

UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA  
SALUD

LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

**Informe de conclusión de servicio social**

**“Análisis de la apolipoproteína A1 (ApoA1) como un biomarcador de baja densidad mineral ósea en mujeres postmenopáusicas mexicanas.”**

ALUMNO: SEGURA CÓRDOVA JOSÉ LUIS

Matricula: 2182035009



ASESOR INTERNO: DRA. PATRICIA MARTINEZ CRUZ



ASESOR EXTERNO: DR. RAFAEL VELAZQUEZ CRUZ

Instituto Nacional de Medicina Genómica (24 de agosto de 2023

- 29 de mayo de 2024)

## I. Introducción

La densidad mineral ósea (DMO) es un indicador clave de la salud ósea, ya que refleja la cantidad de minerales presentes en los huesos. Esta medida es esencial para evaluar el riesgo de osteoporosis, una condición caracterizada por la pérdida significativa de masa ósea, lo que aumenta la fragilidad y la probabilidad de fracturas. La DMO está influenciada por diversos factores, entre los cuales destacan la genética, la nutrición, la actividad física y las hormonas. Estas últimas son especialmente relevantes en el contexto de la salud ósea femenina, particularmente durante la menopausia (Pérez-López et al., 2009).

Los estrógenos, hormonas sexuales femeninas, juegan un papel fundamental en el metabolismo óseo. Actúan directamente sobre los osteoblastos y osteoclastos, células responsables de la formación y resorción ósea, respectivamente. Durante la vida reproductiva los estrógenos mantienen el equilibrio entre la formación y resorción ósea favoreciendo la salud y densidad del hueso. No obstante, tras la menopausia, la disminución significativa de la DMO y, en consecuencia, en un mayor riesgo de osteoporosis y fracturas. Así, la función de los estrógenos en el metabolismo óseo se convierte en un factor crucial para la prevención de enfermedades óseas en mujeres posmenopáusicas (Pérez-López et al., 2009).

La baja densidad mineral ósea (DMO) es un problema de salud pública en mujeres postmenopáusicas, ya que aumenta el riesgo de fracturas por fragilidad y puede tener un impacto significativo en la calidad de vida debido a la disminución de estrógeno en esta etapa de vida. El estrógeno tiene un papel fundamental en la regulación del metabolismo óseo y su disminución puede llevar a una baja densidad mineral ósea (DMO). La identificación de biomarcadores para la baja DMO es importante para el diagnóstico y pronóstico de la osteoporosis, así como para el desarrollo de nuevas estrategias para detectar a la población de riesgo (Chaput et al., 2012), (Martínez-Aguilar et al., 2019).

En este contexto, se ha investigado la utilidad de la apolipoproteína A1 (ApoA1) como biomarcador para la baja DMO en mujeres postmenopáusicas. La ApoA1 es una proteína que se encuentra en el colesterol de alta densidad (HDL) y se ha demostrado que tiene un papel importante en la regulación del metabolismo óseo. Estudios previos han sugerido que los niveles séricos de ApoA1 pueden estar relacionados con la DMO y el riesgo de fracturas, sin embargo, se necesitan estudios adicionales para validar estos hallazgos y determinar la utilidad clínica de la ApoA1 como biomarcador para la baja DMO (Chaput et al., 2012).

El Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) tiene como misión contribuir a la salud de la población de México mediante la investigación, la formación de recursos humanos y la vinculación con el sector productivo para acelerar el proceso a bienes y servicios innovadores que elevan los niveles en la calidad de vida de los mexicanos e impulsan una cultura de prevención que ayude a disminuir los costos en la salud (INMEGEN, 2023). Su visión es convertirse en un referente nacional e internacional de investigación, desarrollo de políticas públicas e innovación en la salud preventiva para el año 2024 (INMEGEN, 2020). Estas iniciativas en investigación y prevención de la salud podrían ser relevantes en el contexto de la osteoporosis y la identificación de biomarcadores como la ApoA1.

## II. Objetivos generales y específicos

### Objetivo general:

Evaluar la relación entre los niveles de la apolipoproteína A1 (ApoA1) en suero y la densidad mineral ósea en mujeres postmenopáusicas mexicanas, con el propósito de determinar si ApoA1 puede ser un biomarcador útil en la predicción de la salud ósea en esta población.

### Objetivos específicos:

- Cuantificar los niveles de ApoA1 en suero de mujeres postmenopáusicas mexicanas mediante enzimoimmunoanálisis de adsorción (ELISA).
- Analizar si existe una asociación entre la densidad mineral ósea y los niveles de ApoA1.
- Aplicar técnicas de biología molecular (extracción de ADN genómico y qPCR), como herramientas en la investigación del metabolismo óseo.

## III. Metodología

### III.I Evaluación de APO A1 y densidad mineral ósea

El presente estudio se llevó a cabo como un estudio prospectivo en una cohorte de mujeres postmenopáusicas mexicanas. El objetivo principal es analizar la asociación entre los niveles de ApoA1 y la densidad mineral ósea (DMO) en esta población de estudio, que fue dividida en dos grupos: 157 mujeres con baja densidad mineral ósea y 157 con alta densidad mineral ósea.

Las participantes del estudio fueron sometidas a una absorciometría de rayos X de energía dual (DXA) para determinar la densidad mineral ósea en el cuello femoral, la cadera y la columna lumbar, en unidades de  $g/cm^2$ . A partir de estos datos, se calcularon sus puntuaciones de T-Score. Según los criterios de la OMS (Martínez-Aguilar et al., 2019), la densidad mineral ósea baja se definió como una puntuación T-Score inferior a -1 en el cuello femoral, la columna lumbar y la cadera.

Para clarificar, los niveles de DMO se categorizan de la siguiente manera:

Normal: T-Score entre +1 y -1.

Osteopenia (baja DMO): T-Score entre -1 y -2.5.

Osteoporosis (baja DMO más grave): T-Score de -2.5 o menor.

En este estudio, las participantes con baja DMO correspondieron a aquellas con un T-Score inferior a -1 en las tres áreas evaluadas, mientras que las participantes con alta DMO presentaron T-Scores dentro del rango normal o superior a -1 en esas mismas áreas (Orueta & Gómez-Caro, 2010).

### III.II Cuantificación de APOA1

El presente estudio se realizó conforme al protocolo establecido por el fabricante del kit Invitrogen Apolipoprotein A1 Human ELISA Kit (#EHAPOA1), siguiendo estrictamente las instrucciones proporcionadas (ApoA1 ELISA kits., 2023). Este kit permite la cuantificación de los niveles de ApoA1 en muestras de suero sanguíneo, con un rango de sensibilidad de 0.08 ng/mL a 20 ng/mL y un tiempo de reacción máximo de 4 horas y 45 minutos. A continuación, se detallan los pasos seguidos durante el procedimiento:

#### Fijación del Antígeno:

Se añadieron 100  $\mu$ L de los estándares a los pocillos correspondientes para la curva estándar y 100  $\mu$ L de las muestras diluidas a los pocillos designados para las muestras.

Los pocillos fueron cubiertos e incubados durante 150 minutos a temperatura ambiente con agitación suave.

Se eliminó la solución y se realizaron cuatro lavados con Buffer de Lavado 1X, llenando cada pocillo con 300  $\mu$ L del buffer. Posteriormente, se removió cualquier residuo de buffer mediante aspiración o decantación, y la placa se secó sobre toallas de papel limpias.

#### Adición del Conjugado de Biotina:

Se añadieron 100  $\mu$ L de conjugado de biotina preparado en cada pocillo.

Se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación suave.

Se descartó la solución y se repitió el procedimiento de lavado descrito anteriormente.

#### Adición de Streptavidina-HRP:

Se añadieron 100  $\mu$ L de solución de Streptavidina-HRP preparada en cada pocillo.

Se incubó durante 45 minutos a temperatura ambiente con agitación suave.

Se eliminó la solución y se realizó el lavado correspondiente.

#### Adición del Sustrato TMB:

Se añadieron 100  $\mu$ L de sustrato TMB a cada pocillo, observándose un cambio de color a azul.

Se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad con agitación suave.

#### Adición de la Solución de Parada:

Se añadieron 50  $\mu$ L de solución de parada a cada pocillo y se mezcló suavemente tocando el costado de la placa, provocando el cambio de color de azul a amarillo.

Lectura de la Absorbancia:

Se midió la absorbancia a 450 nm, asegurándose de realizar la lectura dentro de los 30 minutos posteriores a la adición de la solución de parada.

Generación de la Curva Estándar:

Se utilizó software de ajuste de curvas para generar la curva estándar, aplicando un algoritmo de cuatro parámetros para optimizar el ajuste. Antes del trazado, se restó la absorbancia de fondo de todos los puntos de datos.

Lectura de Concentraciones:

Se determinaron las concentraciones de las muestras desconocidas y del control a partir de la curva estándar. Los valores obtenidos fueron multiplicados por el factor de dilución adecuado.

En los casos en que las muestras presentaron señales superiores a las del diluyente estándar, estas fueron diluidas y analizadas nuevamente, ajustando la concentración mediante el factor de dilución correspondiente.

### III.III Análisis estadístico:

Se realizó un análisis estadístico de los datos recopilados. Además, de las pruebas de comparación de grupos, llevando a cabo un análisis de curva ROC. La curva ROC evalúa la capacidad de ApoA1 para distinguir entre los grupos de baja y alta densidad mineral ósea calculando el área bajo la curva (AUC) como medida de precisión del biomarcador (IBM SPSS, 2007).

III.IV Extracción de ADN genómico a partir de sangre total por método: salting-out.

Realizando el método descrito por: Riera, Rojas y Zapata (2010), se recogieron muestras de sangre en tubos con anticoagulante EDTA a una concentración de 2 mM (ácido etilendiaminotetraacético) y se transfirieron a un tubo Falcon de 15 mL.

Se adicionaron 9 mL de RBC (solución de lisis de glóbulos rojos) a la sangre, se mezcló por inversión y se dejó incubar de 20 a 30 minutos a temperatura ambiente, mezclando ocasionalmente.

Los tubos se centrifugaron a 3000 rpm durante 15 minutos.

Se decantó el sobrenadante y se añadieron 5 mL de RBC al botón de células blancas. Luego, se mezcló con vortex y se dejó incubar 10 minutos.

Se centrifugó a 3000 rpm durante 15 minutos y se desechó el sobrenadante, secando completamente el tubo con papel absorbente.

Se añadieron 500  $\mu$ L de RBC y se mezcló con vortex.

Se agregaron 3.5 mL de solución de lisis de células blancas y se homogeneizó con vortex hasta que los restos celulares fueran imperceptibles.

Se añadieron 1 mL de solución de precipitación de proteínas y se mezcló con vortex durante 30 segundos.

Las muestras se colocaron en hielo por 15 minutos.

Se centrifugó a 3500 rpm durante 10 minutos, se agitó con vortex sin romper el botón de proteínas y se centrifugó nuevamente a 3500 rpm por otros 10 minutos.

El sobrenadante se transfirió a un nuevo tubo y se desechó el anterior.

Se añadieron 5 mL de isopropanol (para precipitar el ADN) al sobrenadante y se mezcló por inversión hasta que la hebra de ADN fuera visible.

Se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos.

Se desechó el sobrenadante y se añadieron 1 mL de alcohol al 70%, mezclando con vortex.

Se centrifugó nuevamente a 3000 rpm durante 5 minutos.

Se desechó el sobrenadante y se dejó secar el pellet de ADN a temperatura ambiente.

El ADN se hidrató con 400  $\mu$ L de buffer TE (solución tampón de Tris-EDTA) y se dejó reposar toda la noche a 4°C.

Finalmente, se transfirió el ADN a un tubo de 2 mL.

El ADN se cuantificó utilizando un espectrofotómetro Nanodrop.

### III.IV.I qPCR como técnica de genotipificación de SNPs asociados al metabolismo óseo

Se realizó la técnica de qPCR conforme a los protocolos establecidos por Thermo Fisher Scientific, utilizando el sistema QuantStudio 7 Flex para la genotipificación de SNPs asociados al metabolismo óseo (Thermo Fisher Scientific., 2013).

Equipos Utilizados

Termociclador: QuantStudio 7 Flex (Thermo Fisher Scientific)

Espectrofotómetro: Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific)

Sistema de electroforesis: Bio-Rad Sub-Cell GT para verificación de ADN en gel de agarosa

Pipetas de volumen variable y puntas con filtro

Placas de qPCR compatibles con QuantStudio 7 Flex

## Procedimiento

### 1. Preparación de Muestras

#### 1.1 Aislamiento de ADN:

Se extrajo ADN genómico de las muestras siguiendo un protocolo estándar de extracción.

#### 1.2 Cuantificación y Calidad del ADN:

Se midió la concentración y pureza del ADN utilizando un espectrofotómetro a 260/280 nm.

Se verificó la integridad del ADN en un gel de agarosa si era necesario.

### 2. Preparación de la reacción de qPCR

#### 2.1 Preparación del master Mix:

Se preparó el master mix de qPCR en un tubo limpio y estéril que contenía los siguientes componentes:

Buffer de qPCR (incluyendo MgCl<sub>2</sub> y dNTPs).

Taq polimerasa.

Sondas específicas para los SNPs: rs4516035, rs10741657, rs2277458 y rs11623869.

Agua libre de nucleasas para ajustar el volumen final.

#### 2.2 Distribución del master mix:

Se distribuyeron alícuotas de 5 µL de master mix en los pocillos de una placa de qPCR o en tubos individuales.

#### 2.3 Adición de ADN a los Pocillos:

Se añadieron volúmenes de 5 µL de ADN a los pocillos correspondientes, asegurando que la cantidad final fuera la misma en cada reacción.

Se prepararon controles negativos y positivos según fuera necesario.

### 3. Programación del QuantStudio 7 Flex

Se configuró el termociclador para realizar qPCR con los siguientes pasos:

Desnaturalización inicial: 95°C durante 2-3 minutos.

Ciclo de amplificación (40-45 ciclos):

Desnaturalización: 95°C durante 15-30 segundos.

Alineación: 55-60°C durante 15-30 segundos.

Extensión: 72°C durante 30 segundos.

Se programó la detección de fluorescencia en cada ciclo para la discriminación de alelos.

#### 4. Análisis de Datos

Se realizaron los análisis de discriminación alélica en función de la fluorescencia emitida por las sondas durante el proceso de amplificación, permitiendo identificar la presencia de uno u otro alelo.

### IV. Actividades realizadas

Durante el servicio social en el INMEGEN, realicé prácticas en el laboratorio de metabolismo óseo. Aprendí técnicas avanzadas de biología molecular como la extracción y la cuantificación de ADN, discriminación alélica mediante qPCR, Western Blot y cuantificación de proteínas. También ayudé en la gestión de recursos del laboratorio, incluyendo inventarios de reactivos y muestras de ADN preparando diluciones para realizar la técnica de PCR y determinar la presencia de SNPs involucrados en mujeres postmenopáusicas en 3 cohortes determinadas. Asimismo, colaboré en la calibración de micropipetas para asegurar la precisión de los métodos utilizados con estos instrumentos. Como complemento a las actividades técnicas realizadas, asistí a seminarios de investigación impartidos por los investigadores del instituto y adquirí habilidades en programación en R para análisis de datos.

### V. Metas alcanzadas

Durante mi servicio social en el INMEGEN, tuve la oportunidad de realizar prácticas en el laboratorio de metabolismo óseo, lo cual fue una experiencia enriquecedora que contribuyó tanto a mi formación profesional como al avance de la investigación en la Institución.

El INMEGEN me proporcionó capacitación en tecnologías de vanguardia. Aprendí a realizar cálculos de diluciones y a manejar técnicas de biología molecular, como la PCR en tiempo real para la discriminación alélica, crucial para identificar genes relacionados con el metabolismo óseo.

Además, participé en el proceso de extracción de ADN hasta su cuantificación mediante espectrofotometría y determinación de integridad por medio de electroforesis en gel de agarosa. También adquirí habilidades en técnicas de cuantificación de proteínas, como Western Blot, ELISA sandwich y método de Bradford.

Una experiencia destacada fue el curso en el lenguaje de programación R para análisis de datos en Posit Cloud. Aprendí a utilizar código open source para bioinformática, creando gráficos llamativos y analizando datos de manera eficiente sin depender de software costoso.

Mi participación en el INMEGEN no solo me permitió apoyar sus investigaciones, sino también adquirir competencias de alto nivel en técnicas de laboratorio y análisis de datos, alineándome con los objetivos de la institución de formar recursos humanos altamente capacitados.

### VI. Resultados

#### VI.I Evaluación de APO A1 en suero de mujeres postmenopáusicas mexicanas y DMO

Se llevó a cabo el ensayo de inmunoenzimático de adsorción (ELISA) para cuantificar los niveles de Apo A1 en suero de mujeres postmenopáusicas mexicanas, en una muestra de 157 individuos. En la Figura 1, se observan los valores de concentración de APO A1 expresados en  $\mu\text{g/mL}$  en suero sanguíneo de las medias en los individuos con alta (DMO alta) y baja densidad mineral ósea (DMO baja).

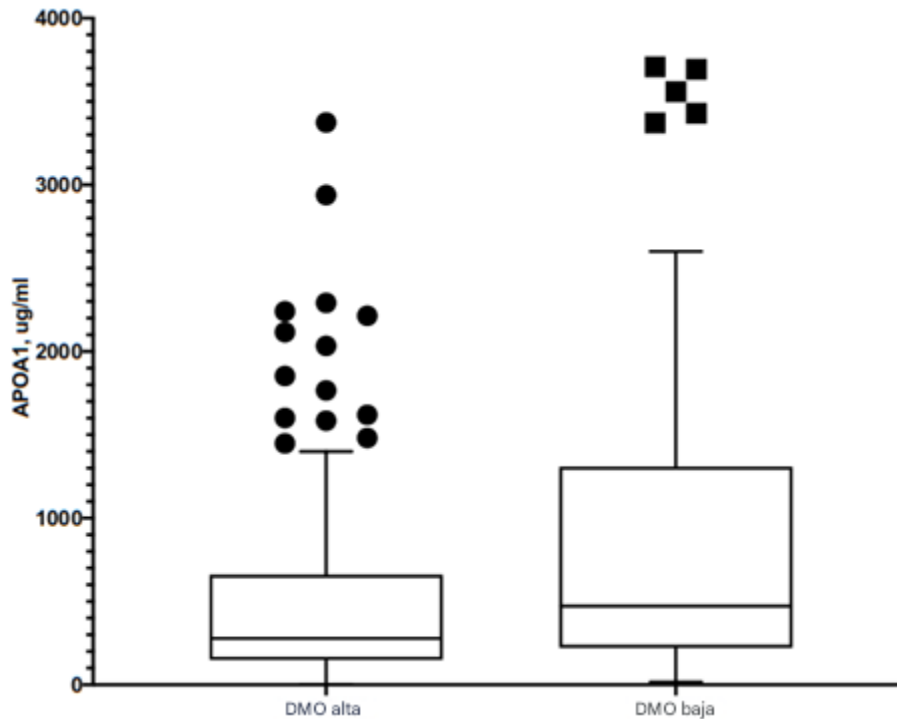


Figura. 1. Niveles de APO A1 en individuos de alta y baja densidad mineral ósea.

Las desviaciones estándar dentro de los parámetros esperados para alta densidad mineral ósea se encuentran dentro de los rangos de 158 - 738  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}$  y 272 - 2104  $\mu\text{g}/\text{mL}$  para baja densidad mineral ósea, lo que no establece una diferencia significativa entre ambas poblaciones de estudio con un valor de  $P= 0.0007$ .

Además, en ambos grupos se observan algunos conjuntos de valores atípicos representados con puntos y pixeles que se encuentran significativamente lejos del rango intertertil, estos pueden ser indicadores de errores potenciales en la recopilación o en la entrada de datos o incluso reflejar una variabilidad genuina que deben ser tratados como otra variable que puede no estar siendo considerada, esto puede orientar a un interés particular hacia un análisis más profundo.

## V.II Análisis de asociación entre DMO y niveles de Apo A1

En la: *Tabla 1 Características sociodemográficas de mujeres posmenopáusicas mexicanas*, se muestran las variables que presentaron una diferencia significativa entre las poblaciones con alta y baja DMO. Las diferencias notables en la edad, el índice de masa corporal (IMC) y el porcentaje de obesidad indican factores importantes que podrían influir en la salud ósea de estas poblaciones:

*Tabla 1: Características sociodemográficas de mujeres posmenopáusicas mexicanas*

	Alta densidad mineral ósea	Baja densidad mineral ósea	Valor de P
<i>Edad (años)</i>	66(59-73)	49(37-58)	<0.001
<i>IMC</i>	29.1(25.8-33.0)	25(22.7-27.8)	<0.001
<i>%Obesidad</i>	43.2	13.2	<0.001

**Edad:** La población con alta DMO es significativamente mayor, con una media de edad de 66 años en comparación con los 49 años en la población con baja DMO. Este hallazgo sugiere que la edad avanzada podría estar asociada con una mayor densidad mineral ósea.

**IMC:** los individuos con alta DMO tiene un IMC mayor, lo que sugiere una correlación directa entre estos factores. Esto puede estar relacionado con el impacto que tiene un mayor peso en la carga sobre los huesos y su consecuente adaptación para soportar la carga.

**Obesidad:** la prevalencia de obesidad es significativamente más alta en población con alta DMO (43.2% vs 13.2%). Esto refuerza la posible relación entre un mayor IMC, obesidad y mejor densidad mineral ósea, aunque la obesidad también presenta riesgos para otras condiciones de salud.

Los resultados de la: *Tabla 2: Parámetros clínicos de mujeres posmenopáusicas mexicanas*, muestran las características bioquímicas y nutricionales de las poblaciones con alta y baja densidad mineral ósea. En ésta, se destacan los principales hallazgos clínicos y sus posibles implicaciones en la salud ósea.

En el análisis clínico de ambas poblaciones, se destaca que los niveles de APO A1, son significativamente más altos en la población baja DMO, sugiriendo una posible relación entre el metabolismo de las lipoproteínas y la pérdida ósea, lo cual podría ser relevante en la osteoporosis y osteopenia. La ingesta de calcio y vitamina D fue similar en ambas poblaciones, aunque ambas muestran déficit en vitamina D que podría afectar negativamente la salud ósea. No se encontraron diferencias significativas en los niveles de HDL, LDL, colesterol total, triglicéridos o glucosa, pero se observó una mayor prevalencia de hiperuricemia y niveles más altos de ácido úrico y la densidad ósea.

Tabla 2: *Parámetros clínicos de mujeres posmenopáusicas mexicanas*

	Alta densidad mineral ósea	Baja densidad mineral ósea	Análisis
<i>APO A1 mg/dL</i>	66(59-73)	680(272-2104)	Concentración drásticamente alta en baja DMO
<i>Ingesta de calcio mg/día</i>	833(566-1239)	804(566-1178)	Similar entre ambas poblaciones
<i>Ingesta de vitamina D µg</i>	2.8(1.6-4.3)	2.6(1.7-3.9)	Por debajo de las recomendaciones internacionales
<i>Ingesta energética kcal/día</i>	1823(1309-242)	1725(1283-2216)	Ligeramente superior en alta DMO
<i>25 OH D ng/mL</i>	24.7(19.6-30.4)	24.7(19.8-29.4)	Sin diferencia significativa entre ambas poblaciones
<i>Deficiencia de vitamina D %</i>	26.9	26.3	Sin diferencia entre ambas poblaciones
<i>HDL mg/dL</i>	51(41-60)	54(47-67)	Sin diferencia entre ambas poblaciones
<i>LDL mg/dL</i>	111(89-135)	114(91-138)	Sin diferencia entre ambas poblaciones
<i>Colesterol total mg/dL</i>	192(166-220)	201(174-230)	Sin diferencia entre ambas poblaciones
<i>Triglicéridos mg/dL</i>	137(104-185)	135(94-181)	Sin diferencia entre ambas poblaciones
<i>Glucosa mg/dL</i>	99(90-111)	97(90-106)	Sin diferencia entre ambas poblaciones
<i>Ácido úrico mg/dL</i>	31	22.6	Niveles altos en alta DMO
<i>Hyperuricemia %</i>	26(20-36)	22(17-29)	Mayor prevalencia en alta DMO

### V.III Aplicación de técnicas en biología molecular como herramientas en investigación del metabolismo óseo

Se realizó la extracción de ADN genómico y qPCR para investigar el metabolismo óseo, analizando las sondas rs4516035 (Yaghoobi MM, 2024) y rs10741657 (Pérez-Jeldres T, 2023), las cuales, según investigaciones previas, están significativamente asociadas con la osteoporosis en la población.

La variante rs4516035 está relacionada con el receptor de vitamina D (VDR) y puede influir en la regulación de esta vitamina, así como en la homeostasis del calcio y la salud ósea, contribuyendo al desarrollo de osteoporosis en individuos con polimorfismos de un solo nucleótido. Por su parte, la variante rs10741657 (Rahman KL, 2021) modifica la enzima 25-hidroxilasa, responsable de convertir la vitamina D en su forma activa (25(OH)D) en el hígado. Esto resalta la importancia de la genética en la regulación de los niveles de vitamina D y su posible impacto en la salud ósea y la osteoporosis, abriendo oportunidades para enfoques personalizados en su prevención y tratamiento.

Se encontró que la variante rs2277458 no mostró una asociación directa con la densidad mineral ósea (DMO). Sin embargo, se observó una interacción significativa entre rs2277458 y rs11623869 en la baja DMO total de cadera ( $p = 0.002$ ) y cuello femoral ( $p = 0.013$ ). Además, el alelo A de rs2277458 se asoció con niveles séricos más elevados de 25-hidroxivitamina D ( $p = 0.008$ ), lo que sugiere un posible papel en la regulación de esta vitamina en la población mexicana mestiza (Aparicio-Bautista et al., 2024).

Estos hallazgos respaldan la hipótesis de que la interacción entre variantes genéticas puede influir en la DMO y la homeostasis de la vitamina D, con posibles implicaciones en la predisposición a la osteoporosis y otros trastornos óseos en esta población.

## VII. Discusión

La relación entre la densidad mineral ósea (DMO) y los biomarcadores metabólicos es un tema clave en la investigación de la osteoporosis. En este estudio, se evaluó el papel de la apolipoproteína A1 (ApoA1) como posible marcador de la DMO, junto con la influencia de factores físicos y metabólicos. A continuación, se analizan los hallazgos principales en comparación con la literatura científica disponible.

### ApoA1 y su asociación con la DMO

Los resultados mostraron diferencias en las concentraciones de ApoA1 entre los grupos de alta y baja DMO; sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas, lo que sugiere que ApoA1 no es un biomarcador determinante de la DMO cuando se analiza de manera aislada. Estudios previos han señalado que otros factores metabólicos, como la osteocalcina y la leptina, presentan una relación más consistente con la DMO (Nava-González et al., 2015). La ausencia de una asociación sólida en este estudio podría deberse a la interacción compleja entre el metabolismo óseo y el perfil lipídico, lo que sugiere la necesidad de considerar múltiples biomarcadores en futuras investigaciones.

### IMC y su impacto en la DMO

Se observó una correlación positiva entre el índice de masa corporal (IMC) y la DMO, lo que sugiere que un mayor peso corporal podría estar asociado con una mejor salud ósea. No obstante, la composición del peso es un factor determinante en esta relación. Según Nava-González et al. (2015), la masa magra ejerce un efecto protector sobre el hueso, mientras que la grasa corporal puede tener efectos negativos al promover inflamación y alterar el metabolismo del calcio. Por lo tanto, aunque un mayor IMC podría relacionarse con una mayor DMO, es fundamental diferenciar entre el impacto de la masa magra y la grasa corporal para obtener conclusiones más precisas.

## Relación entre ApoA1 y otros biomarcadores metabólicos

El análisis de la posible correlación entre ApoA1 y otros biomarcadores metabólicos no identificó asociaciones significativas. En contraste, investigaciones previas han encontrado que la osteocalcina y la leptina presentan una mayor influencia en la DMO. Esta falta de relación en el presente estudio podría estar influenciada por la variabilidad individual en el metabolismo óseo y la necesidad de evaluar estos factores en conjunto con otros marcadores genéticos y hormonales.

### Consideraciones adicionales

ApoA1 podría influir indirectamente en la salud ósea a través de su papel en el transporte de lípidos y su impacto en la remodelación ósea. Sin embargo, se identificaron valores atípicos en los datos, lo que podría haber afectado la interpretación de los resultados. Estas variaciones individuales o posibles errores de medición resaltan la importancia de un análisis más profundo para determinar si existen subgrupos donde ApoA1 tenga un papel más relevante en la salud ósea.

Además, los hallazgos de este estudio respaldan la influencia de polimorfismos genéticos en la regulación de la vitamina D y la homeostasis del calcio. La variante rs4516035 en el gen VDR se ha asociado con la osteoporosis en estudios previos (Yaghoobi MM, 2024), mientras que rs10741657 en el gen CYP2R1, involucrado en la conversión de la vitamina D a su forma activa, ha mostrado una relación con variaciones en la DMO y el riesgo de osteoporosis (Rahman KL, 2021). Asimismo, aunque rs2277458 no presentó una asociación directa con la DMO, su interacción con rs11623869 sí afectó la densidad ósea de la cadera y el cuello femoral, además de estar relacionada con niveles más altos de 25-hidroxivitamina D, lo que sugiere un papel en su regulación.

Estos hallazgos refuerzan la hipótesis de que la predisposición a la osteoporosis podría estar determinada por la interacción de múltiples variantes genéticas y factores metabólicos, lo que subraya la importancia de estrategias personalizadas en su prevención y tratamiento.

## VIII. Conclusiones

Este estudio evaluó la relación entre la apolipoproteína A1 (ApoA1) y la densidad mineral ósea (DMO) en mujeres postmenopáusicas mexicanas, con el objetivo de determinar su potencial como biomarcador de salud ósea. Los resultados muestran que, si bien se observaron diferencias en los niveles de ApoA1 entre los grupos de alta y baja DMO, estas no fueron estadísticamente significativas, lo que sugiere que ApoA1, por sí sola, no es un predictor determinante de la densidad ósea en esta población. Sin embargo, la identificación de valores atípicos en los datos indica la necesidad de análisis más profundos para evaluar posibles subgrupos donde su papel pueda ser más relevante.

Por otro lado, el análisis de factores clínicos y metabólicos reveló que un mayor índice de masa corporal (IMC) y la obesidad están fuertemente asociados con una mayor DMO, lo que coincide con la hipótesis de que el peso corporal puede influir en la salud ósea, posiblemente a través de mecanismos biomecánicos y hormonales. No obstante, es necesario diferenciar entre el impacto de la masa magra y la masa grasa en la densidad ósea para obtener conclusiones más precisas.

En cuanto a la genética, el estudio confirmó la asociación de ciertas variantes genéticas, como rs4516035 en el gen VDR y rs10741657 en CYP2R1, con la regulación de la vitamina D y la homeostasis del calcio, lo que respalda su papel en la predisposición a la osteoporosis. Además, la interacción entre rs2277458 y rs11623869 sugiere que la combinación de polimorfismos podría tener un impacto en la densidad ósea y la regulación de la vitamina D, lo que refuerza la necesidad de estudios que consideren la influencia combinada de múltiples variantes genéticas.

En conclusión, aunque los resultados no establecen a ApoA1 como un biomarcador definitivo para la DMO, sí aportan evidencia sobre la complejidad de los factores metabólicos y genéticos que influyen en la salud ósea. Futuros estudios deberían incluir un análisis longitudinal, un mayor tamaño de muestra y modelos que integren múltiples biomarcadores para mejorar la precisión en la identificación de factores de riesgo para la osteoporosis en mujeres postmenopáusicas.

## IX. Recomendaciones y aporte a la sociedad

El presente estudio, centrado en la evaluación de la apolipoproteína A1 (ApoA1) como posible biomarcador de baja densidad mineral ósea (DMO) en mujeres postmenopáusicas mexicanas, proporciona valiosas aportaciones al conocimiento biomédico y tiene implicaciones significativas en términos de salud pública, especialmente en lo concerniente a la prevención y tratamiento de la osteoporosis.

### IX.I. Recomendaciones

Enfoque integral en la evaluación de biomarcadores: Dado que los niveles de ApoA1 no mostraron una asociación estadísticamente significativa con la DMO de forma aislada, se recomienda que futuras investigaciones aborden este biomarcador como parte de un panel más amplio que incluya factores genéticos, hormonales y nutricionales (Nava-González et al., 2015). Esto permitirá identificar perfiles de riesgo más precisos en la población femenina posmenopáusica.

Promoción de la genotipificación como herramienta preventiva: La identificación de variantes genéticas asociadas a la regulación de la vitamina D (como rs4516035 y rs10741657) representa una oportunidad clave para desarrollar estrategias personalizadas en el diagnóstico y la prevención de la osteoporosis (Aparicio-Bautista et al., 2024; Rahman KL et al., 2021). Se recomienda impulsar programas de salud preventiva que incluyan análisis genéticos de rutina para mujeres en edad climatérica.

Fortalecer campañas de educación nutricional: La deficiencia generalizada de vitamina D y la ingesta subóptima de calcio observadas en la muestra subrayan la necesidad de implementar políticas de salud pública orientadas a mejorar la educación alimentaria y fomentar el consumo adecuado de estos nutrientes esenciales para la salud ósea (Aguilera et al., 2015).

Uso del IMC como factor predictivo complementario: Si bien la obesidad puede implicar riesgos adicionales para la salud, los hallazgos del estudio sugieren que un mayor IMC podría tener

un efecto protector sobre la densidad ósea, posiblemente a través de mecanismos biomecánicos (Orueta & Gómez-Caro, 2010). Es crucial considerar este parámetro dentro de un enfoque balanceado que promueva masa corporal saludable, sin descuidar la composición corporal.

### IX.II. Aporte a la sociedad

Este proyecto contribuye directamente a los objetivos estratégicos del INMEGEN, los cuales incluyen la generación de conocimiento para mejorar la salud de los mexicanos y la promoción de una medicina personalizada y preventiva.

Al investigar la relación entre ApoA1 y la DMO, así como el papel de variantes genéticas clave, se fortalece la capacidad institucional para desarrollar herramientas diagnósticas innovadoras y accesibles, orientadas a la detección temprana de condiciones de alto impacto como la osteoporosis.

Además, la formación del prestador de servicio social en técnicas avanzadas de biología molecular, análisis de datos en R y metodologías de laboratorio clínico refuerza otro de los pilares del INMEGEN: la capacitación de recursos humanos altamente calificados, preparados para integrarse en líneas de investigación interdisciplinarias que respondan a las necesidades reales de la población mexicana.

Por lo tanto, este trabajo no solo tiene un valor académico, sino también un impacto social tangible al encaminar esfuerzos científicos hacia la mejora de la calidad de vida y la reducción de costos en el sistema de salud a través de la prevención efectiva, tal como lo plantea la visión institucional del INMEGEN para 2024.

## X. Referencias bibliográficas.

Aguilera, J., Ríos, P. G., & Zepeda, A. S. (2015). Calcio y vitamina D en la paciente climatérica. *Perinatología y Reproducción Humana*, 29(2), 83-87. [doi.org/10.1016/j.rprh.2015.01.002](https://doi.org/10.1016/j.rprh.2015.01.002)

Aparicio-Bautista DI, Jiménez-Ortega RF, Becerra-Cervera A, Aquino-Gálvez A, de León-Suárez VP, Casas-Ávila L, Salmerón J, Hidalgo-Bravo A, Rivera-Paredes B, Velázquez-Cruz R. Interaction between MARK3 (rs11623869), PLCB4 (rs6086746) and GEMIN2 (rs2277458) variants with bone mineral density and serum 25-hydroxivitamin D levels in Mexican Mestizo women. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2024 Apr 23;15:1392063. doi: 10.3389/fendo.2024.1392063. PMID: 38715801; PMCID: PMC11074919.

Aparicio-Bautista, D. I., Jiménez-Ortega, R. F., Becerra-Cervera, A., Aquino-Gálvez, A., de León-Suárez, V. P., Casas-Ávila, L., Salmerón, J., Hidalgo-Bravo, A., Rivera-Paredes, B., & Velázquez-Cruz, R. (2024). Interaction between MARK3 (rs11623869), PLCB4 (rs6086746) and GEMIN2 (rs2277458) variants with bone mineral density and serum 25-hydroxivitamin D levels in Mexican Mestizo women. *Frontiers in Endocrinology*, 15, 1392063. [doi.org/10.3389/fendo.2024.1392063](https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1392063)

Casillas-Muñoz F, Valle Y, Muñoz-Valle JF, Martínez-Fernández DE, Reynoso-Villalpando GL, Flores-Salinas HE, Llamas-Covarrubias MA, Padilla-Gutiérrez JR. APOA1 and APOB polymorphisms and apolipoprotein concentrations as biomarkers of risk in acute coronary syndrome: Relationship with lipid-lowering therapy effectiveness. *Med Clin (Barc)*. 2018 Jul 13;151(1):1-7. English, Spanish. doi: 10.1016/j.medcli.2017.07.026. Epub 2017 Oct 7. PMID: 28992985.

Castillo Arocha, Ivette, Armas Rojas, Nurys B., Dueñas Herrera, Alfredo, González Greck, Omar R., Arocha Mariño, Carmen, & Castillo Guzmán, Antonio. (2010). Riesgo cardiovascular según tablas de la OMS, el estudio Framingham y la razón apolipoproteína B/apolipoproteína A1. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 29(4), 479-488. Recuperado en 10 de julio de 2024, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03002010000400008&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002010000400008&lng=es&tlng=es).

Chaput, C. D., Dangott, L. J., Rahm, M. D., Hitt, K. D., Stewart, D. S., & Wayne Sampson, H. (2012). A proteomic study of protein variation between osteopenic and age-matched control bone tissue. *Experimental Biology and Medicine*, 237(5), 491-498. [doi.org/10.1258/ebm.2012.011374](https://doi.org/10.1258/ebm.2012.011374)

Corbalán, M., Cuervo, M., Baladia, E., Martínez, J. A., & FESNAD (2010). Ingestas dietéticas de referencia: Conceptos y evolución histórica. Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética (FESNAD). Instituto de Ciencias de la Alimentación de la Universidad de Navarra (ICAUN). Grupo de Revisión, Estudio y Posicionamiento de la Asociación Española de Dietistas-Nutricionistas (GREP-AEDN)

Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996 Oct;6(10):986-94. doi: 10.1101/gr.6.10.986. PMID: 8908518.

Instituto nacional de medicina genómica. (2020). Reseña histórica. [Archivo PDF] <https://www.transparenciapresupuestaria.gob.mx/work/models/CP/2020/tomo/VII/Print.NCH.01.INTRO.pdf>

Instituto Nacional de Medicina Genómica. (2023). Misión, visión y objetivos. Recuperado el 20 de septiembre de 2023, de <https://www.inmegen.gob.mx/el-instituto/mision-vision-y-valores/>

Martínez-Aguilar MM, Aparicio-Bautista DI, Ramírez-Salazar EG, Reyes-Grajeda JP, De la Cruz-Montoya AH, Antuna-Puente B, Hidalgo-Bravo A, Rivera-Paredes B, Ramírez-Palacios P, Quiterio M, Valdés-Flores M, Salmerón J, Velázquez-Cruz R. Serum Proteomic Analysis Reveals Vitamin D-Binding Protein (VDBP) as a Potential Biomarker for Low Bone Mineral Density in Mexican Postmenopausal Women. *Nutrients*. 2019 Nov 21;11(12):2853. doi: 10.3390/nu11122853. PMID: 31766436; PMCID: PMC6950314.

Orueta, R., & Gómez-Caro, S. (2010). Interpretación de la densitometría ósea. *Semergen*, 36(1), 27-30. doi.org/10.1016/j.semereg.2009.05.001.

Pepe, M. S., & Janes, H. (2007). The use of receiver operating characteristic curves in biomarker research. *Statistics in medicine*, 26(2), 308-317.

Pérez-Jeldres T, Bustamante ML, Segovia-Melero R, Aguilar N, Magne F, Ascuí G, Uribe D, Azócar L, Hernández-Rocha C, Estela R, Silva V, De La Vega A, Arriagada E, Gonzalez M, Onetto GF, Escobar S, Baez P, Zazueta A, Pavez-Ovalle C, Miquel JF, Álvarez-Lobos M. Genotype Prevalence of Lactose Deficiency, Vitamin D Deficiency, and the Vitamin D Receptor in a Chilean Inflammatory Bowel Disease Cohort: Insights from an Observational Study. *Int J Mol Sci*. 2023 Oct 3;24(19):14866. doi: 10.3390/ijms241914866. PMID: 37834314; PMCID: PMC10573577.

Pérez-López, F. R., Cano, A., Calaf, J., Vázquez, F., & Ferrer Barriendos, J. (2009). Factores reguladores del recambio óseo: estrógenos y vitamina D. *Prog Obstet Ginecol*, 52(2), 99-108.

Rahman KL, Akhter QS, Rahman MS, Rahman R, Rahman Sami S, Mukta FY, Sarker S. Genetic variations of CYP2R1 (rs10741657) in Bangladeshi adults with low serum 25(OH)D level-A pilot study. *PLoS One*. 2021 Nov 19;16(11):e0260298. doi: 10.1371/journal.pone.0260298. PMID: 34797893; PMCID: PMC8604301.

*Res Health Sci*. 2024 Mar 18;24(1):e00603. doi: 10.34172/jrhs.2024.138. PMCID: PMC10999102.

Thermo Fisher Scientific. (2013). *QuantStudio™ 6 and 7 Flex Real-Time PCR System Software: Getting Started Guide* (Publicación n.º 4489822, Rev. A).

ThermoFisher. (2023.). ApoA1 ELISA kits. ApoA1 Elisa kits. <https://www.thermofisher.com/immunoassays/elisa/target/ApoA1>

Universidad autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco División de Ciencias Biológicas y de la Salud. (2023). Plan de estudios QFB, [Archivo PDF]. [https://www.uam.mx/licenciaturas/pdfs/76\\_5\\_Lic\\_en\\_Quimica\\_Farmacutica\\_Biologica\\_XOC.pdf](https://www.uam.mx/licenciaturas/pdfs/76_5_Lic_en_Quimica_Farmacutica_Biologica_XOC.pdf)

Yaghoobi MM, Samare Gholami A. Association of rs4516035 Polymorphism with Osteoporosis in the Southeastern Iranian Population: A Case-Control Study. *J Res Health Sci*. 2024 Mar 18;24(1):e00603. doi: 10.34172/jrhs.2024.138. Epub 2024 Mar 18. PMID: 39072539; PMCID: PMC10999102.