



Pineda-Moncusí M¹, Rodríguez-Sanz M¹, Servitja S³, Díez-Pérez A^{1,2}, Tusquets I³, Nogués X^{1,2}, García-Giralt N¹

¹ IMIM (Instituto Hospital del Mar de Investigaciones Médicas) - Red Temática de Investigación Cooperativa en Envejecimiento y Fragilidad (RETICEF) - Instituto de Salud Carlos III FEDER - Barcelona (España)

² Departamento de Medicina Interna - Parque de Salud Mar - Universidad Autónoma de Barcelona - Barcelona (España)

³ IMIM (Instituto Hospital del Mar de Investigaciones Médicas) - Departamento de Oncología Médica - Parque de Salud Mar - Barcelona (España)

Estudio de la base genética de la reducción del *Trabecular Bone Score* relacionada con los inhibidores de la aromatasa

Correspondencia: Natalia García-Giralt - Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques (IMIM), PRBB - 08003 Barcelona (España)

Correo electrónico: ngarcia@imim.es

Fecha de recepción: 31/01/2018

Fecha de aceptación: 24/04/2018

Trabajo remitido como prestación por la beca FEIOMM recibida para asistir al 37º Congreso de la ASBMR (Seattle, 2015)

Resumen

Objetivos: Los inhibidores de la aromatasa (AI) son terapias endocrinas adyuvantes eficaces para pacientes con cáncer de mama, aunque se han asociado a un mayor riesgo de fractura osteoporótica. Previamente se ha demostrado una pérdida en el *Trabecular Bone Score* (TBS) que puede variar entre las pacientes tratadas con IA. El estudio pretendió identificar la base genética asociada al cambio en el TBS mediante el estudio de genes de la vía esteroidogénica.

Material y métodos: La cohorte B-ABLE estudia de forma prospectiva a mujeres postmenopáusicas con cáncer de mama en tratamiento con IA. Se calculó el TBS a partir de los datos adquiridos en la densitometría mediante absorciometría radiológica dual (DXA) realizada al inicio y al final del tratamiento con IA. El cambio relativo del TBS se calculó como la variación porcentual del valor de TBS al final de tratamiento respecto al TBS basal. Para estudiar la posible asociación genética se genotiparon los polimorfismos de cambio de un nucleótido (SNPs) en los genes *CYP11A1*, *CYP17A1*, *HDE3B2*, *HDE17B3*, *CYP19A1*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *ESR1*, *GC*, *CYP27B1*, *VDR* y *CYP24A1*. Se estudió mediante regresión lineal múltiple la posible relación entre genes y cambios en TBS contemplando los modelos de herencia genética dominante, recesivo y aditivo.

Resultados: Se incluyeron en el estudio un total de 212 mujeres no tratadas con bisfosfonatos en las que pudo calcularse el TBS. La mitad de las pacientes habían recibido tratamiento previo con tamoxifeno. El porcentaje de cambio intra-individual del TBS fue del -0,04% [IC del 95%: -0,05 a -0,03; p<0,001] al final de tratamiento con IA. El SNP rs6013897 en el gen *CYP24A1* mostró una asociación significativa con la reducción del TBS [p=0,03565; coeficiente (IC del 95%) = -1,55 (-2,98 a -0,11)].

Conclusiones: El gen *CYP24A1* podría estar implicado en la variabilidad fenotípica encontrada en el deterioro de la microarquitectura ósea durante el tratamiento con IA.

Palabras clave: *inhibidores de la aromatasa, cáncer de mama, TBS, estudio de asociación genética.*



Study of the genetic basis of Trabecular Bone Score reduction related to aromatase inhibitors

Summary

Objectives: Aromatase inhibitors (AI) are effective adjuvant endocrine therapies for breast cancer patients, although they have been associated with an increased risk of osteoporotic fracture. Trabecular Bone Score (TBS) loss has been previously demonstrated, although it may vary among AI-treated patients. This study aims to identify the genetic basis associated with TBS change by studying steroidogenic pathway genes. **Material and methods:** The B-ABLE cohort studies prospectively postmenopausal women with breast cancer under treatment with AI. TBS is calculated from the raw data acquired in dual-energy x-ray absorptiometry (DXA) scan at the outset of the study and at the end of AI-treatment. The relative TBS change was calculated as the percentage variation of the TBS value at the end of treatment from baseline. To study the possible genetic association, nucleotide polymorphisms (SNPs) were genotyped in genes *CYP11A1*, *CYP17A1*, *HDE3B2*, *HDE17B3*, *CYP19A1*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *ESR1*, *GC*, *CYP27B1*, *VDR* and *CYP24A1*. The possible relationship between genes and TBS changes was studied by multiple linear regression, considering models of dominant, recessive and additive genetic inheritance.

Results: The study included 212 women that had not been treated with bisphosphonates and had available TBS data. Half of the patients had been treated previously with tamoxifen. The percentage of intra-individual TBS change was -0.04% [95% CI: -0.05 to -0.03; $p < 0.001$] at the end of AI treatment. The SNP rs6013897 in the gene *CYP24A1* showed a significant association with TBS reduction [$p = 0.03565$; coefficient β (95% CI) = -1.55 (-2.98 to -0.11)].

Conclusions: The *CYP24A1* gene could be involved in the phenotypic variability found in bone microarchitecture deterioration during AI treatment.

Key words: aromatase inhibitors, breast cancer, TBS, genetic association study.

Introducción

Es bien sabido que los inhibidores de la aromatasa (IA) son terapias endocrinas adyuvantes efectivas para pacientes con cáncer de mama con receptores hormonales positivos. En general, estas pacientes tienen un buen pronóstico, con una tasa de supervivencia general superior al 80%^{1,2}. Sin embargo, estas terapias se han asociado con efectos secundarios que pueden afectar la calidad de vida, tales como la pérdida de masa ósea y el aumento de la fractura osteoporótica³. Las guías clínicas para el tratamiento de la pérdida ósea relacionada con los IA (POrIA) recomiendan un control estricto de la densidad mineral ósea (DMO) y otros factores de riesgo para evaluar la necesidad de tratamiento con terapias antirresortivas⁴.

Se ha propuesto al *Trabecular Bone Score* (TBS) como una herramienta para la evaluación esquelética, complementaria a la DMO convencional, que ha demostrado ser clínicamente útil para la predicción del riesgo de fractura⁵. El TBS es una medida no invasiva de la microarquitectura ósea extraída de la densitometría ósea mediante absorciometría radiológica dual (DXA) de columna lumbar. De manera interesante la mayoría de los individuos con una fractura por fragilidad tienen una DMO en el rango osteopénico o incluso normal, lo que indica la importancia de la calidad del hueso en el riesgo de fractura⁶. Los valores altos de TBS indican una mejor microarquitectura, mientras que los valores más bajos reflejan una calidad ósea deficiente con una mayor susceptibilidad a la fractura⁷. Respecto al tratamiento del cáncer de mama con IA, se ha demostrado que el TBS podría estar afectado con una reducción significativa de la microarquitectura, comparable a la pérdida de DMO⁸.

La cohorte B-ABLE es una cohorte clínica prospectiva de mujeres postmenopáusicas con cáncer de mama en etapa inicial que reciben IA⁹ en la que se ha comunicado una asociación entre polimorfismos del gen *CYP11A1* y la pérdida de masa ósea después de 2 años de tratamiento con IA¹⁰, lo que demuestra que la variabilidad en el POrIA observada entre pacientes podría estar, en parte, genéticamente determinada.

Como ocurre con la POrIA, también se ha observado una gran variabilidad en los cambios del TBS entre las pacientes tratadas con IA⁸, lo que hace suponer que también podría existir una base genética en la respuesta a los IA. Hasta la fecha, no se ha realizado ningún estudio genético sobre la pérdida de TBS en pacientes tratadas con IA, por lo que aún no se sabe si dicho parámetro también está determinado genéticamente. El objetivo de este estudio fue determinar la base genética de esta variabilidad en la cohorte B-ABLE mediante el genotipado de variantes genéticas en genes de la vía esteroidogénica.

Material y métodos

Participantes

Desde diciembre de 2005 hasta febrero de 2013 se reclutaron consecutivamente mujeres postmenopáusicas caucásicas diagnosticadas con cáncer de mama temprano, positivo para receptores hormonales y candidatas para el tratamiento con AI (cohorte B-ABLE). El estado postmenopáusico se definió como pacientes de edad >55 años con amenorrea durante más de 12 meses, o aquellas de ≤ 55 años con niveles de hormona luteinizante >30 mUI/ml o valores de la hormona folículo estimulante >40 mUI/ml. Se excluyeron aquellas mujeres



con un historial de enfermedad ósea, artritis reumatoide, enfermedades metabólicas o endocrinas, diagnóstico previo de osteomalacia o Paget, tratamiento concurrente o previo con bisfosfonatos, glucocorticoides orales, o cualquier otro fármaco con actividad ósea excepto el tamoxifeno.

Aprobación ética

El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Parque de Salud Mar (2013/5283/D), y se obtuvo el consentimiento informado por escrito de todos los participantes después de haber leído la hoja de información del estudio y haber respondido a todas las preguntas.

Diseño del estudio e intervenciones

B-ABLE es un estudio de cohorte clínico prospectivo, no seleccionado, llevado a cabo en la Unidad de Cáncer de Mama y la Unidad de Metabolismo Óseo del Hospital del Mar (Barcelona, España). Los participantes fueron tratados con IA (letrozol, exemestano o anastrozol) según las recomendaciones de la Sociedad Americana de Oncología Clínica¹¹: 5 años de IA comenzando dentro de las 6 semanas posteriores a la cirugía ó 1 mes después del último ciclo de quimioterapia o alternativamente, cambiando a un IA después de tomar tamoxifeno durante 2 a 3 años, para completar 5 años de terapia hormonal.

Todas las participantes fueron suplementadas con tabletas de calcio y 25(OH) vitamina D₃ (1.000 mg y 800 UI por día, respectivamente), y aquellos con deficiencia de vitamina D (<30 ng/ml) recibieron una dosis adicional de 16.000 UI de calcifediol (HIDROFEROL® FAES FARMA) cada 2 semanas.

Variables y medidas

Trabecular Bone Score

Las mediciones de TBS en la columna vertebral se realizaron utilizando el programa TBS instalado en el densitómetro (TBS iNsight® v2.1, Med-Imaps, Pessac, Francia). El TBS se calcula sobre la base de los datos brutos adquiridos mediante DXA, evaluando las mismas regiones utilizadas para el estudio de la DMO de columna lumbar y sin administración adicional de radiación ionizante al paciente. Los datos de TBS se obtuvieron al inicio y al final de tratamiento con IA.

Otras medidas

Se registró información de variables clínicas en el momento de la inclusión, incluida la edad de reclutamiento, la edad de la menarquía y la menopausia, el número de hijos, la lactancia, quimioterapia y radioterapia previas, los tratamientos adyuvantes, el peso, la talla y los niveles plasmáticos de 25(OH) vitamina D.

Selección de genes candidatos

Para el estudio de asociación genética se seleccionaron genes que codifican los factores clave en la síntesis y respuesta de los estrógenos y de la vitamina D (Figura 1). Se seleccionaron ocho genes candidatos en el caso del estrógeno: *CYP11A1*, *CYP17A1*, *HDE3B2*, *HDE17B3*, *CYP19A1*, *CYP2C19*, *CYP2C9* y *ESR1* y cuatro genes de la vitamina D: *GC*, *CYP27B1*, *VDR* y *CYP24A1*.

Selección de polimorfismos de cambio de un nucleótido (SNPs)

Los SNPs se seleccionaron sobre la base de los siguientes criterios: 1) frecuencia del alelo minoritario (MAF) >0,05; 2) tag-SNPs según el proyecto HapMap en la población de CEU (Residentes de Utah con ascendencia europea del norte y occidental, provenientes de la colección CEPD); 3) polimorfismos funcionales putativos; y 4) asociación previa con otros fenotipos musculoesqueléticos: concentraciones plasmáticas de 25(OH) vitamina D¹², DMO¹³⁻¹⁶ y artralgia relacionada con los IA¹⁷.

Extracción de ADN genómico y genotipado de los polimorfismos

La extracción de ADN de sangre periférica se realizó en las instalaciones de genómica LGC. El genotipado de los polimorfismos se llevó a cabo utilizando los sistemas de genotipado KASPar v4.0 en las instalaciones genómicas de LGC. Para garantizar la calidad del genotipado, también se genotipó una muestra aleatoria (5% del número total de muestras) en una placa de control separada. Hubo una concordancia del 100% entre estos resultados.

Análisis estadístico

El cambio relativo del TBS se calculó como el cambio porcentual del valor de TBS al final de tratamiento respecto al valor del TBS basal. Los cambios de TBS intra-individual se evaluaron usando la prueba t de Student para muestras pareadas.

Para evaluar la asociación entre los SNPs estudiados y el cambio de TBS, se utilizaron regresiones multivariadas lineales (modelos log-aditivos, dominantes y recesivos). Los modelos se ajustaron por edad, índice de masa corporal (IMC) y tratamiento previo con tamoxifeno. Se comprobó la colinealidad, la interacción y la tendencia lineal de las covariables. También se evaluó el posible factor de confusión para las concentraciones basales y finales de 25(OH) vitamina D. Para minimizar el error debido a múltiples pruebas, se usó la corrección de *False Discovery Rate* (FDR)¹⁸, aceptando todas las predicciones con $p < 0,05$ como significativo.

Todos los análisis fueron de dos colas. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando R para Windows versión 3.3.3 (paquetes: *foreign*, *car*, *compareGroups*, *SNPassoc*, y *multtest*).

Resultados

Características basales de las pacientes y evaluación del TBS

Se incluyeron un total de 212 mujeres en la cohorte B-ABLE con valores de TBS y que no habían seguido tratamiento con bisfosfonatos. La mitad de las pacientes habían recibido tratamiento previo con tamoxifeno. Las características clínicas iniciales de las participantes del estudio se muestran en la tabla 1.

El porcentaje del cambio acumulado intra-individual del TBS fue del -0,04% [IC del 95%: -0,05 a -0,03; $p < 0,001$] al final del tratamiento con IA.



Figura 1. Diagrama de los metabolitos y enzimas de la vía esteroidogénica. Los genes seleccionados para el análisis de asociación están marcados en negrita dentro de una caja gris

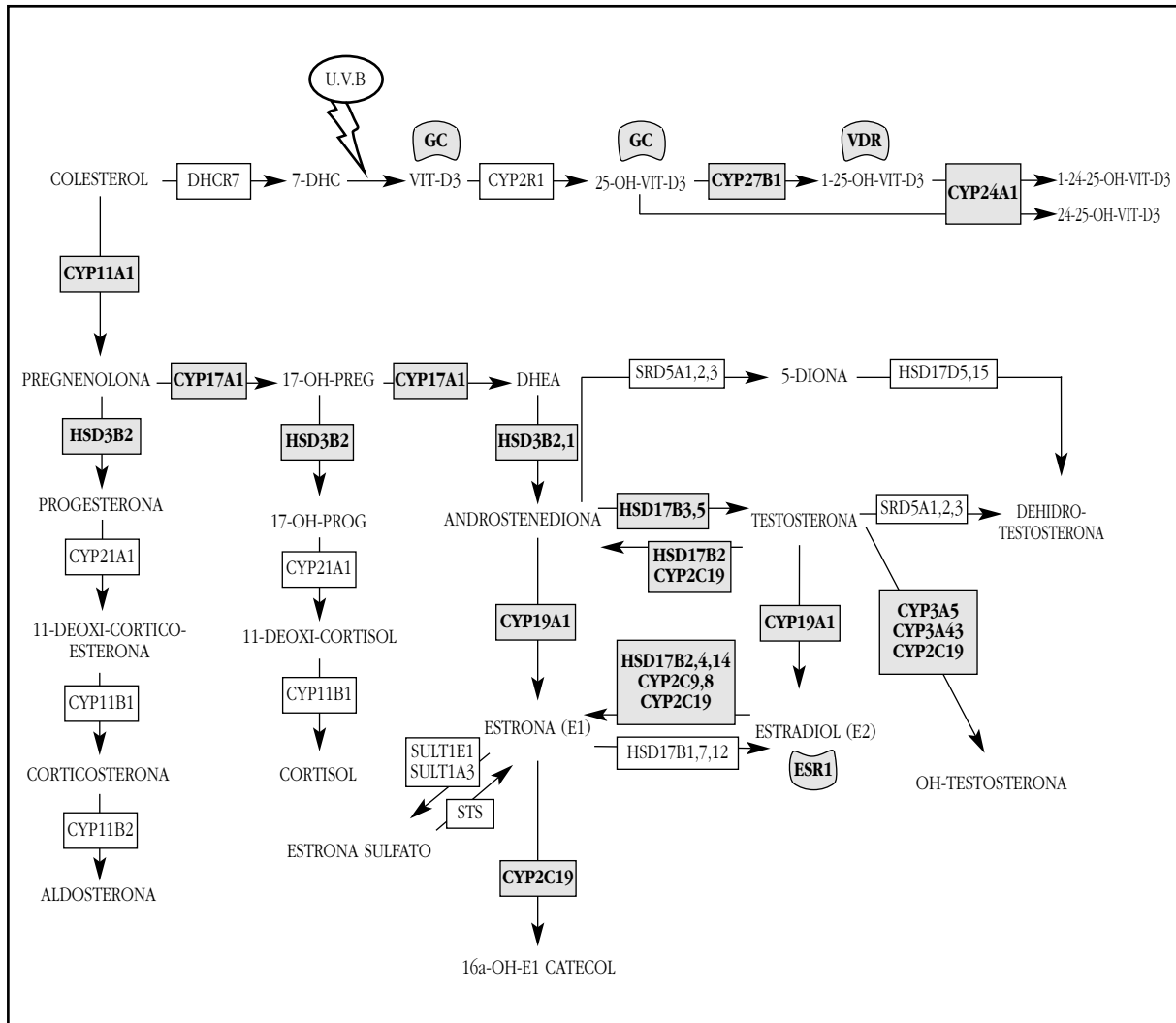


Tabla 1. Características de las pacientes de la cohorte B-ABLE

Variables	N=212
Edad (media ± DE)	59,7±8,39
IMC (media ± DE)	29,2±5,19
Tratamiento previo con TAM (n (%))	118 (55,7%)
Valor absoluto del TBS basal (media ± DE)	1,22±0,13
Valor absoluto del TBS al final del tratamiento (media ± DE)	1,18±0,12
Porcentaje de cambio relativo de TBS desde el inicio al final del tratamiento (media ± DE)	-2,95±5,93

IMC: índice de masa corporal; DE: desviación estándar; TAM: tamoxifeno; TBS: *Trabecular Bone Score*.

Asociación genética con el cambio de TBS

En la tabla 2 se exponen la frecuencia del alelo minoritario (MAF) y el valor p del equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) para cada SNP genotipado en la cohorte B-ABLE. El SNP rs6013897 mostró una asociación nominalmente significativa con

la reducción del TBS debida a los IA (Tabla 3). El genotipo AA de este SNP está asociado a mayor pérdida de TBS (media: -5,32; DE: ±6,15) respecto el genotipo TT (media: -2,20; DE: ±6,27). Estos resultados no varían tras ajustar por los niveles de vitamina D tanto basales como finales.



Tabla 2. Características de los SNPs genotipados

<i>Locus</i>	ID SNP	Alelos (R/A)	MAF (*)		HWE Valor p (*)	Eficiencia del genotipado (%)
CYP19A1	rs1062033	C/G	0,45	(G)	0,67	96,70
	rs4775936	C/T	0,48	(T)	1,00	95,28
CYP17A1	rs4919687	G/A	0,28	(A)	0,06	96,23
	rs6163	C/A	0,44	(A)	0,16	97,17
CYP11A1	rs4077581	T/C	0,38	(C)	0,07	96,23
	rs900798	G/T	0,41	(T)	0,06	96,23
	rs11632698	G/A	0,49	(A)	0,32	94,81
HDE3B2	rs2854964	A/T	0,37	(T)	0,65	96,70
	rs3765948	T/C	0,15	(C)	0,43	97,64
HDE17B3	rs408876	G/A	0,15	(A)	0,18	96,70
	rs2066474	A/G	0,19	(G)	0,37	97,17
	rs2183009	A/G	0,36	(G)	0,36	97,17
CYP2C19	rs12248560	C/T	0,22	(T)	1,00	97,17
	rs3758581	G/A	0,06	(A)	0,00	94,81
	rs4244285	G/A	0,13	(A)	0,76	96,23
CYP2C9	rs28371674	C/T	0,16	(T)	0,60	96,23
ESR1	rs2504063	G/A	0,44	(A)	0,48	95,28
CYP27B1	rs10877012	G/T	0,24	(T)	0,83	78,30
	rs4646536	A/G	0,26	(G)	0,69	79,25
GC	rs3755967	C/T	0,33	(T)	1,00	94,81
CYP24A1	rs6013897	T/A	0,21	(A)	0,68	95,28
	rs11907350	G/A	0,04	(A)	0,05	97,17
	rs4809957	A/G	0,25	(G)	1,00	96,23
VDR	rs2544037	A/G	0,43	(G)	0,32	96,7
	rs11568820	C/T	0,25	(T)	0,57	94,81
	rs1544410	G/A	0,33	(A)	0,34	96,23
	rs17879735	C/A	0,44	(A)	1,00	95,75

R: alelo de referencia; A: alelo alternativo; MAF: frecuencia del alelo minoritario; HWE: equilibrio de Hardy-Weinberg, *(en la cohorte B-ABLE).

Tabla 3. SNP asociado con el cambio de TBS en un análisis de regresión lineal ajustado

<i>Locus</i>	SNP ID	Genotipos	n	β coeficiente (95% CI) ^a	P valor
CYP24A1	rs6013897	T/T	121	ref.	0,03565
		T/A	63	-1,55 (-2,98 a -0,11)	
		A/A	8		

^a: ajustado por edad, índice de masa corporal y tratamiento previo con tamoxifeno; n: número de pacientes; ref: valor de referencia.



Discusión

Los resultados de este estudio en el que se genotiparon variantes genéticas en genes que participan en las vías de respuesta hormonal de estrógenos y vitamina D demuestran que un SNP ubicado *downstream* del gen *CYP24A1* se asocia significativamente con el cambio del TBS al final de tratamiento con IA. Este mismo SNP se ha asociado recientemente con la DMO de cadera total donde el alelo A estaba asociado a menores niveles de DMO¹⁹.

El gen *CYP24A1* codifica la proteína mitocondrial que inicia la degradación de la 1,25-dihidroxitamina D₃, la forma fisiológicamente activa de la vitamina D₃. Cataliza la 24-hidroxilación dependiente de NADPH del calcidiol (25-hidroxivitamina D₃) y del calcitriol (1-alfa, 25-dihidroxivitamina D₃). La enzima puede realizar hasta 6 rondas de hidroxilación del calcitriol que conduce al ácido calcitroico. También muestra actividad de 23-hidroxilación que produce 1-alfa, 25-dihidroxivitamina D₃-26,23-lactona como producto final. En la regulación del nivel de vitamina D₃, esta enzima juega un papel en la homeostasis del calcio y en el sistema endocrino de la vitamina D. Esta enzima se expresa en varios tejidos principalmente en la corteza suprarrenal y la vejiga según el portal GTEX.

El SNP rs6013897 está asociado con los niveles séricos de 25(OH) vitamina D¹², por lo que un posible mecanismo para el efecto del rs6013897 en el TBS podría ser a través de los cambios de 25(OH) vitamina D séricos; por lo tanto, los niveles de 25(OH) vitamina D se incluyeron posteriormente como covariables en la regresión lineal. Tras el ajuste por vitamina D no varió la asociación del SNP, lo que demuestra que el efecto del SNP sobre el cambio de TBS es independiente de los niveles séricos de vitamina D. Esto puede implicar que la acción del *CYP24A1* puede ser más a nivel local del tejido óseo.

Este es el primer estudio que encuentra una asociación entre el *CYP24A1* y la reducción del TBS debida al tratamiento con IA, lo que pone de manifiesto el papel importante que juega la vitamina D en la prevención del deterioro óseo. De manera interesante cabe destacar que en el caso de la POriA se encontró una asociación significativa con el gen *CYP11A1*¹⁰, mientras que en el caso de la pérdida de TBS el gen asociado es el *CYP24A1*. Estos datos sugieren que tanto la pérdida de masa ósea como la pérdida de TBS relacionadas con los IA están determinadas genéticamente, aunque los genes implicados en los dos fenotipos óseos son diferentes. De todas maneras, estos dos genes pertenecen a la misma vía metabólica, lo que resalta la importancia de la vitamina D en la modulación de los efectos adversos de los IA en el tejido óseo. Esto da más peso al hecho de suplementar a las pacientes con vitamina D, tal y como se está llevando a cabo en la cohorte B-ABLE.

Una limitación del presente estudio es el número de pacientes finalmente incluidos en este análisis específico de nuestra cohorte, que no per-

mitió la detección de efectos alélicos sutiles. Sin embargo, hasta donde sabemos, esta es la cohorte más grande disponible hasta la fecha para los estudios genéticos de TBS en mujeres tratadas con IA. Además, el ser un estudio poblacional con datos obtenidos de la práctica clínica habitual le da fortaleza a los resultados observados. Finalmente, el hecho de trabajar con genes candidatos que previamente han sido asociados con fenotipos óseos o niveles hormonales facilita el encuentro de asociaciones fiables y reduce el número de SNPs del estudio.

En conclusión, se encontró una asociación entre el SNP rs6013897 cerca del gen *CYP24A1*, previamente asociado a los niveles 25(OH) vitamina D séricos, y el deterioro de la microarquitectura ósea relacionada con el tratamiento con IA, medido a través del TBS.

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses en relación a este trabajo.

Financiación: Este trabajo ha sido financiado por el Centro de Investigación Biomédica en Red de Fragilidad y Envejecimiento Saludable (CIBERFES; CB16/10/00245), y las ayudas del PI13/00444 y PI16/00818 (Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Ciencia e Innovación). La *Generalitat* de Cataluña (DIUE 2014 SGR 775) y los fondos FEDER también han contribuido a su financiación.

Bibliografía

1. Cuzick J, Sestak I, Baum M, Buzdar A, Howell A, Dowsett M, et al. Effect of anastrozole and tamoxifen as adjuvant treatment for early-stage breast cancer: 10-year analysis of the ATAC trial. *Lancet Oncol.* 2010;11(12):1135-41.
2. Viale G, Regan MM, Dell'Orto P, Mastropasqua MG, Maiorano E, Rasmussen BB, et al. Which patients benefit most from adjuvant aromatase inhibitors? Results using a composite measure of prognostic risk in the BIG 1-98 randomized trial. *Ann Oncol.* 2011;22(10):2201-7.
3. Servitja S, Martos T, Rodríguez Sanz M, García-Giralt N, Prieto-Alhambra D, Garrigos L, et al. Skeletal adverse effects with aromatase inhibitors in early breast cancer: evidence to date and clinical guidance. *Ther Adv Med Oncol.* 2015;7(5):291-6.
4. Hadji P, Aapro MS, Body JJ, Gnani M, Brandi ML, Reginster JY, et al. Management of Aromatase Inhibitor-Associated Bone Loss (AIBL) in postmenopausal women with hormone sensitive breast cancer: Joint position statement of the IOF, CABS, ECTS, IEG, ESCEO IMS, and SIOG. *J Bone Oncol.* 2017;7:1-12.
5. Redondo L, Puigoriol E, Rodríguez JR, Peris P, Kanterewicz E. Usefulness of the Trabecular Bone Score for assessing the risk of osteoporotic fracture. *Rev Clin Esp.* 2018;218(3):121-7.
6. Siris ES, Brenneman SK, Barrett-Connor E, Miller PD, Sajjan S, Berger ML, et al. The effect of age and bone mineral density on the absolute, excess, and relative risk of fracture in postmenopausal women aged 50-99: results from the National Osteoporosis Risk Assessment (NORA). *Osteoporos Int.* 2006;17(4):565-74.
7. Bousson V, Bergot C, Sutter B, Levitz P, Cortet B, the Scientific Committee of GRIPO (Groupe de Recherche et d'Information sur les Ostéoporoses). Trabecular bone score (TBS): available knowledge, clinical relevance, and



- future prospects. *Osteoporos Int.* 2012;23(5):1489-501.
8. Maria RS, Marta PM, Sonia S, Natalia GG, Tamara M, Ignasi T, et al. TBS and BMD at the end of AI-therapy: A prospective study of the B-ABLE cohort. *Bone.* 2016;92:1-8.
 9. Servitja S, Nogues X, Prieto-Alhambra D, Martinez-García M, Garrigos L, Pena MJ, et al. Bone health in a prospective cohort of postmenopausal women receiving aromatase inhibitors for early breast cancer. *Breast.* 2012;21(1):95-101.
 10. Rodríguez-Sanz M, García-Giralt N, Prieto-Alhambra D, Servitja S, Balcells S, Pecorelli R, et al. CYP11A1 expression in bone is associated with aromatase inhibitor-related bone loss. *J Mol Endocrinol.* 2015;55(1):69-79.
 11. Winer EP, Hudis C, Burstein HJ, Wolff AC, Pritchard KI, Ingle JN, et al. American Society of Clinical Oncology technology assessment on the use of aromatase inhibitors as adjuvant therapy for postmenopausal women with hormone receptor-positive breast cancer: status report 2004. *J Clin Oncol.* 2005;23(3):619-29.
 12. Wang TJ, Zhang F, Richards JB, Kestenbaum B, van Meurs JB, Berry D, et al. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet.* 2010;376(9736):180-8.
 13. Enjuanes A, García-Giralt N, Supervia A, Nogues X, Ruiz-Gaspa S, Bustamante M, et al. A new SNP in a negative regulatory region of the CYP19A1 gene is associated with lumbar spine BMD in postmenopausal women. *Bone.* 2006;38(5):738-43.
 14. 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.* 1996;11(3):306-11.
 15. Langdahl BL, Gravholt CH, Brixen K, Eriksen EF. Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and bone mass, bone turnover and osteoporotic fractures. *Eur J Clin Invest.* 2003;33(7):608-17.
 16. Zarrabeitia MT, Hernández JL, Valero C, Zarrabeitia AL, García-Unzueta M, Amado JA, et al. A common polymorphism in the 5'-untranslated region of the aromatase gene influences bone mass and fracture risk. *Eur J Endocrinol.* 2004;150(5):699-704.
 17. García-Giralt N, Rodríguez-Sanz M, Prieto-Alhambra D, Servitja S, Torres-Del Pliego E, Balcells S, et al. Genetic determinants of aromatase inhibitor-related arthralgia: the B-ABLE cohort study. *Breast Cancer Res Treat.* 2013;140(2):385-95.
 18. Benjamini Y, Drai D, Elmer G, Kafkafi N, Golani I. Controlling the false discovery rate in behavior genetics research. *Behav Brain Res.* 2001;125(1-2):279-84.
 19. Martinaityte I, Jorde R, Emaus N, Eggen AE, Joakimsen RM, Kamycheva E. Bone mineral density is associated with vitamin D related rs6013897 and estrogen receptor polymorphism rs4870044: The Tromso study. *PLoS One.* 2017;12(3):e0173045.