. Análisis de antecedentes investigativos

**A nivel nacional:** No se encontraron trabajos relacionados a nivel nacional

**A nivel internacional**

1) Autor: Yu Cong.

Título: A single nucleotide polymorphism in the TGF- $\beta$ 1 gene (rs1982073 C>T) may contribute to increased risks of bone fracture, osteoporosis, and osteoarthritis: a meta-analysis

Resumen: “Genetic factors have been shown to be of great importance for the pathogenesis of bone diseases, such as fracture, osteoporosis (OP), and osteoarthritis (OA). However, published studies on the correlations of transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) gene polymorphisms with bone diseases have been hampered by small sample sizes or inconclusive findings. We hence aimed at examining the relationships between a single nucleotide polymorphism in the TGF- $\beta$ 1 gene (rs1982073 C>T) with bone fracture, OP,

and OA risks in this meta-analysis. A systematic electronic search of literature was conducted to identify all published studies in English or Chinese on the association between the TGF- $\beta$ 1 gene and fracture, OP, or OA risks. Data were abstracted independently by two reviewers. To investigate the strength of this relationship, crude odds ratios with 95 % confidence intervals were used. An updated meta-analysis based on nine independent case-control studies were chosen (patients with fracture, OP, or OA = 1569; healthy controls = 1638). Results identified a higher frequency of rs1982073 C>T in patients with fracture, OP, or OA than in healthy controls. Ethnicity and genotyping method-stratified analysis under both models implied that the rs1982073 C>T polymorphism was positively correlated with the risk of fracture, OP, and OA among Asians under detection via the non-PCR-RFLP method. Disease-stratified results yielded that rs1982073 C>T may increase the risk of fracture, OP, and OA under the allele model, but was only significantly related to OP under the dominant model. According to the sample size-stratified analysis, subjects with the rs1982073 C>T polymorphism in the allele model were more likely to develop the three bone diseases in both the small and large sample size groups, and only in the large sample size under the dominant model. Our findings show that TGF- $\beta$ 1 rs1982073 C>T has a modest effect in increasing susceptibility to bone fracture, OP, and OA.”

Lugar y año de publicación: China, 2016.

Cita en Vancouver: Yu C, Jiang-Ying R, Ni-Rong B, Ting G, Jian-Ning Z. A single nucleotide polymorphism in the TGF- $\beta$ 1 gene (rs1982073 C>T) may contribute to increased risks of bone fracture, osteoporosis, and osteoarthritis: a meta-analysis. *Clinical Rheumatology* 2016; 35(4): 973–985.

2) Autor: Aazam Faraji

Título: Transforming Growth Factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) in the Sera of Postmenopausal Osteoporotic Females

**Resumen:** “Background: Postmenopausal osteoporosis is a major cause of morbidity in postmenopausal females. Transforming growth factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) and interleukin 18 (IL-18) play complex roles in normal bone metabolism, and in pathophysiology of postmenopausal osteoporosis.

Objectives: The aim of this study was to design an analytic cross sectional study in order to further clarify the role of TGF- $\beta$ 1 and IL-18 in osteoporosis of postmenopausal females.

Methods: A cross sectional study including 65 postmenopausal osteoporotic females as cases and 69 postmenopausal females of similar age without osteoporosis as controls was conducted. Dual energy X-ray absorptiometry (DXA) was used to determine bone mass density (BMD) of participants and T-scoring was applied to establish whether the patient has osteoporosis or not. Serum TGF- $\beta$ 1 and IL-18 levels were measured by quantitative sandwich Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).

Results: Serum TGF- $\beta$ 1 levels were significantly higher in osteoporotic postmenopausal females than non-osteoporotic individuals (23.8 vs. 15.8 ng/mL;  $P = 0.009$ ). There was no difference between IL-18 levels in the sera of osteoporotic and non-osteoporotic postmenopausal females in this study. There was a positive correlation between body mass index (BMI) and serum level of TGF- $\beta$ 1 ( $P = 0.04$ ).

Conclusions: Our study demonstrated that TGF- $\beta$ 1 serum levels is higher in osteoporotic postmenopausal females than nonosteoporotic ones, and probably aberrant increase in TGF- $\beta$ 1 in postmenopausal females can result in uncoupled bone resorption and formation, which leads to osteoporosis.”

**Lugar y año de publicación:** Iran, 2016.

**Cita en Vancouver:** Faraji A, Abtahi S, Ghaderi A, Samsami Dehaghani A. Transforming Growth Factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) in the Sera of Postmenopausal Osteoporotic Females. International Journal of Endocrinology and Metabolism. 2016;14(4):e36511. doi:10.5812/ijem.36511.

## 4 Objetivos.

### 4.1. General

Evaluar si existe asociación del polimorfismo T869C del gen TGF beta 1 con osteoporosis en mujeres posmenopáusicas.

## 4.2. Específicos

- 1) Establecer la asociación entre los polimorfismos y la osteoporosis
- 2) Establecer si los polimorfismos están asociados con la severidad de la osteoporosis.
- 3) Establecer el genotipo predominante del gen TGF beta 1 en las unidades de estudio.

## 5. Hipótesis

### - Hipotesis de investigación

“Dado que: Se conoce que los familiares de pacientes con osteoporosis tienen un mayor riesgo de padecer la enfermedad”

“Es probable que: al examinar el gen TGF beta 1 se encuentre polimorfismo que esté ligado a dicha enfermedad, explicando el trasfondo genético de la osteoporosis.”

### - Hipotesis operativa:

**Nula:** Dado que no se encontró polimorfismo del gen TGF b1 en mujeres postmenopáusicas con osteoporosis, es probable que no estén relacionados con el desarrollo de la enfermedad.

**Alterna:** Dado que se identificó el polimorfismo del gen TGF b1 en mujeres postmenopáusicas con osteoporosis, es probable que estén relacionados en el desarrollo de la enfermedad.

## IV. PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

### 1. DISEÑO DEL ESTUDIO:

#### TIPIFICACION DEL ESTUDIO

Diseño: Transversal, casos y controles, retrospectivo.

### 2. MÉTODOS, TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN:

#### 2.1. Métodos

Observación documental: se observará densitometría ósea en historia clínica

Observación de laboratorio

## 22. Instrumento

Ficha de recolección de datos (Anexo 4)

T score para densitometría ósea:

T-Score	Interpretación
Entre +1 y -1 DE	Normal
Entre -1 y -2,5 DE	Osteopenia
< de -2,5 DE	Osteoporosis
< de -2,5 DE y presencia de fractura patológica	Osteoporosis severa

## 23. Cuadro de coherencias

Variable	Indicadores y Sub Indicadores	Técnicas e Instrumentos	Estructura del Instrument
Osteoporosis	<b>Densitometría</b>	Observación documental y ficha de recolección de datos	1
	<ul style="list-style-type: none"> <li>T score</li> </ul>		
Polimorfismo o TGF b1	<b>Polimorfismo</b>	Secuenciación	2
	<ul style="list-style-type: none"> <li>TGF b1</li> </ul>		
Edad	<ul style="list-style-type: none"> <li>Años</li> </ul>	Ficha de recolección de datos	3
Nutrición	IMC		
Estilos de vida	Consumo de café		
	Ejercicio en la adolescencia		
	Ejercicio actualmente		
			5
			6

## 24. Obtención de la muestra:

Los datos necesarios serán recolectados de las historias clínicas de las pacientes, del servicio de reumatología que acudan a consulta externa y para realización del examen de densitometría ósea al centro médico OSREM, del distrito de Yanahuara en Arequipa.

La muestra estará compuesta por todas aquellas pacientes que cumplan con los criterios de inclusión y exclusión.

Se dividirá la muestra en 3 grupos,

Grupo 1: aquellas pacientes con densitometría ósea completa dentro de parámetros normales.

Grupo 2: Pacientes con densitometría ósea completa que informe osteopenia.

Grupo 3: Pacientes con densitometría ósea completa que informe osteoporosis.

A cada una se le realizara una encuesta previa a la toma de muestra, y deberán contar con resultado de densitometría ósea completa al momento del ingreso.

Ingresaran al estudio pacientes mujeres postmenopáusicas que se encuentren entre los 48 y 70 años, que cuenten con densitometría ósea completa. Se les procederá a explicar los objetivos de la investigación, el procedimiento de la toma de muestra y se resolverán a las dudas presentes. Luego de dicho procedimiento, con absoluto conocimiento del objetivo de la investigación, se procederá al correcto llenado y firma del consentimiento informado, y posteriormente se realizará la toma de muestra de células bucales.

El procesamiento de la muestra de células bucales recolectada, se realizará en los laboratorios de la UCSM, mediante secuenciación (PCR) para identificar el probable polimorfismo presente en el gen TGF beta 1.

## 25. Técnicas:

### a. Selección de la muestra:

Se asignará un numero a cada unidad de estudio, y se designará la pertenencia a los grupos según los resultados obtenidos en la densitometría ósea, contando con las fichas de recolección de datos adecuadamente numeradas, conteniendo los datos de las participantes.

## b. Densitometría ósea

Es un examen radiológico, el cual se realiza mediante la emisión de rayos X en bajas cantidades para medir la densidad mineral ósea, que es el contenido de calcio y otros minerales en el hueso, siendo las más representativas las de la cadera y región lumbar.

Útil para el diagnóstico de osteoporosis, así como para evaluar el riesgo de fracturas patológicas (sin trauma previo).

Para la interpretación de los resultados, se cuenta con el T-score y el Z-score. Ambos relacionan el valor de la densitometría del paciente con datos correspondientes a otros pacientes (con el valor medio de la población de 20 a 39 años del mismo sexo en el T-score y población de la misma edad y sexo en el caso del Z-score), calculando así las desviaciones estándar con respecto al valor medio de la población.

T-Score	Interpretación	Riesgo de fractura
Entre +1 y -1 DE	Normal	Normal
Entre -1 y -2,5 DE	Osteopenia	Doble de lo normal
< de -2,5 DE	Osteoporosis	Cuádruple de lo normal
< de -2,5 DE y presencia de fractura relacionada con fragilidad ósea	Osteoporosis severa	Por cada DE de disminución, el riesgo se multiplica por 1,5-2

Siendo considerada:

- Normal cuando el valor de T-score es mayor a -1 desviación estándar (DE).
- Osteopenia: cuando el valor de T-score se encuentra entre -1 y -2.5 DE, donde el riesgo de fractura patológica es 2 veces mayor que el de la población sana.
- Osteoporosis: cuando el valor de T-score es menor a -2.5 DE, donde el riesgo de fractura patológica es 4 veces mayor que el de la población sana.
- Osteoporosis grave: cuando el valor de T-score es menor a -2.5 DE y se asocia a antecedente de fracturas patológicas por fragilidad ósea, y cuenta con un riesgo de fractura que se multiplica por 1.5 a 2 por cada DE disminuido.

### c. PCR

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un estudio de laboratorio utilizado ampliamente en estudios genéticos y de biología molecular, siendo esta una reacción enzimática *in vitro* cuyo fin es producir la replicación del ADN, con el objetivo de lograr el estudio de secuencias específicas de un gen y poder estudiarla.

### 26. Instrumentos:

- Balanza
- Tallímetro
- Citocepillo
- Kit para PCR

### 27. Materiales:

- Papel bond A4
- Materiales de escritorio
- Laptop
- Impresora
- Fichas de recolección de datos
- Software: Microsoft Office y estadístico

## 3. CAMPO DE VERIFICACIÓN

### 3.1. Ubicación espacial

#### Precisión del lugar

- **Ámbito general:** Departamento de Arequipa
- **Ámbito Específico:** Provincia de Arequipa y distrito de Yanahuara.

#### Caracterización del Lugar

- **Ámbito institucional:** Servicio de reumatología y densitometrías del centro médico OSREM.

#### Delimitación Geográfica:

La toma de datos y de muestras se realizará en los ambientes de Consultorio externo de la especialidad de Reumatología y área de Densitometrías del centro

de salud OSREM, Calle Ronda Recoleta 200, ubicada en el distrito de Yanahuara, provincia de Arequipa.

### 32. Ubicación temporal

El estudio se desarrollará en el periodo comprendido entre Marzo y Abril del 2019.

### 33. Unidades de estudio

#### a) Población

##### - **Por su contenido:**

Son mujeres con edades entre 48 y 70 años, que acudan a la especialidad de Reumatología del centro médico OSREM por consulta externa y área de densitometría entre los meses de Marzo y Abril del año 2019.

##### - **Población objetivo o blanco:**

Son mujeres con edades entre 48 y 70 años, con el diagnóstico de osteoporosis, que acudan a la especialidad de Reumatología del centro médico OSREM por consulta externa y área de densitometría entre los meses de Marzo y Abril del año 2019.

##### - **Población accesible:**

Mujeres postmenopáusicas, con edades entre 48 y 70 años, que cuenten con densitometría ósea que acudan a la especialidad de Reumatología del centro médico OSREM por consulta externa y área de densitometría entre los meses de Marzo y Abril del año 2019.

##### - **Características de la población accesible:**

###### ○ **Criterios de inclusión:**

Mujeres postmenopáusicas con edades entre 48 y 70 años.

Mujeres con diagnóstico de osteopenia u osteoporosis que cuenten con densitometría ósea.

###### ○ **Criterios de exclusión o eliminación:**

Mujeres que no aceptaron participar en la investigación

Mujeres con diagnóstico de Diabetes Mellitus

Mujeres con diagnóstico de Hipertensión arterial

Mujeres con enfermedades cardiovasculares

**b) Muestreo y muestra:**

- **Muestreo:**

**Elección de las unidades de análisis:**

**Técnica de muestreo:**

- Por su variabilidad:

Es fijo

- Por la posibilidad de integrar la muestra:

Oportunidad única.

- Por la elección de sus elementos constitutivos:

Es determinista, se basa en las unidades que cumplen los criterios de inclusión y exclusión.

- Tipo de muestreo:

Es No probabilístico. Por conveniencia, intencional o deliberado.

- **Muestra:**

**Grupos:**

Grupo A: Casos de pacientes con diagnóstico de osteoporosis, 40 unidades de estudio.

Grupo B: 10 unidades de estudio sin diagnóstico de osteoporosis.

## 4 ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

### 4.1. Organización

- Permiso correspondiente para acceder a las unidades de estudio e historia clínica.
- Supervisión y coordinación: El investigador
- Primero se evalúa a la paciente, se procede a realizar la entrevista y recolección de datos de exámenes auxiliares, se explica sobre la necesidad de

tomar una muestra de laboratorio, se procede a explicar el objetivo de la investigación y firma del consentimiento informado de aceptar, y se procede a la toma de muestra, posteriormente se realiza el procesamiento de la misma.

- Ética del estudio: Se explicará a la paciente sobre el objetivo del estudio, absolviendo las dudas que puedan surgir, luego se procederá a colocar la firma y huella digital en el consentimiento informado (anexo 1) de forma libre y voluntaria en muestra de conformidad, teniendo pleno conocimiento del procedimiento. Posteriormente se coloca la firma del investigador como constancia de responsabilidad.

Este proyecto será evaluado por el comité de ética de la Universidad Católica de Santa María, el que indicará la conformidad del mismo.

#### 42. Recursos

Para realizar el estudio se necesitará lo siguiente:

##### a) Humanos

- **Investigador:** Andrea Atahualpa Manrique
- **Asesor:** Dr. Carlos Huanqui Guerra
- **Ingeniero biotecnólogo:** Alexa Chirinos Reymer

##### b) Físicos:

- **Infraestructura:** OSREM
- **Ambiente:** Consultorio externo de la especialidad de Reumatología y área de Densitometría del centro médico OSREM.

##### c) Económicos:

El estudio será financiado por el investigador.

#### 43. Criterios y estrategias para el manejo de los resultados:

##### a) Plan de tabulación y análisis:

- **Nivel de sistematización de los datos:**

##### **Tipo de procesamiento:**

Es mixto, manual y computarizado.

**b) Plan de clasificación:**

- **Matriz de ordenamiento:**  
De registro o control (Base de datos)

**c) Plan de codificación:**

- **Sistema de codificación:** Sistema computarizado

- **Tipo de procedimiento:** Códigos alfanuméricos

- **Implementación del trabajo y codificación**

**Variable V1:** Osteoporosis

**Variable V2:** Gen TGF beta 1

- **Variable e indicadores a codificar:**

**Variable V1:** Osteoporosis

Con Osteoporosis (1)

Sin Osteoporosis (0)

**Variable V2:** Gen TGF beta 1

Polimorfismo T869C (1)

Sin polimorfismo (0)

**44. Plan de recuento:**

**Tipo de recuento:** Computarizado

**Matriz de conteo:** No es necesaria una matriz de conteo, el método es computarizado.

**5. PLAN DE ANALISIS:**

**5.1. Técnicas estadísticas**

**a) Estadística descriptiva**

Frecuencias absolutas, relativas.

**b) Estadística inferencial:**

- Chi cuadrado
- Regresión logística binaria

## 6. PLAN DE TABULACION:

### TABLAS

#### Tipos de tablas:

Para estadística descriptiva: Tablas de frecuencias de observaciones absolutas y relativas.

Para la estadística inferencial: Tablas de contingencia de doble entrada.

## 7. PLAN DE GRAFICACION:

### Clases de gráficos

Gráficos de barras

## 8. NIVEL DE ESTUDIO DE LOS DATOS:

### - Metodología de interpretación de los datos:

Por vinculación de datos: causalidad

### - Modalidad:

Mixta (Interpretación subsiguiente a cada tabla-gráfico y luego una discusión global de los datos).

### - Operaciones de interpretación de datos:

Análisis por explicación.

### - Niveles de interpretación:

Explicativo

**V. CRONOGRAMA DE TRABAJO**

Tiempo en meses	AÑO								
	2018		2019						
	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	Julio
Búsqueda bibliográfica problema de									
Sistematización de bibliografía									
Redacción del proyecto									
Aprobación proyecto de tesis por Asesor									
Dictamen de comité de ética de investigación									
Ejecución de proyecto									
Recolección de datos									
Procesamiento de muestras									
Estructuración de resultados									
Informe final									

**Fecha de inicio:** 15 de Noviembre del 2018.

**Fecha probable de término:** 30 de Julio del 2019

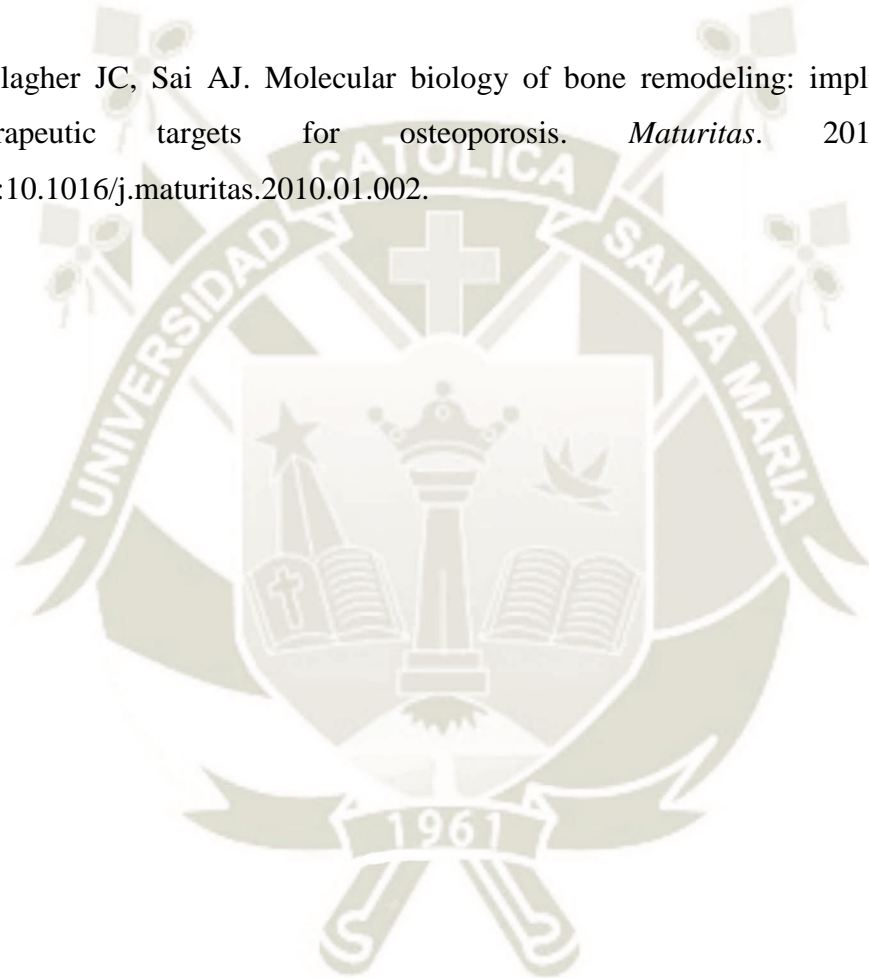
**VI. BIBLIOGRAFIA:**

- 1) Faienza MF, Ventura A, Marzano F, Cavallo L. Postmenopausal Osteoporosis: The Role of Immune System Cells. *Clinical and Developmental Immunology*. 2013;2013:575936. doi:10.1155/2013/575936.
- 2) Mohammadi Z, Fayyazbakhsh F, Ebrahimi M, et al. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms (Fok1 and Bsm1) and osteoporosis: a systematic review. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*. 2014;13:98. doi:10.1186/s40200-014-0098-x.
- 3) Ginaldi L, De Martinis M. Osteoimmunology and Beyond. *Current Medicinal Chemistry*. 2016;23(33):3754-3774. doi:10.2174/0929867323666160907162546.
- 4) Sun J, Zhang C, Xu L, Yang M, Yang H. The Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) Gene Polymorphisms (TGF- $\beta$ 1 T869C and TGF- $\beta$ 1 T29C) and Susceptibility to Postmenopausal Osteoporosis: A Meta-Analysis. Franklin Kellam. J, ed. *Medicine*. 2015;94(4):e461. doi:10.1097/MD.0000000000000461.
- 5) Chao T-H, Yu H-N, Huang C-C, Liu W-S, Tsai Y-W, Wu W-T. Association of interleukin-1 beta (-511C/T) polymorphisms with osteoporosis in postmenopausal women. *Annals of Saudi Medicine*. 2010;30(6):437-441. doi:10.4103/0256-4947.71062.
- 6) Cervellati C, Romani A, Cremonini E, et al. Higher Urinary Levels of 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine Are Associated with a Worse RANKL/OPG Ratio in Postmenopausal Women with Osteopenia. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016;2016:6038798. doi:10.1155/2016/6038798.
- 7) Wesselius A, Bours MJL, Henriksen Z, et al. Association of P2X<sub>7</sub> receptor polymorphisms with bone mineral density and osteoporosis risk in a cohort of Dutch fracture patients. *Osteoporosis International*. 2013;24(4):1235-1246. doi:10.1007/s00198-012-2059-x.

- 8) Faraji A, Abtahi S, Ghaderi A, Samsami Dehaghani A. Transforming Growth Factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) in the Sera of Postmenopausal Osteoporotic Females. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2016;14(4):e36511. doi:10.5812/ijem.36511.
- 9) Tzakas P, Wong BY, Logan AG, Rubin LA, Cole DE. Transforming growth factor beta-1 (TGFB1) and peak bone mass: association between intragenic polymorphisms and quantitative ultrasound of the heel. *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2005;6:29. doi:10.1186/1471-2474-6-29.
- 10) Kasagi S, Chen W. TGF-beta1 on osteoimmunology and the bone component cells. *Cell & Bioscience*. 2013;3:4. doi:10.1186/2045-3701-3-4.
- 11) International Osteoporosis Foundation. *Osteoporosis & Musculoskeletal Disorders*. <https://www.iofbonehealth.org/epidemiology> (accessed 21 November 2018)
- 12) Zanchetta J, MacDonald S, THE LATIN AMERICA REGIONAL AUDIT Epidemiología, costos e impacto de la osteoporosis en 2012. International Osteoporosis Foundation. 2012, 76. [https://www.iofbonehealth.org/sites/default/files/media/PDFs/Regional%20Audits/2012-Latin\\_America\\_Audit-ES\\_0\\_0.pdf](https://www.iofbonehealth.org/sites/default/files/media/PDFs/Regional%20Audits/2012-Latin_America_Audit-ES_0_0.pdf) (accessed 21 November 2018)
- 13) Mithal A, Ebeling P. The Asia-Pacific Regional Audit. International Osteoporosis Foundation; 2013. <https://www.iofbonehealth.org/data-publications/regional-audits/asia-pacific-regional-audit>. (accessed 21 November 2018)
- 14) Yu C, Jiang-Ying R, Ni-Rong B, Ting G, Jian-Ning Z. A single nucleotide polymorphism in the TGF- $\beta$ 1 gene (rs1982073 C>T) may contribute to increased risks of bone fracture, osteoporosis, and osteoarthritis: a meta-analysis. *Clinical Rheumatology* 2016; 35(4): 973–985.
- 15) Ego Seeman, M.D., M.B., B.S., and Pierre D. Delmas, M.D., Ph.D. Bone Quality — The Material and Structural Basis of Bone Strength and Fragility. *New England Journal of Medicine* 2016; 354:2250-2261.

- 16) Miyauchi Y, Sato Y, Kobayashi T, et al. HIF1 $\alpha$  is required for osteoclast activation by estrogen deficiency in postmenopausal osteoporosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013;110(41):16568-16573. doi:10.1073/pnas.1308755110.
- 17) Cagnetta V, Patella V. The role of the immune system in the physiopathology of osteoporosis. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*. 2012;9(2):85-88.
- 18) Güemes M, Garcia AJ, Rigueur D, et al. GATA4 is Essential for Bone Mineralization via ER $\alpha$  and TGF $\beta$ /BMP Pathways. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2014;29(12):2676-2687. doi:10.1002/jbmr.2296.
- 19) E. S. Siris, R. Adler, J. Bilezikian, M. Bolognese, B. Dawson-Hughes, M. J. Favus, S. T. Harris, et al. The clinical diagnosis of osteoporosis: a position statement from the National Bone Health Alliance Working Group. *Osteoporosis international* 2014; 25(5): 1439–1443.
- 20) Siris, E. S., Adler, R., Bilezikian, J., Bolognese, M., Dawson-Hughes, B., Favus, M. J., ... & Lindsay, R. (2014). The clinical diagnosis of osteoporosis: a position statement from the National Bone Health Alliance Working Group. *Osteoporosis international*, 25(5), 1439-1443. Doi: 10.1007/s00198-014-2655-z
- 21) Dennis M. Black, Ph.D., and Clifford J. Rosen, M.D. Postmenopausal Osteoporosis. *New England Journal of Medicine* 2016; 374:254-262.
- 22) Zhang Z-C, He N-B, Zhang T. Association between TGF- $\beta$ 1 +869C/T polymorphism and fracture risk: a meta-analysis. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2014;7(12):5124-5129.
- 23) Utennam D, Tungtrongchitr A, Phonrat B, Tungtrongchitr R, Preutthipan S. Association of T869C gene polymorphism of transforming growth factor- $\beta$ 1 with low protein levels and anthropometric indices in osteopenia/osteoporosis postmenopausal Thai women. *Genetics and Molecular Research* 2012; 11(1): 87-99.

- 24) Luo C, Wang L, Sun C, Li D. Estrogen enhances the functions of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells that suppress osteoclast differentiation and bone resorption *in vitro*. *Cellular and Molecular Immunology*. 2011;8(1):50-58. doi:10.1038/cmi.2010.54.
- 25) Sengul T, Gamze A, Nurten K, Berna T, Ayhan B, Omer K. Association between osteoporosis and polymorphisms of the IL-10 and TGF-beta genes in Turkish postmenopausal women. *Human Immunology* 2013; 74(9): 1179-1183.
- 26) Gallagher JC, Sai AJ. Molecular biology of bone remodeling: implications for new therapeutic targets for osteoporosis. *Maturitas*. 2010;65(4):301-307. doi:10.1016/j.maturitas.2010.01.002.





# **SEGUNDO ANEXO**

## **BASE DE DATOS**

DMO OSTEOPENIA																
NUM	EDAD	TALLA	PESO	IMC	CAFÉ	EJERCICIO ADOLESCENCIA	SEDENTARISMO	CORTICOIDES	MENARQUIA	EMBARAZOS	MENOPAUSIA	TIEMPO MENOPAUSIA	HISTERECTOMIA	FAMILIARES CON O	TGF beta	FRACTURAS
1	51	1.65	88	32.32	NO	SI	NO	NO	14	2	35	16	NO	SI	NO	NO
11	52	1.57	80.5	32.66	NO	NO	NO	NO	12	6	47	5	NO	SI	NO	NO
17	59	1.61	78.7	30.36	SI	SI	SI	NO	11	2	41	18	SI	SI	NO	NO
20	50	1.66	69.5	25.22	NO	NO	NO	NO	12	1	49	1	NO	NO	NO	NO
22	49	1.48	67	30.59	NO	NO	NO	NO	15	2	48	1	NO	NO	NO	NO
23	53	1.46	67	31.43	NO	SI	SI	NO	13	0	48	5	NO	NO	NO	NO
24	70	1.55	73	30.39	SI	SI	SI	NO	13	3	46	24	NO	SI	NO	NO
26	48	1.5	58.5	26.00	NO	SI	SI	NO	14	4	38	10	SI	SI	NO	NO
28	50	1.52	68	29.43	NO	SI	SI	NO	12	4	45	5	NO	NO	NO	NO
42	49	1.56	80	32.87	SI	SI	NO	NO	13	4	46	3	NO	NO	NO	NO
43	61	1.58	71.5	28.64	SI	NO	NO	NO	12	3	52	9	NO	NO	NO	NO
45	54	1.49	58	26.12	NO	SI	NO	NO	13	2	47	7	NO	NO	NO	NO
DMO OSTEOPOROSIS																
NUM	EDAD	TALLA	PESO	IMC	CAFÉ	EJERCICIO ADOLESCENCIA	SEDENTARISMO	CORTICOIDES	MENARQUIA	EMBARAZOS	MENOPAUSIA	TIEMPO MENOPAUSIA	HISTERECTOMIA	FAMILIARES CON O	TGF beta	FRACTURAS
2	58	1.39	55.5	28.73	SI	NO	NO	NO	13	3	40	18	NO	NO	NO	NO
4	61	1.42	56	27.77	NO	NO	SI	NO	14	0	50	11	NO	NO	SI	NO
5	50	1.49	72	32.43	NO	NO	NO	NO	12	2	39	11	NO	NO	SI	NO
6	68	1.57	54	21.91	SI	NO	NO	NO	14	7	35	33	NO	NO	SI	NO
8	57	1.52	68	29.43	SI	SI	SI	NO	13	3	45	12	NO	NO	NO	NO
9	59	1.52	56	24.24	NO	SI	NO	NO	12	0	52	7	NO	SI	NO	NO
12	63	1.53	62	26.49	NO	SI	SI	NO	13	4	43	20	NO	NO	NO	NO
14	63	1.56	68	27.94	SI	SI	SI	NO	12	1	50	13	NO	SI	SI	NO
15	68	1.43	63	30.81	SI	NO	NO	NO	13	1	49	19	SI	NO	NO	SI
16	53	1.44	49	23.63	NO	NO	SI	NO	12	2	47	6	NO	NO	NO	NO
18	59	1.38	57	29.93	NO	SI	SI	NO	13	4	40	19	NO	NO	NO	NO

NUM	EDAD	TALLA	PESO	IMC	CAFÉ	EJERCICIO ADOLESCENCIA	SEDENTARISMO	CORTICOIDES	MENARQUIA	EMBARAZOS	MENOPAUSIA	TIEMPO MENOPAUSIA	HISTERECTOMIA	FAMILIARES CON O	TGF beta	FRACTURAS
19	66	1.43	51	24.94	SI	NO	NO	SI	16	4	48	18	NO	SI	NO	NO
21	66	1.54	54	22.77	SI	SI	SI	NO	20	3	45	21	NO	NO	NO	SI
25	54	1.53	57.7	24.65	NO	NO	NO	NO	14	3	50	4	NO	NO	SI	NO
29	55	1.58	40.5	16.22	SI	NO	NO	NO	16	5	50	5	NO	NO	NO	NO
30	65	1.41	51	25.65	NO	NO	NO	NO	13	8	52	13	NO	NO	SI	NO
32	67	1.42	54	26.78	SI	SI	NO	NO	15	4	50	17	NO	SI	NO	NO
34	63	1.5	51	22.67	SI	NO	SI	SI	13	1	52	11	NO	SI	NO	SI
36	63	1.62	66.5	25.34	SI	SI	NO	NO	11	2	43	20	NO	SI	NO	NO
37	66	1.52	55	23.81	NO	SI	NO	NO	15	3	42	24	NO	NO	NO	NO
38	67	1.52	65	28.13	NO	SI	SI	NO	10	3	50	17	NO	NO	SI	NO
39	60	1.5	60	26.67	NO	SI	NO	NO	13	2	42	18	NO	SI	NO	SI
40	69	1.44	55	26.52	NO	NO	NO	NO	11	12	55	14	NO	NO	NO	NO
41	56	1.52	70	30.30	NO	SI	SI	NO	13	6	48	8	NO	NO	SI	NO
44	53	1.43	69	33.74	SI	NO	NO	NO	12	2	43	10	NO	NO	SI	SI
46	64	1.42	69.5	34.47	SI	NO	NO	NO	15	8	55	9	NO	NO	SI	NO
50	69	1.49	53	23.87	NO	SI	NO	NO	15	1	55	14	NO	SI	NO	NO
51	63	1.35	74	40.60	NO	NO	NO	NO	12	6	45	18	NO	NO	NO	NO
52	68	1.47	52.5	24.30	NO	SI	NO	NO	15	3	48	20	NO	NO	NO	NO
53	61	1.65	69	25.34	SI	SI	NO	NO	13	3	49	12	SI	SI	NO	NO
54	62	1.55	48	19.98	NO	SI	NO	NO	18	1	42	20	NO	SI	NO	NO
55	60	1.4	52.5	26.79	NO	NO	NO	NO	11	2	39	21	NO	NO	NO	NO
56	67	1.38	71.5	37.54	SI	NO	NO	NO	15	7	55	12	NO	NO	NO	SI
57	64	1.45	57.2	27.21	NO	NO	NO	NO	12	2	48	16	NO	NO	SI	NO
58	67	1.55	72	29.97	SI	SI	SI	NO	11	3	51	16	NO	NO	SI	NO
59	69	1.5	64.5	28.67	SI	SI	SI	NO	14	2	43	26	SI	SI	SI	SI
60	58	1.55	66.5	27.68	SI	SI	SI	NO	13	2	43	15	NO	NO	NO	NO



**TERCER ANEXO**  
**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

## **CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Mediante la presente se le invita a usted participar en un estudio de investigación, que tiene como propósito conocer la asociación entre una variación genética y la osteoporosis.

### **Participación voluntaria**

Luego de terminar de revisar este consentimiento, usted es la única que decide si desea participar en el estudio. Su participación es completamente voluntaria.

### **Procedimientos**

1. Se evaluará su densitometría
2. Se procederá a la toma de muestra de células bucales. (mucosa oral).
3. Se enviará su muestra a ser procesada en un laboratorio
4. Se le informara sobre el resultado de esta investigación cuando la misma haya finalizado

### **Riesgos y procedimientos para minimizar los riesgos**

No existen riesgos en esta investigación.

### **Costos**

Usted no deberá asumir ningún costo económico para la participación en este estudio.

### **Beneficios**

Puede ser que no haya un beneficio inmediato para usted por participar de este estudio. Sin embargo, usted estará contribuyendo decisivamente a ampliar el conocimiento científico local sobre una enfermedad que es considerada un problema social.

### **Confidencialidad**

Como hemos referido todos sus resultados que se generen serán tratados con la más estricta confidencialidad

### **Contacto**

Si usted tiene alguna pregunta acerca de este estudio el personal asignado a coordinar este estudio puede responder preguntas adicionales sobre cualquier procedimiento.

### **DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO/AUTORIZACION**

Yo he tenido oportunidad de hacer preguntas, y siento que todas mis preguntas han sido contestadas.

He comprendido que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme del estudio en cualquier momento. Además, entiendo que estando de acuerdo de participar en este estudio estoy dando permiso para se procese la información que se encuentre en mi historia clínica.

En base a la información que me han dado, estoy de acuerdo en participar en este estudio.

<p>Nombre de participante</p> <p>DNI:</p> <p>Firma y huella digital:</p>	
--	---

<p>Nombre del Investigador principal</p> <p>Documento de identidad</p>	
--	---

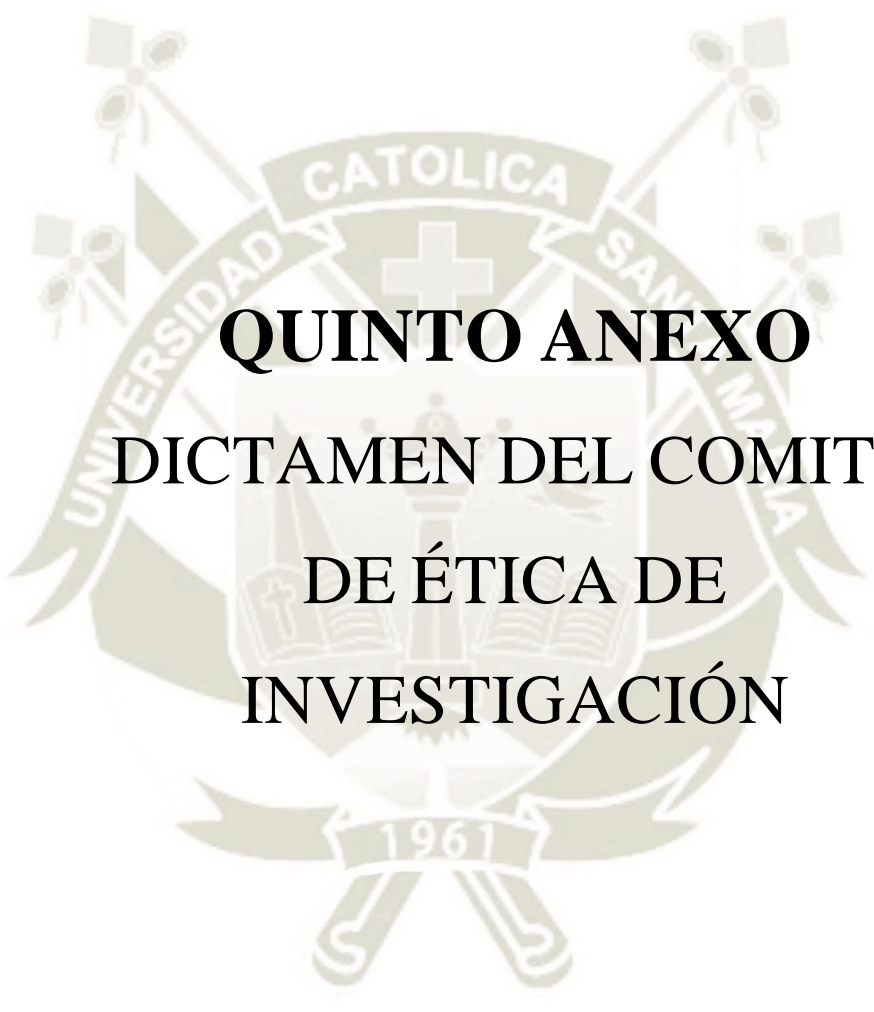
Fecha:



# **CUARTO ANEXO**

## **FICHA DE DATOS**

<b>NOMBRE</b>						
<b>CORREO ELECTRONICO</b>						
<b>FECHA DE NACIMIENTO</b>						
<b>EDAD</b>				<b>TALLA</b>		
<b>PESO</b>				<b>IMC</b>		
<b>HISTORIA MENSTRUAL Y REPRODUCTIVA:</b>						
EDAD DE PRIMERA MENSTRUACION						
NUMERO DE EMBARAZOS						
EDAD DE ULTIMA MENSTRUACION						
<b>ESTILO DE VIDA</b>	ALCOHOL	SI	NO	TABACO	SI	NO
CONSUMO DE CAFÉ	SI	NO		TIEMPO DE CONSUMO		
EJERCICIO	DURANTE LA ADOLESCENCIA			SI	NO	
	ACTUALMENTE			SI	NO	
<b>ENF. CRONICAS</b>	DM2					
	HTA					
	OSTEOPOROSIS					
	OTRAS					
<b>MEDICACION USADA ACTUALMENTE</b>						
<b>FRACTURAS ANTERIORES: especificar región del cuerpo y edad en que ocurrió</b>						
<b>FAMILIARES CON OSTEOPOROSIS: especificar el parentesco y edad de diagnostico</b>						
<b>DENSITOMETRIA: valoración y fecha de realización</b>						
<b>RESULTADO DE PCR</b>						



**QUINTO ANEXO**  
**DICTAMEN DEL COMITÉ**  
**DE ÉTICA DE**  
**INVESTIGACIÓN**



## COMITÉ DE ÉTICA INSTITUCIONAL DE INVESTIGACIÓN UCSM

### DICTAMEN COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Arequipa, 22 de marzo 2019

Andrea del Rosario Atahualpa Manrique  
Universidad Católica de Santa María  
Presente.-

De mi especial consideración.

Me dirijo a usted para hacerle llegar el resultado de la evaluación del proyecto de investigación y dictamen del Comité Institucional de Ética de Investigación.

El proyecto de tesis denominado “Asociación del polimorfismo del gen t869c del tgf beta 1 con osteoporosis en mujeres posmenopáusicas - Arequipa 2019” cuya autora es Andrea del Rosario Atahualpa Manrique.

#### A. DISEÑO:

En cuanto al diseño, se trata de un estudio descriptivo y transversal.

#### B. OBJETIVO:

Evaluar si existe asociación del polimorfismo T869C del gen TGF beta 1 con osteoporosis en mujeres posmenopáusicas.





## COMITÉ DE ÉTICA INSTITUCIONAL DE INVESTIGACIÓN UCSM

### DICTAMEN COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

#### C. SUJETOS DE ESTUDIO:

Mujeres mayores de 50 años, con el diagnóstico de osteoporosis, que acudan a la especialidad de Reumatología del centro médico OSREM por consulta externa y área de densitometría entre los meses de Marzo y Abril del año 2019.

#### D. TÉCNICAS DE ESTUDIO:

**Técnica:** Observación documental

**Instrumento:** se observará densitometría ósea en historia clínica observación de laboratorio

#### E. PROTECCIÓN DE LOS SUJETOS DE ESTUDIO:

La confidencialidad de los datos está asegurada.

#### F. PROCEDIMIENTOS:

Servicio de reumatología y densitometrías del centro médico OSREM.

#### G. RIESGO DEL ESTUDIO:

Ninguno





## COMITÉ DE ÉTICA INSTITUCIONAL DE INVESTIGACIÓN UCSM

### DICTAMEN COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

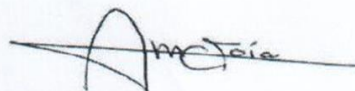
#### H. RECOMENDACIONES:

- ✓ La investigadora debe asegurar la confidencialidad de los datos y deberá informar al Comité resultados finales del estudio y manuscrito a una publicación que devenga de este proyecto.
- ✓ Se tiene alguna variación o nuevos procedimientos, deberá someter al Comité las enmiendas para su evaluación y dictamen antes de cualquier ejecución de estos nuevos procedimientos.

#### I. DICTAMEN:

**FAVORABLE.**

*DICTAMEN 96 - 2019*



Comité Institucional de Ética de la  
Investigación UCSM

Cualquier duda comunicarse a: [comiteeticainvestigacionucsm@gmail.com](mailto:comiteeticainvestigacionucsm@gmail.com)