



GENES CANDIDATOS ASOCIADOS A LA OSTEOPOROSIS

GABRIELA PICOTTO, ADRIANA PÉREZ, GABRIELA DÍAZ DE BARBOZA Y NORI TOLOSA DE TALAMONI*

Laboratorio de Metabolismo Fosfocálcico "Dr. F. Cañas", Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.

Resumen

La osteoporosis es una patología de origen multifactorial y multigénico. Diferentes abordajes se han realizado con el propósito de conocer las variantes alélicas de genes responsables asociados a la densidad mineral ósea baja u otros fenotipos implicados en la patogénesis de la enfermedad. Los estudios de genes candidatos son los más frecuentes, debido a su facilidad y sensibilidad de detección de pequeños efectos. El análisis de polimorfismos del gen del receptor de vitamina D, mediante el uso de diferentes restrictasas o medición del tamaño de microsatélites, ha demostrado que estarían asociados a la baja densidad mineral ósea o al riesgo de fracturas. Sin embargo, las conclusiones han sido contradictorias. Si bien los meta-análisis indican que habría una asociación modesta, los resultados no son aplicables a todas las poblaciones. Se han obtenido datos similares con los polimorfismos de los genes del receptor de estrógenos, los del colágeno tipo 1 y el del factor de crecimiento I similar a la insulina. Quizás el estudio de interacción génica, la interacción gen-medio ambiente, el incremento del tamaño de las muestras como así también estudios de meta-análisis más controlados, puedan dar una respuesta más satisfactoria. Muchos esfuerzos se están llevando a cabo en esa dirección por las enormes implicancias que tendría desde el punto de vista preventivo la detección de posibles genes candidatos asociados al desarrollo de la osteoporosis, como desde el punto de vista farmacológico por la posibilidad de detección de los individuos respondedores a los tratamientos anti-osteoporótico de acuerdo al genotipo.

Palabras clave: IVDR, ER, COLIA1, COLIA2, IGF-I, polimorfismo.

CANDIDATE GENES ASSOCIATED TO OSTEOPOROSIS

Summary

Osteoporosis is a multifactorial and multigenic disease. Different approaches have been done in order to know the allelic variants of responsible genes associated to bone mineral density or other phenotypes implicated in the pathogenesis of this

disease. Studies on candidate genes are quite frequent due to their easy feasibility and sensitivity to detect minor effects. Polymorphic studies on vitamin D receptor gene, accomplished by using restrictases or by measuring the size of microsatellites, have shown that those genotypes are associated to low bone mineral density or risk of fractures. However, the results are controversial and though meta-analysis indicate that there is a minor association between the genotypes and bone mineral density, this does not apply to all populations. Similar data have been obtained with regards to the polymorphisms of estrogen receptor, COLIA1, COLIA2, and IGF-I genes. Maybe studies of interaction gene by gene, gene-environment, increment in the size of the sample and more controlled meta-analysis can give a more satisfactory response. Many efforts are going in this direction because these studies have important implications to prevent the development of osteoporosis and to detect patients responsive to anti-osteoporosis treatment according to their genotypes.

Key words: VDR, ER, COLIA1, COLIA2, IGF-I, polymorphisms.

Introducción

La osteoporosis es uno de los problemas médicos más frecuentes de la población envejecida. Su prevalencia está incrementando en todo el mundo debido a que se han aumentado las expectativas de vida.¹ La fractura osteoporótica es, sin dudas, el aspecto clínico más relevante de la enfermedad pues constituye una de las principales causas de morbilidad y mortalidad, en especial en los individuos de la tercera edad. La fuerza ósea y el riesgo de fractura están determinados, en gran medida, por la densidad mineral ósea (DMO). Sin embargo, no es el único determinante ya que el tamaño y la calidad del hueso también son importantes. Además, la debilidad muscular, el deterioro cognitivo y de la visión contribuyen al riesgo de fractura osteoporótica.²

Estudios epidemiológicos realizados en familias o en mellizos mono y dicigóticos han mostrado que los factores genéticos juegan un rol importante en

* Dirección postal: Pabellón Argentina, 2º Piso, Ciudad Universitaria, 5000 Córdoba, Argentina.
Correo electrónico: ntolosa@biomed.uncor.edu

la regulación de la DMO y de otros fenotipos relevantes en la patogénesis de las fracturas por fragilidad.³ También hay factores ambientales que tienden a cambiar durante los diferentes períodos de la vida y que generan distintos “niveles de expresión” de la susceptibilidad genética. El envejecimiento, caracterizado por una declinación funcional general, suele estar asociado a menor actividad física, cambios en la dieta, menos horas de exposición solar, etc. Estos cambios ambientales pueden traer aparejadas susceptibilidades genéticas particulares que no se detectan inmediatamente sino que se revelan más tarde en la vida.⁴

En base a las consideraciones precedentes, se considera que la osteoporosis tiene un rasgo genético “complejo”. Esto significa que es multifactorial y multigénica. Los factores de riesgo genético, ciertos alelos o variantes génicas, serán transmitidos de una generación a la siguiente pero la expresión fenotípica de estos factores dependerá de la interacción con otras variantes génicas y con factores ambientales.⁴

Los estudios genéticos relacionados con la osteoporosis han tenido diferentes abordajes en los últimos años. Los estudios de los genes candidatos asociados a la enfermedad han sido efectuados en muchos laboratorios del mundo. Las ventajas de estos análisis son la facilidad de su realización y la detección de pequeños efectos pero las desventajas son la posible detección de falsos positivos o negativos o la detección de un gen que no es necesariamente el responsable causal del efecto observado sino que está próximo a dicho gen, lo cual se llama desequilibrio de ligamiento.⁵

En la Tabla 1 se presenta una lista de algunos potenciales genes candidatos asociados a la osteoporosis. Dado que la vitamina D y las hormonas sexuales son importantes reguladores de la función de las células óseas y que su acción está mediada por receptores que actúan como reguladores transcripcionales, los genes que codifican para tales receptores han sido considerados importantes candidatos para la determinación del riesgo de osteoporosis.⁶ Los genes COL1A1 y COL1A2 que codifican para colágeno, principal proteína estructural del hueso, presentan polimorfismos que están asociados a algunos fenotipos de la masa ósea.⁷ El factor de crecimiento I similar a la insulina (IGF-I) es un polipéptido importante en la proliferación y diferenciación de las células óseas y en la síntesis de colágeno, de ahí que los polimorfismos del gen de IGF-I también han sido estudiados por su posible asociación con rasgos fenotípicos de la osteoporosis.⁸

Polimorfismos del gen del receptor de vitamina D

El gen del receptor de vitamina D, conocido con la

sigla inglesa VDR (*vitamin D receptor*), está localizado en el cromosoma 12 y ha sido el primer gen con el que se han iniciado los estudios de genética molecular de la osteoporosis. En el último intrón presenta dos polimorfismos que son reconocidos con las enzimas de restricción Bsm-I y Apa-I, en el último exón tiene el sitio polimórfico Taq I y en el extremo 3' no traducible un microsatélite. Morrison et al.⁹ observaron que los polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción del sitio polimórfico Bsm I del gen de VDR estaba relacionado con la DMO y, aunque posteriormente los autores corrigieron los primeros datos,¹⁰ a partir de esa época se realizaron análisis similares en distintos laboratorios del mundo de muestras procedentes de mujeres premenopáusicas, postmenopáusicas y más recientemente de hombres, niños y adolescentes. Casi la mitad de los trabajos hallaron asociaciones entre los genotipos de VDR y la DMO mientras que la otra mitad demostró resultados negativos. Cooper et al.¹¹ mediante estudios de meta-análisis concluyeron que el genotipo Bsm I del VDR influye muy poco sobre la DMO de sujetos ancianos. Gong et al.¹² al analizar 75 artículos, también llegaron a conclusiones similares en relación a mujeres premenopáusicas pero señalaron que la heterogeneidad genética y los factores no genéticos podrían enmascarar algunas asociaciones. Thakkinstian et al.¹³ también a través de meta-análisis hallaron una modesta asociación entre el polimorfismo Bsm I y la DMO de columna y cuello lumbar (estudios publicados entre 1994 y 2001). Dichos autores concluyeron que los individuos con el genotipo BB tienen menor DMO que los que portan genotipos bb o Bb, con lo cual tienen mayor pérdida ósea con el paso del tiempo. Dado que la fragilidad ósea no depende sólo de la DMO sino también de la morfología, la arquitectura, el remodelado y la calidad del hueso, se comenzaron a realizar estudios de asociación entre el polimorfismo del VDR y el riesgo de fractura. Nuevamente, los resultados fueron conflictivos. Garnero et al.¹⁴ mostraron que el polimorfismo Bsm I se asocia con el riesgo de fracturas en mujeres postmenopáusicas, independientemente de la DMO, velocidad de pérdida de DMO, *turnover* óseo y hormonas endógenas. Recientemente, el estudio GENOMOS que involucró 9 grupos europeos de investigación y más de 25.000 pacientes concluyó que los polimorfismos Bsm I, Apa I, Taq I y Fok I no están asociados con la DMO ni con las fracturas pero, en cambio, el polimorfismo Cdx2 puede estar asociado con el riesgo de fracturas vertebrales.¹⁵ Cdx2 es un factor de transcripción que se une a un sitio promotor del gen de VDR. El sitio de unión del gen de VDR a dicho factor de transcripción presenta variaciones polimórficas que consisten en un



cambio de G por A y se ha demostrado que el alelo A es más activo para unirse a Cdx2 y tiene más actividad transcripcional.¹⁶ El alelo A incrementaría la expresión de VDR en el intestino y con ello la transcripción de proteínas que transportan calcio (calbindina D9k, TRPV5 y TRPV6), que llevaría a la adquisición de una mejor DMO¹⁷. Otro polimorfismo funcional del VDR está en el exón 2, el cual es reconocido con la restrictasa Fok I. Consiste en la variación T/C en el primer codón de iniciación que genera un VDR con 3 aminoácidos menos. Los individuos que tienen el codón ACG en lugar de ATG inician la transcripción en el segundo ATG y presentan mayor actividad transcripcional y más alta DMO.¹⁸ En nuestro laboratorio se observó falta de asociación entre los polimorfismos Bsm I y Fok I de VDR con la DMO de columna lumbar y de cuello femoral en mujeres pre y perimenopáusicas sanas de la ciudad de Córdoba y zonas adyacentes.¹⁹ En cambio, en mujeres postmenopáusicas sanas como osteoporóticas de la misma región geográfica, el genotipo bb está asociado a más baja DMO aunque no hay diferencias en la distribución de los genotipos entre sanas y osteoporóticas.²⁰

Polimorfismos de los genes de los receptores estrogénicos

El receptor de estrógenos tipo alfa (ER), que está codificado por el gen ESR1 en el cromosoma 6, es un candidato importante para la regulación de la masa ósea debido a los efectos benéficos de los estrógenos sobre el desarrollo y el mantenimiento del esqueleto. Muchos investigadores han buscado evidencia de asociación entre los alelos de este gen y la DMO mediante el estudio de dos polimorfismos dentro del intrón I, reconocidos por las enzimas de restricción Xba I y Pvu II, y el de un sitio de repetición variable TA que se encuentra dentro del promotor del gen.²¹ Es interesante el hecho que los polimorfismos del intrón I están localizados en una región que está conservada (70-80%) en los genomas de rata, ratón y humanos y que, además, presentan fuerte desequilibrio de ligamiento.²² Estos estudios de asociación, al igual que los estudios de VDR, no han dado resultados consistentes, lo cual estaría relacionado con el tamaño de las muestras o a las características disímiles de los individuos evaluados en un mismo estudio.²³ Los mecanismos moleculares responsables de estos efectos tampoco han sido esclarecidos todavía. Existen resultados que sugieren que los portadores de alelos X o P serían más susceptibles a las consecuencias de una deficiencia de estrógenos.²⁴ El proyecto GENOMOS mostró que los homocigotas XX tenían menor riesgo de fracturas pero no demostró asociación del genotipo con la DMO.²⁵ Sin

embargo, otro meta-análisis recientemente publicado²⁶ sugiere que en las mujeres chinas, el polimorfismo Pvu II estaría asociado muy débilmente a la DMO mientras que el de Xba I no tendría ninguna relación. En nuestro laboratorio se ha hallado alta concordancia entre los sitios polimórficos Xba I y Pvu II tanto en muestras de mujeres premenopáusicas como de postmenopáusicas, sanas u osteoporóticas, pero no se ha demostrado asociación de estos polimorfismos con la DMO. Los análisis de interacción entre los genes de VDR y ER, utilizando como covariables la edad, la altura y el índice de masa corporal, no mostraron influencia de la combinación de tales genotipos sobre la DMO.^{19, 20}

En los últimos años se ha comenzado a realizar estudios de asociación entre la DMO y el polimorfismo del gen del receptor beta (ER), llamado ESR2, el cual está localizado en el cromosoma 14 y del que se han detectado cinco variantes, dos mutaciones y tres polimorfismos²². Se ha sugerido que el gen de ER estaría vinculado con la pérdida de masa ósea en el antebrazo²⁷.

Polimorfismos de los genes de colágeno tipo 1

Los genes COLIA1 y COLIA2 se encuentran localizados en los cromosomas 17 y 7, respectivamente, y codifican la síntesis de las cadenas 1 y 2 del colágeno tipo 1. Mutaciones en dichos genes causan alteraciones del tejido conectivo como en el síndrome de Ehlers-Danlos y en la osteogénesis imperfecta, estando esta última asociada con masa ósea muy baja e incremento en el riesgo de fractura.²⁸ En los últimos años, varios trabajos han mostrado una fuerte asociación entre el polimorfismo de dichos genes y la patogénesis de la osteoporosis. El polimorfismo del sitio de unión del factor de transcripción Sp1, que consiste de un cambio G/T en el primer intrón del gen del COLIA1, afecta la unión de dicho factor de transcripción al gen y se ha demostrado que está asociado a la DMO y a la susceptibilidad a las fracturas osteoporóticas. En ese estudio realizado con muestras procedentes de mujeres británicas, se demostró que el alelo T prevaleció entre las pacientes osteoporóticas con respecto a las controles sanas.²⁹ Estudios realizados en mujeres caucásicas ancianas demostraron que otro sitio polimórfico del COLIA1, el PCOL2 ubicado en el sitio promotor del gen, en interacción con el sitio Sp1 influía significativamente sobre la DMO.³⁰ Estudios subsiguientes realizados en distintas poblaciones del mundo mostraron que los genotipos GT y TT del COLIA1 (también denominados Ss y ss, respectivamente) están asociados a DMO más baja, altos niveles de turnover óseo e incremento en el riesgo de fractura. Otros estudios llevados a cabo en mujeres pre y postmenopáusicas ameri-

canas y europeas, por el contrario, no encontraron asociación entre estos polimorfismos y la DMO.³¹ Recientemente, el estudio GENOMOS confirmó la asociación del alelo T del sitio polimórfico Sp1 con una modesta reducción de la DMO y un riesgo significativo de fractura osteoporótica, independientemente de la DMO.³² En relación al COLIA2, poco se conoce sobre su efecto sobre la DMO. Algunos trabajos han encontrado asociación de los sitios polimórficos MspI, (GT)_n y PvuII del gen COLIA2 con la DMO en grupos familiares de China³³ y con fracturas no osteoporóticas en niñas prepúberes de Finlandia.³⁴

Polimorfismo del gen del factor de crecimiento I similar a la insulina (IGF-I)

El gen de IGF-I está localizado en el cromosoma 12. Existen diferentes sitios polimórficos en este gen, pero el más estudiado en relación a la osteoporosis es un microsatélite compuesto por repeticiones variables de CA que se encuentra 1kb corriente arriba del comienzo del sitio de transcripción del gen. En las diferentes poblaciones estudiadas se han obtenido alelos desde 188 pb hasta 200 pb. En las mujeres caucásicas, el alelo predominante es el de 192 pb y es considerado el alelo wild type, mientras que en las afro-americanas es el de 190 pb.^{8, 35, 36}

Los estudios de asociación de este polimorfismo con la DMO son controvertidos. Takacs et al.³⁵, en un estudio realizado en hermanas premenopáusicas, caucásicas y afro-americanas, no encontraron relación entre DMO de fémur o de columna vertebral con este polimorfismo. En poblaciones de mujeres chinas tampoco se ha hallado asociación entre el polimorfismo del gen del IGF-I y la DMO de diferentes sitios del esqueleto.³⁷ Sin embargo, Rosen et al.⁸, demostraron que el genotipo homocigota 192-192 pb fue prevalente en una población de hombres caucásicos con osteoporosis idiopática, además reportaron que en hombres sanos este genotipo se asoció con menores niveles séricos de IGF-I y menor DMO. Otros estudios demostraron asociación positiva entre la presencia del alelo 192 pb, en forma hetero u homocigota, y mayor DMO o menor pérdida de masa ósea en mujeres postmenopáusicas caucásicas.^{36,38} Además, la ausencia del alelo wild type ha sido asociada a mayor riesgo de fracturas no vertebrales osteoporóticas en mujeres adultas. Sin embargo, en el mismo trabajo no se encontró asociación entre el polimorfismo del gen del IGF-I y la DMO en hombres adultos mayores, aunque sí se demostró asociación entre la presencia del alelo 192 pb y una mejor estructura ósea tanto en hombres como en mujeres adultas.³⁹ Las diferencias observadas en los resultados obtenidos

entre hombres y mujeres adultas, puede deberse al efecto de la falta de estrógenos presente en mujeres postmenopáusicas.

Conclusiones

La mayoría de los estudios indican que el polimorfismo Bsm I del gen del VDR tendría una modesta o nula influencia sobre la DMO de los pacientes osteoporóticos. Aparentemente, en algunas poblaciones habría más asociación entre dicho polimorfismo y el riesgo de fractura osteoporótica que con la DMO.¹⁴ Otros estudios muestran asociaciones de la DMO o el riesgo de fractura con genotipos de COLIA1, IGF-I, ER, pero los resultados no han sido confirmados en distintas poblaciones estudiadas. Además, pocos trabajos muestran interacciones de las variantes alélicas de los genes candidatos con factores ambientales, tales como la ingesta de calcio u otros factores nutricionales, el tiempo de exposición solar, la latitud en la que vive el paciente, la actividad física, etc.

Las implicancias del conocimiento de las bases genéticas de la osteoporosis son de enorme importancia para la prevención, diagnóstico y pronóstico de la patología. Más aún, recientes estudios han demostrado que los genotipos del VDR (sitio polimórfico Bsm I) influyen la eficacia de la terapia anti-resortiva en pacientes osteoporóticos.⁴⁰ Es posible entonces que, en un futuro no muy lejano, se pueda seleccionar el tratamiento anti-osteoporótico óptimo para cada paciente sobre la base de una evaluación genética completa.

La corrección de ciertos factores de confusión en los estudios de meta-análisis también puede ayudar a obtener conclusiones más claras y generales. No obstante, la significación funcional de estos polimorfismos es una de las áreas que debe explorarse para comprender los mecanismos moleculares que subyacen en las asociaciones entre las variantes génicas y los fenotipos óseos.

Agradecimientos: Parte de los resultados mencionados aquí obtenidos por los autores han sido financiados con subsidios de SECYT (UNC), FONCYT- CONICOR (PICTO 98-0503191) y FONCYT- PICTO (99-0505278) (Dra. N. Tolosa de Talamoni). Las Dras. Nori Tolosa de Talamoni y Gabriela Picotto son Investigadoras de Carrera del CONICET.

(Recibido: noviembre de 2006. Aceptado: febrero de 2007)



Referencias

1. Ferrari S, Rizzoli R. Gene variants for osteoporosis and their pleiotropic effects in aging. *Mol Aspects Med* 2005; 26: 145-67.
2. Cummings S, Nevitt M, Browner W et al. Risk factors for hip fracture in white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *N Engl J Med* 1995; 332: 767-73.
3. Ralston S. Genetic determinants of susceptibility to osteoporosis. *Curr Opin Pharmacol* 2003; 3: 286-90.
4. Uitterlinden A. Genetics and genomics of osteoporosis. The European Calcified Tissue Society, 2001. Disponible en: www.ectsoc.org/reviews/005_uitt.htm
5. Tolosa de Talamoni N. Osteoporosis y polimorfismos del gen del receptor de vitamina D. *Endocrinol Nutr* 2007; 54: 96-101.
6. Gennari L, Becherini L, Falchetti A, Masi L, Massart F, Brandi M. Genetics of osteoporosis: role of steroid hormone receptor gene polymorphisms. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002; 81: 1-24.
7. Hustmyer F, Liu G, Johnston C, Christian J, Peacock M. Polymorphism at an Sp1 binding site of COL1A1 and bone mineral density in premenopausal female twins and elderly fracture patients. *Osteoporosis Int* 1999; 9: 346-50.
8. Rosen C, Kurland E, Vereault D et al. Association between serum insulin growth factor-I (IGF-I) and a simple sequence repeat in IGF-I gene: Implications for genetic studies of bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2286-90.
9. Morrison N, Qi J, Tokita A et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 1994; 367: 284-7.
10. Morrison N, Qi J, Tokita A et al. Prediction of bone mineral density from vitamin D receptor alleles (correction). *Nature* 1997; 387: 106.
11. Cooper G, Umbach D. Are vitamin D receptor polymorphisms associated with bone mineral density? A meta-analysis. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 1841-49.
12. Gong G, Stern H, Cheng S et al. The association of bone mineral density with vitamin D receptor gene polymorphisms. *Osteoporosis Int* 1999; 9: 55-64.
13. Thakkestian A, D' Este C, Eximan J, Nguyen T, Attia J. Meta-analysis of molecular association studies: vitamin D receptor gene polymorphisms and BMD as a case study. *J Bone Miner Res* 2004; 19: 419-28.
14. Garnero P, Muñoz F, Borel O, Sorney-Rendu E, Delmas P. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with the risk of fractures in postmenopausal women, independently of bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 4829-35.
15. Uitterlinden A, Ralston S, Brandi M et al. The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2006; 145: 302-4.
16. Uitterlinden A, Fang Y, van Meurs J, Pols H, van Leeuwen J. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphism. *Gene* 2004; 338: 143-56.
17. Arai H, Miyamoto K, Yoshida M et al. The polymorphism in the caudal-related homeodomain protein Cdx-2 binding element in the human vitamin D receptor gene. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1256-64.
18. Arai H, Miyamoto K, Taketani Y et al. A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 915-21.
19. Ulla M, Pérez A, Elías V et al. Vitamin D receptor and estrogen receptor genotypes in pre and perimenopausal women from Argentina. *Medicina (B Aires)*, 2007, en prensa.
20. Pérez A, Ulla M, García B et al. Polimorfismo del gen del receptor de vitamina D y del gen del receptor de estrógenos en mujeres postmenopáusicas sanas y osteoporóticas de la ciudad de Córdoba. *Medicina (B Aires)*; 2001, 61: 720.
21. Ralston S, de Crombrughe B. Genetic regulation of bone mass and susceptibility to osteoporosis. *Genes & Dev* 2006; 20: 2492-506.

22. Gennari L, Merlotti D, De Paola V et al. Estrogen receptor gene polymorphisms and the genetics of osteoporosis: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2005; 161: 307-20
23. Ioannidis J, Stavrou I, Trikalinos T et al. Association of polymorphisms of the estrogen receptor gene with bone mineral density and fracture risk in women: a meta-analysis. *J Bone Miner Res* 2002; 17: 2048-70.
24. Khosla S, Riggs B, Atkinson E et al. Relationship of estrogen receptor genotypes to bone mineral density and rates of bone loss in men. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1808-16.
25. Ioannidis J, Ralston S, Bennet S et al. Differential genetic effects of ESR1 gene polymorphisms on osteoporosis outcomes. *JAMA* 2004; 292: 2105-14.
26. Wang C, Tang X, Chen W, Su Y, Zhang C, Chen Y. Association of estrogen receptor alpha gene polymorphisms with bone mineral density in Chinese women: a meta-analysis. *Osteoporosis Int* 2007; 18: 295-305.
27. Silvestri S, Thomsen A, Gozzini A, Bagger Y, Christiansen C, Brandi M. Estrogen receptor alpha y beta polymorphisms: is there an association with bone mineral density, plasma lipids and response to postmenopausal hormone therapy? *Menopause* 2006; 13: 451-61.
28. Pluijm S, Van Essen H, Bravenboer N et al. Collagen type I 1 Sp1 polymorphism, osteoporosis and in vertebral disc degeneration in older men and women. *Ann Rheum Dis* 2004; 63:71-77.
29. Grant S, Reid D, Blake G, Herd R, Fogelman I, Ralston S. Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I 1 gene. *Nat Genet* 1996; 14: 203-5.
30. Liu P-Y, Lu Y, Long J-R et al. Common variants at the PCOL2 and Sp1 binding sites of the COL1A1 gene and their interactive effect influence bone mineral density in caucasians. *J Med Genet* 2004; 41: 752-7.
31. Hubacek J, Weichetova M, Bohuslavova R, Skodova Z, Stepan J, Adámkova V. Genetic polymorphisms of TGF- β , PAI-1 and COL1A-1 and determination of bone mineral density in caucasian females. *Endocr Regul* 2006; 40: 77-81.
32. Ralston S, Uitterlinden A, Brandi M et al. Large-Scale evidence for the effect of the COL1A1 Sp1 polymorphism on osteoporosis outcomes: the GENOMOS study. *PLoS Med* 2006; 3: 515-23.
33. Lei S, Deng F, Dvornyk V et al. The (GT) $_n$ polymorphism and haplotype of the COL1A2 gene, but not the (AAAG) $_n$ polymorphism of the PTHR1 gene are associated with bone mineral density in Chinese. *Hum Genet* 2005; 116: 200-7.
34. Suriniemi M, Mahonen A, Kovanen V, Alen M, Cheng S. Relation of PvuII site polymorphism in the COL1A2 gene to the risk of fractures in prepubertal Finnish girls. *Physiol Genomics* 2003; 14: 217-24.
35. Takacs I, Koller D, Peacock M et al. Sibling pair linkage and association studies between bone mineral density and insulin-like growth factor I gene locus. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4467-71.
36. Rivadeneira F, Houwing-Duistermaat J, Vaessen N et al. Association between an insulin-like growth factor I gene promoter polymorphism and bone mineral density in the elderly: The Rotterdam Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 3878-84.
37. Jiang D, Shen H, Li MX, et al. No major effect of the insulin-like growth factor I gene on bone mineral density in premenopausal Chinese women. *Bone* 2005; 36: 694-9.
38. Lakatos P, Bajnok E, Tornai I et al. Insulin-like growth factor I gene microsatellite repeat, collagen type alpha1 gene Sp1 polymorphism, and bone disease in primary biliary cirrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16: 753-9.
39. Rivadeneira F, Houwing-Duistermaat J, Beck T et al. The influence of an insulin-like growth factor I gene promoter polymorphism on hip bone geometry and the risk of non vertebral fracture in the elderly: The Rotterdam study. *J Bone Miner Res* 2004; 19: 1280-90
40. Palomba S, Orio F Jr, Russo T, Falbo A et al. Bsm I vitamina D receptor genotypes influence the efficacy of antiresorptive treatments in postmenopausal osteoporotic women. A 1-year multicenter, randomized and controlled trial. *Osteoporosis Int* 2005; 16: 943-52.