



V. METABOLISMO ÓSEO Y POLIMORFISMO DEL GEN DEL RECEPTOR DE LA VITAMINA D

Bases fisiopatológicas y datos de la población general

C. Gómez Alonso, M. L. Naves, J. L. Fernández Martín, C. Díaz Corte y J. B. Cannata

Servicio de Metabolismo Óseo y Mineral. Instituto Reina Sofía de Investigación. Hospital Central de Asturias. Oviedo. España.

La vitamina D es una hormona sistémica que actúa en diversos órganos diana, entre los que destacan intestino, riñón, paratiroides, hueso y sistema inmunitario. Los efectos de la vitamina D van a depender del tipo de metabolito, de los niveles circulantes, de la densidad de receptores (regulados al alza por la propia vitamina D; a mayor nivel de vitamina D, mayor número de receptores) y posiblemente de aspectos cualitativos de los propios receptores.

El receptor de la vitamina D (VDR) está codificado por un gen cuyas variaciones fisiológicas o polimorfismos se han vinculado con diferencias en múltiples procesos en órganos o sistemas diana de la vitamina D. Se han descrito diferencias en los valores de masa ósea^{1,2}, en el desarrollo de osteoporosis secundaria³⁻⁵, en la respuesta terapéutica de la osteoporosis^{6,7} y diferencias en la incidencia o evolución tanto de enfermedades vinculadas a trastornos inmunitarios⁸⁻¹² como en diversos tipos de carcinomas¹³⁻¹⁵ (tabla I).

TIPIFICACIÓN DE LOS DISTINTOS POLIMORFISMOS DEL GEN DEL VDR

El gen VDR se localiza en el cromosoma 12 y está formado por 5,6 Kb, la mayoría de las cuales forman parte de la secuencia no codificadora¹⁶. En la región no codificadora es donde se localizan gran parte de las modificaciones y/o deleciones de la secuencia de bases que, si bien no modifican la codificación de los aminoácidos del receptor de la vitamina D, se sabe que pueden modificar la

Tabla I. Entidades o procesos en las que se han descrito la influencia de los polimorfismos del gen del receptor de la vitamina D

Vinculadas al metabolismo óseo y mineral	Vinculadas al sistema inmunitario
Masa ósea	Sarcoidosis
Marcadores de remodelado óseo	Enf. de Chrön
Función paratiroidea	Diabetes
Osteoporosis secundarias	Tuberculosis
Trasplante	Enf. Periodontal
Hipertiroidismo	Esclerosis múltiple
Respuesta terapéutica de la osteoporosis	Carcinoma de próstata
Calcio	Carcinoma de mama
Vitamina D	Carcinoma de colon
Difosfonatos	Melanoma
Nefrolitiasis	

transcripción de la región codificadora o la propia estabilidad del RNAm¹.

Las modificaciones en la secuencia de bases en la región codificadora son más escasas y con frecuencia se sitúan en fragmentos intrónicos (mudos). Sin embargo, los cambios de bases en los exones no siempre alteran la codificación de aminoácidos, ya que se puede producir un codón sinónimo que codifica un mismo aminoácido. Se ha descrito únicamente un cambio de bases, en el segundo exón, que modifica el codón de inicio (ATG) y cuya presencia condiciona 3 aminoácidos adicionales en el receptor de la vitamina D. Los cambios de bases originan secuencias susceptibles de ser reconocidas por enzimas de restricción que fragmentan el DNA a dicho nivel cuando se produce dicho cambio. De los cuatro puntos donde se han descrito modificaciones de bases, susceptibles de ser reconocidas por los enzimas de restricción (Bsm I, Apa I, Taq I y Fok I), únicamente uno de ellos condiciona cambios estructurales en la secuencia de aminoácidos del receptor (Fok I). Sin embargo, esos cambios de bases se en-

Correspondencia: Dr. Carlos Gómez Alonso
Servicio de Metabolismo Óseo y Mineral
Instituto Reina Sofía de Investigación
Hospital Central de Asturias
Julián Clavería, s/n.
33006 Oviedo. España

cuentran vinculados a modificaciones que se sitúan en otras regiones del gen —fenómeno conocido como desequilibrio de ligamiento— y se pueden utilizar como marcadores indirectos de los mismos.

Cuando se encuentra la modificación en la secuencia de bases y se fragmenta el DNA se tipifica el alelo con la inicial minúscula del enzima de restricción utilizado; en caso contrario, no se produce la fragmentación, y se tipifica el alelo con la inicial mayúscula del enzima de restricción. Por lo tanto, y teniendo en cuenta la duplicidad cromosómica, pueden existir dos formas alélicas y tres genotipos distintos para cada enzima de restricción utilizado. En el caso de Bsm I los alelos serían «b» y «B» y los genotipos posibles «BB», «Bb» y «bb». Combinando los diferentes enzimas de restricción se pueden encontrar múltiples combinaciones o polimorfismos¹.

En la práctica, la tipificación se realiza amplificando un fragmento de DNA que incluya el sitio susceptible de ser atacado por un determinado enzima de restricción, mediante la utilización de fragmentos de DNA complementarios o «primers» aplicando ciclos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Una vez amplificado el DNA se incuba con el enzima de restricción y se realiza la electroforesis en gel, separando los distintos fragmentos de DNA en función de su tamaño³. Por ejemplo, utilizando el enzima Bsm I, aparecerá una sola banda de 188 bp en los sujetos cuyos dos alelos no presenten modificación en la secuencia de bases y no sean susceptibles de ser atacados por dicho enzima (genotipo BB). En el caso de que uno de los alelos presente el cambio de bases se observarán dos bandas de 77 a 111 bp —correspondientes a dicho alelo— y otra banda de 188 bp del alelo no atacado (genotipo Bb), finalmente, si ambos alelos presentan el cambio de bases y los dos se fragmentan se observarán únicamente las dos bandas de 77 y 111 bp (genotipo bb).

MECANISMO DE ACCIÓN DE LA VITAMINA D

La vitamina D, como todas las hormonas esteroideas, actúa mediante la estimulación de receptores específicos, postulándose dos mecanismos diferentes:

a) Acción rápida, no genómica, mediante el estímulo de receptores de membrana citosólicos o nucleares que inducirían cambios en el calcio, fósforo o pH, los cuales actuarían como segundos mensajeros. Estos receptores de membrana son distintos del receptor nuclear del VDR, ya que se ha demostrado que pueden ser activados por metabolitos incapaces de unirse al VDR. Estos receptores están presentes en el osteoblasto y sobre todo en el

enterocito, donde serían responsables de la respuesta rápida en la absorción de calcio y fósforo¹⁷.

b) Acción genómica, modificando la transcripción de genes diana para la vitamina D. En este caso la vitamina D se liga al VDR dentro del núcleo y, junto con el receptor del ácido retinoico (RXR) forma un complejo heterodímero que se une al elemento de respuesta a la vitamina D (VDRE) situado en el promotor del gen diana. La interacción del complejo heterodímero con el VDRE y diversos cofactores ejerce un efecto modulador sobre el complejo transcripcional, estimulando o reprimiendo al mismo¹⁶ (fig. 1).

EFFECTOS DEL GEN VDR EN METABOLISMO ÓSEO

La influencia de la carga genética sobre el metabolismo óseo se reconoce desde hace tiempo y se ha estimado, mediante estudios en familias y en gemelos, que puede condicionar hasta un 80% de la masa ósea^{18,19}, siendo ésta última la resultante final de todos los mecanismos implicados en el metabolismo óseo. Habida cuenta de la implicación de numerosos sistemas hormonales —tanto sistémicos como locales— en la regulación del metabolismo óseo, las posibilidades de un condicionamiento genético poligénico son muy elevadas. Así, se ha descrito la influencia en la masa ósea de los distintos polimorfismos de los genes que codifican el VDR², el receptor estrogénico²⁰, la síntesis de TGF- β 1²¹ o la síntesis del colágeno tipo I α -1²².

De todos ellos, el más estudiado ha sido el gen VDR. Morrison y cols.², tipificaron el gen VDR, mediante el enzima de restricción Bsm I, en una am-

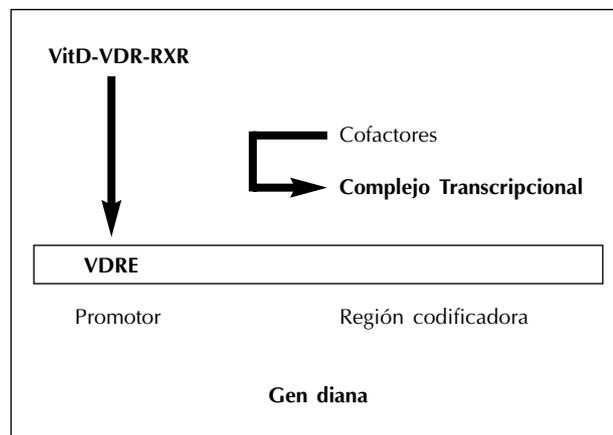


Fig. 1.—Mecanismo de acción genómica de la vitamina D. VDR = receptor de la vitamina D, RXR = receptor del ácido retinoico, VDRE = elemento de respuesta de la vitamina D.

plia población de gemelos y encontraron diferencias de una desviación estándar en los valores de masa ósea lumbar entre los tres genotipos posibles. Estas diferencias entre los tres genotipos definirían un genotipo asociado a valores superiores de masa ósea (bb), un genotipo asociado con valores inferiores de masa ósea y una mayor velocidad de pérdida de masa ósea (BB) y, en una situación intermedia se situarían los heterocigotos (Bb). En la población general, entre el genotipo más favorable y el más desfavorable, se observaron diferencias de 10 años en el punto de corte de la recta de regresión de la masa ósea respecto a la edad con el umbral de fractura². Estudios posteriores, utilizando el mismo enzima de restricción, han obtenido resultados concordantes, aunque de magnitud más modesta²³, resultados discordantes^{24,25}, e incluso resultados divergentes, en función de la edad de los sujetos participantes —positivos en premenopausia y negativos en pacientes de edad avanzada²⁶.

Con otros enzimas de restricción también se han observado resultados divergentes, incluso en una misma población en función del sector anatómico estudiado. Utilizando el enzima de restricción Fok I en una población de mujeres americanas de origen mejicano se han encontrado valores de masa ósea significativamente inferiores en columna lumbar en aquellas con genotipo ff. De forma evolutiva sólo se observaron diferencias a nivel del cuello de fémur, con una pérdida de masa ósea superior también asociada al genotipo ff²⁷.

En un estudio donde no se observaron diferencias de masa ósea asociadas a los distintos polimorfismos del gen VDR, sí se ha podido demostrar su influencia en otros aspectos fundamentales relacionados con el metabolismo óseo. La capacidad de adaptación de la absorción intestinal de calcio tras una dieta pobre en calcio fue superior en las pacientes con el genotipo bb, que multiplicaron por 2-3 la capacidad de absorción de Ca⁴⁵ que aquellas con genotipo BB, siendo los niveles de calcitriol similares o discretamente inferiores en las pacientes con genotipo bb²⁸.

La influencia de los polimorfismos del gen VDR se ha vinculado al desarrollo de osteoporosis secundarias, tanto en el postrasplante renal³ como en mujeres sometidas a corticoterapia crónica⁴ y en mujeres hipertiroideas⁵ siendo el genotipo BB el más desfavorable en todos los casos. Del mismo modo se han descrito diferencias en la respuesta terapéutica de la osteoporosis. Así, Ferrari y cols., en una población de 72 pacientes sin déficit de vitamina D y tratados con 800 mg de calcio diario observó una pérdida de masa ósea del 2% en 18 meses en aquellos con genotipo BB, mientras que los que tenían

Bb o bb ganaban alrededor del 1%⁶. En mujeres osteoporóticas tratadas con 1 α calcidiol, se observó que en las combinaciones genotípicas de los enzimas Bsm I, Apa I y Taq I existía una dosificación alélica en la ganancia de masa ósea observada, siendo máxima en el genotipo bbaaTT (+2% anual) y mínima en el BbAATt (-1,3% anual) con una gradación en los otros dos genotipos representados¹⁹.

ESTUDIOS EN POBLACIÓN ESPAÑOLA

Los resultados observados en la población general española son similares a los referidos en la literatura internacional, tanto en lo referente a la frecuencia alélica de la población como en la disparidad de resultados observados. Nuestros propios resultados, obtenidos de una muestra aleatoria de 326 personas (50% de cada sexo), mayores de 54 años de edad, a los que se les determinó la masa ósea mediante densitometría DXA en columna lumbar y cuello de fémur en dos ocasiones en un intervalo de 4 años, junto con estudios radiológicos de columna vertebral y tipificación de los alelos del gen VDR mediante el enzima de restricción Bsm I, han sido dispares²⁰. Así, en la población masculina, no se encontraron diferencias en la masa ósea, ni cambios de la misma ni diferencias en la prevalencia de fracturas. En las mujeres, se observaron valores superiores de la masa ósea en columna lumbar y en el cuello femoral en aquellas con genotipo bb frente a los genotipos BB y Bb, siendo esta diferencia de $\pm 0,5$ desviaciones estándar. La evolución de la masa ósea sólo alcanzó diferencias significativas a nivel del cuello de fémur, siendo el porcentaje de cambio anual del $+0,9 \pm 1\%$ (bb) frente a $-1 \pm 1\%$ (Bb) y $-2 \pm 1,4\%$ (BB) ($p < 0,05$). Además el genotipo bb se encontró infrarepresentado entre las mujeres con fractura vertebral (27%) respecto a las mujeres sin fractura vertebral (42%) siendo la prevalencia de los otros dos genotipos (BB & Bb) del 73% y del 58% respectivamente, estando al límite de la significación estadística ($p = 0,07$). La prevalencia de los distintos genotipos fue igual en ambos sexos y similar a la descrita tanto en la población caucásica como en la específicamente española: 16% BB, 47% Bb y 37% bb³⁰.

Otros estudios en mujeres postmenopáusicas españolas, han encontrado diferencias en masa ósea sólo a nivel del cuello de fémur y con diferencias adicionales en función del nivel de sustrato en el genotipo menos favorable BB³⁰ o no han encontrado ninguna diferencia significativa³¹. En un estudio de casos (fracturas) y controles no se encontraron diferencias ni en el pico de masa ósea ni en el ries-

go relativo de fractura vinculados tanto al VDR cómo al receptor estrogénico³².

La disparidad de resultados puede obedecer a distintas circunstancias, algunas de las cuales son puramente metodológicas como sesgos de población, tamaño muestral, interferencias patogénicas, consideración de posibles artefactos... y otras vinculadas a diferencias poblacionales como pueden ser diferencias en desequilibrios de ligamiento o heterogeneidad alélica¹. Tampoco hay que olvidar el complejo mecanismo de actuación genómico de la vitamina D y la implicación de otros sistemas hormonales en las variables de control utilizadas (masa ósea, marcadores de remodelado...) para explicar la dificultad de su estudio.

A pesar de las discordancias, en un meta-análisis de 17 estudios publicados, se demuestran unos valores de masa ósea en la columna lumbar, cuello de fémur y radio de los homocigotos BB significativamente inferiores respecto a los bb, en porcentajes próximos al 2%, mucho más modestas que las estimaciones iniciales³³.

POLIMORFISMOS DEL GEN VDR: EFECTOS EX VIVO

Teniendo en cuenta las posibles interferencias habidas de los estudios *in vivo* y de la propia masa ósea como variable de control, nos pareció adecuado valorar *in vitro* el efecto de los polimorfismos del gen VDR sobre una función osteoblástica concreta como es la síntesis de osteocalcina. Para ello se utilizaron osteoblastos procedentes de cultivo primario de pacientes sin enfermedad metabólica ósea o neoplásica, obtenidos de 24 trasplantes de cadera sucesivos, de pacientes de ambos sexos, afectados de osteoartritis degenerativa³⁴. Los osteoblastos fueron cultivados durante 3 días con suero de ternera fetal al 10% y posteriormente con seroalbúmina bovina al 0,1%. El cuarto día se añadió calcitriol 10⁻⁸, 10⁻⁹ y 10⁻¹⁰ M al medio de cultivo. A las 48 horas de la estimulación con calcitriol se midieron los niveles de osteocalcina en el sobrenadante. El incremento de osteocalcina secretada al medio fue significativamente superior en los osteoblastos con genotipo bb (fig. 2). Estos resultados son congruentes con lo observado en mujeres sanas en las que la administración oral de 0,5 µg/día de calcitriol, durante 7 días incrementó los niveles de osteocalcina un 45% en el genotipo bb frente a un 20% en el BB²⁵, sugiriendo una mayor sensibilidad del genotipo bb a la estimulación con calcitriol.

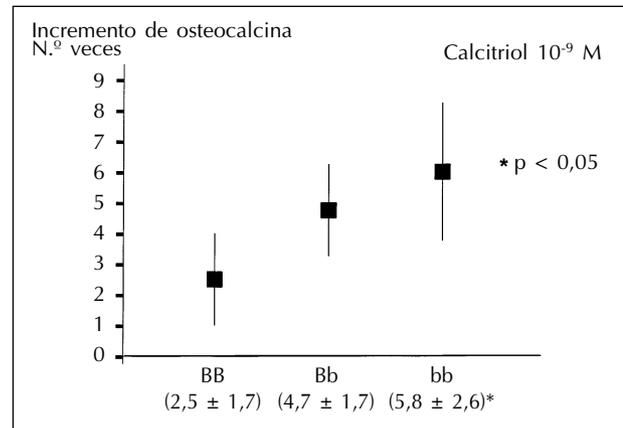


Fig. 2.—Incremento de la secreción de osteocalcina de los osteoblastos humanos en cultivo primario tras la estimulación con calcitriol en función de su genotipo, corregido por proteínas y expresado en número de veces que se incrementó respecto a la estimulación mínima con calcitriol 10⁻¹⁰ M. Entre paréntesis media ± desviación estándar.

POLIMORFISMOS DEL GEN VDR: IMPLICACIONES PRÁCTICAS

La caracterización de los polimorfismos del gen VDR además del interés que representa en el conocimiento de mecanismos fisiopatológicos puede ayudar a explicar diferencias en la epidemiología de la osteoporosis. Por ejemplo, la notable diferencia interracial respecto a la prevalencia del genotipo BB, vinculado a valores inferiores de masa ósea, que se sitúa en el 17% en la población de origen caucásico frente al 5% en población negra o el 2% en la asiática⁴, poblaciones con una prevalencia de osteoporosis también claramente diferente.

Otro aspecto de gran interés sería seleccionar pacientes de alto riesgo para desarrollar una pérdida acelerada de masa ósea o la elección de una terapia determinada. La selección de sujetos sometidos a un riesgo adicional de deterioro óseo y sobre los cuales se podrían ejercer medidas profilácticas, tiene una especial relevancia en pacientes sometidos a trasplantes o en pacientes que vayan a ser sometidos a corticoterapia prolongada, en los que la pérdida de masa ósea y las fracturas secundarias representan uno de los factores más limitantes de su futura calidad de vida. En estos casos la utilización de medidas profilácticas, más o menos agresivas —desde la suplementación de calcio, el tratamiento con metabolitos de la vitamina D, el uso de antiresortivos o la combinación de los mismos, po-

drían venir condicionadas por el conocimiento de su genotipo respecto al gen VDR.

En resumen, existen evidencias que demuestran la influencia de los distintos polimorfismos del gen VDR en la regulación del metabolismo óseo en la población general aunque, por los factores de confusión ya reseñados y las características poligénicas de esta regulación, la magnitud de su importancia está pendiente de definir^{36,37}.

AGRADECIMIENTOS

Parte de estos estudios han sido financiados por Biomed (BMNI-CT092-0182), el Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS 94/1901-E) y la Fundación Renal Íñigo Álvarez de Toledo.

BIBLIOGRAFÍA

- Gómez Alonso C, Naves Díaz ML, Díaz Corte C, Fernández Martín JL, Cannata Andía JB: Vitamin D receptor gene (VDR) polymorphisms: effect on bone mass, bone loss and parathyroid hormone regulation. *Nephrol Dial Transplant* 13 (Supl. 13): 73, 77, 1998.
- Morrison NA, Qi JC, Tokito A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, Sambrook PN, Eisman JA: Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 367: 284-287, 1994.
- Torres A, Machado M, Concepción MT, Martín N, Lorenzo V, Hernández D, Rodríguez AP, Rodríguez A, de Bonis E, González-Posada JM, Hernández A, Salido E: Influence of vitamin D receptor genotype on bone mass changes after renal transplantation. *Kidney Int* 50: 1726-1733, 1996.
- Selby PL, Kelsall J, Adams JE, Mee AP, Mawer EB: Are polymorphisms of the vitamin D receptor gene risk factors for corticosteroid induced osteoporosis? *Bone* 20 (Supl.): 31s, 1997.
- Obermayer-Piestch BM, Fruhauf GE, Chararas K y cols.: Association of the vitamin D receptor genotype BB with low bone density in hyperthyroidism. *J Bone Miner Res* 15: 1950-1955, 2000.
- Ferrari S, Rizzoli R, Chevalley T, Slosman D, Eisman JA, Bonjour JP: Vitamin D receptor gene polymorphism and change in lumbar spine bone mineral density. *Lancet* 345: 423-424, 1995.
- Matsuyama T, Ishii S, Tokita A, Yabuta K, Yamamori S, Morrison NA, Eisman JA: Vitamin D receptor genotypes and bone mineral density. *Lancet* 345: 1238-1239, 1995.
- Henning BJ, Parkhill JM, Chaple IL, Heasman PA, Taylor JJ: Association of a vitamin D receptor gene polymorphism with localized early-onset periodontal diseases. *J Periodontol* 70 1032-1038, 1999.
- Niimi T, Tomita H, Sato S y cols.: Vitamin D receptor gene polymorphism in patients with sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 160: 1107-1109, 1999.
- Simmons JD, Mullighan C, Welsh KI, Jewell DP: Vitamin D receptor gene polymorphism: association with Crohn's disease susceptibility. *Gut* 47: 211-214, 2000.
- Pani MA, Knapp M, Donner H y cols.: Vitamin D receptor combinations influence genetic susceptibility to type I diabetes in Germans. *Diabetes* 49: 504-507, 2000.
- Wilkinson RJ, Llewelyn M, Toosi Z y cols.: Influence of vitamin D deficiency and vitamin D receptor polymorphisms among Gurajati Asians in west London: a case-control study. *Lancet* 355: 618-621, 2000.
- Speer G, Dworak O, Cseh K y cols.: Vitamin D receptor gene Bsm1 polymorphism correlated with erbB-2/HER-2 expression in human rectal cancer. *Oncology* 58: 242-247, 2000.
- Hutchinson PE, Osborne JE, Lear JT y cols.: Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with altered prognosis in patients with malignant melanoma. *Clin Cancer Res* 6: 498-504, 2000.
- Habuchi T, Suzuki T, Sasaki R y cols.: Association of vitamin D receptor gene polymorphism with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia in a Japanese population. *Cancer Res* 60: 305-308, 2000.
- MacDonald PN: Molecular biology of the vitamin D receptor. En: Holick MF (ed.). *Vitamin D: Physiology, molecular biology and clinical applications*. New Jersey: Humana Press 7: 109-128, 1999.
- Baran DT: Nongenomic rapid effects of vitamin D. En: Holick MF (ed.). *Vitamin D: Physiology, molecular biology and clinical applications*. New Jersey: Humana Press. p. 12: 195-205, 1999.
- Pocock NA, Eisman JA, Hooper J, Yeates M, Sambrook PN, Eberl S: Generic determinants of bone mass in adults. *J Clin Invest* 80: 706-710, 1987.
- Krall EA, Dawson-Hughes B: Heritable and life-style determinants of bone mineral density. *J Bone Miner Res* 8 1-8, 1993.
- Kobayashi S, Inoue S, Hosoi T, Ouchi Y, Shiraki M, Orimo H: Association of bone mineral density with polymorphism of the estrogen receptor gene. *J Bone Miner Res* 11: 306-311, 1996.
- Eriksen EF, Langdahl B: Genetics of osteoporosis. *Bone* 20 (Supl.): 1s, 1997.
- Grant SFA, Reid DM, Blake G, Herd R, Fogelman I, Ralston SH: Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I α 1 gene. *Nature Genetics* 14: 203-205, 1996.
- Salamone LM, Ferrell R, Black DM, Palermo L, Epstein RS, Petro N, Steadman N, Kuller LH, Cauley JA: The association between vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density at the spine, hip and whole-body in premenopausal women. *Osteoporosis Int* 6: 63-68, 1996.
- Garnero P, Borel O, Sornay-Rendu E, Arlot ME, Delmas PD: Vitamin D receptor gene polymorphisms are not related to bone turnover, rate of bone loss and bone mass in postmenopausal women: the OFELY study. *J Bone Miner Res* 11: 827-834, 1996.
- Garnero P, Sornay-Rendu E, Delmas PD: Vitamin D receptor gene polymorphisms do not predict bone turnover and bone mass in healthy premenopausal women. *J Bone Miner Res* 10: 1283-1288, 1995.
- Riggs BL, Nguyen TV, Melton III LJ, Morrison NA, O'Fallon WM, Kelly PJ, Egan KS, Sambrook PN, Muhs JM, Eisman JA: The contribution of vitamin D receptor gene alleles to the determination of bone mineral density in normal and osteoporotic women. *J Bone Miner Res* 10: 991-996, 1995.
- Gross C, Eccleshaall TR, Malloy PJ, Villa ML, Marcus R, Feldman D: The presence of a polymorphism at the translation initiation site of the vitamin D receptor gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal Mexican-American women. *J Bone Miner Res* 11: 1850-1855, 1996.
- Dawson-Hughes B, Harris SS, Finneran S: Calcium absorption on high and low calcium intakes in relation to vitamin D receptor genotype. *J Clin Endocrinol Metab* 80: 3657-3661, 1995.
- Gómez C, Naves ML, Barrios Y, Díaz JB, Fernández JL, Salido E, Torres A, Cannata JB: Vitamin D receptor gene poly-

C. GÓMEZ ALONSO y cols.

- morphisms, bone mass, bone loss and prevalence of vertebral fractures: differences in postmenopausal women and men. *Osteoporos Int* 10: 175-182, 1999.
30. Bernard M, Jaramillo G, Aguado P y cols.: Polimorfismo del gen del receptor de la vitamina D y densidad mineral ósea en mujeres postmenopáusicas. *Med Clin (Barc)* 112: 651-655, 1999.
 31. Sosa M, Torres A, Domínguez C y cols.: Polimorfismo genético del receptor de la vitamina D y osteoporosis. *Med Clin (Barc)* 110: 646-650, 1998.
 32. Zarrabeitia MT, Riancho Franco-Vicario R, Goiria J, Gonzalo C, González Macías J: Papel de la tipificación genética múltiple (receptores de vitamina D y estrógenos) en la determinación del riesgo de fractura. *Med Clin (Barc)* 114: 241-244, 2000.
 33. Cooper GS, Umbach DM: Are vitamin D receptor polymorphisms associated with bone mineral density? A meta-analysis. *J Bone Miner Res* 11: 1841-1849, 1996.
 34. Naves ML, Fernández Martín JL, Fernández Coto MT, Paz J, Prado P, Cannata JB: Differential osteocalcin secretion due to vitamin D receptor gene polymorphisms in calcitriol stimulated human osteoblasts. *J Am Soc Nephrol* 11: 580^a, 2000.
 35. Howard G, Nguyen T, Morrison N, Watanabe T, Sambrook P, Eisman J, Kelly PJ: Genetic influences on bone density: physiological correlated of vitamin D receptor gene alleles in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 80: 2800-2805, 1995.
 36. Eisman JA: Vitamin D receptor gene alleles and osteoporosis: an affirmative view. *J Bone Miner Res* 10: 1289-1293, 1995.
 37. Peacock M: Vitamin D receptor gene alleles and osteoporosis: an contrasting view. *J Bone Miner Res* 10: 1294-1297, 1995.