

## Investigación original

# Asociación del polimorfismo FokI del gen VDR y lupus eritematoso sistémico en población adolescente del Caribe colombiano



Gloria Garavito<sup>a,b</sup>, Luis Fang<sup>a</sup>, Alex Domínguez-Vargas<sup>a</sup>, Ana Moreno-Woo<sup>a</sup>, Guillermo López-Luch<sup>c</sup>, Antonio Iglesias<sup>a</sup>, Gustavo Aroca<sup>a,b</sup> y Eduardo Egea<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Medicina, División de Ciencias de la Salud, Universidad del Norte, Barranquilla, Colombia

<sup>b</sup> Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Simón Bolívar, Barranquilla, Colombia

<sup>c</sup> Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (CABD), Universidad Pablo de Olavide-CSIC, Sevilla, España

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 22 de enero de 2021

Aceptado el 8 de abril de 2021

On-line el 15 de julio de 2021

#### Palabras clave:

Lupus eritematoso sistémico

VDR

Vitamina D

Polimorfismo.

### R E S U M E N

**Introducción:** La vitamina D y los polimorfismos en el receptor de vitamina D (VDR) se asocian con enfermedades autoinmunes, incluido el lupus eritematoso sistémico (LES). El objetivo de este estudio es analizar la asociación genética entre los polimorfismos de VDR (*TaqI*, *ApaI*, *BsmI* y *FokI*) y la susceptibilidad al LES, así como su relación con los niveles séricos de vitamina D en población del Caribe colombiano.

**Metodología:** Estudio de casos y controles. Se incluyeron 133 pacientes adultos con diagnóstico de LES y 100 individuos sanos. Los polimorfismos VDR fueron genotipados por RT-PCR y sondas Taqman<sup>®</sup>. Se estimaron asociaciones alélicas, genotípicas y haplotípicas. Las concentraciones séricas de vitamina D fueron cuantificadas por Elisa. Se establecieron valores de 30 a 100 ng/ml como rango normal de referencia. Valores  $p < 0,05$  fueron considerados estadísticamente significativos.

**Resultados:** Se observó una alta prevalencia de LES en pacientes femeninas (94%) y se asoció a mayor riesgo de LES (OR: 10,8; IC 95%: 4,7-24,6;  $p < 0,05$ ). Se evidenció mayor riesgo de LES en individuos con polimorfismo *FokI* del gen VDR [rs2228570] (OR: 1,58; IC 95%: 1,05-2,36) en modelos alélicos. El haplotipo ACCA de los polimorfismos *TaqI*, *ApaI*, *BsmI* y *FokI* se asoció a mayor riesgo de LES (OR: 2,28, IC 95%: 1,12-4,66;  $psim < 0,01$ ). Se evidenció deficiencia de vitamina D en el 11,3% de los pacientes.

**Conclusión:** En este estudio, el polimorfismo VDR rs2228570 y el haplotipo ACCA se asociaron a mayor riesgo de LES en población adolescente.

© 2021 Asociación Colombiana de Reumatología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [eegea@uninorte.edu.co](mailto:eegea@uninorte.edu.co) (E. Egea).

<https://doi.org/10.1016/j.rcreu.2021.04.008>

0121-8123/© 2021 Asociación Colombiana de Reumatología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

## Association of FokI polymorphism of the VDR gene with systemic lupus erythematosus in an adolescent population of the Colombian Caribbean

### A B S T R A C T

#### Keywords:

Systemic lupus erythematosus  
VDR  
Vitamin D  
Polymorphism

**Introduction:** Vitamin D and vitamin D receptor (VDR) polymorphisms are associated with autoimmune diseases including systemic lupus erythematosus (SLE). The aim of this study is to assess the genetic association between VDR polymorphisms: *TaqI*, *Apal*, *BsmI* and *FokI*, and SLE with serum levels of vitamin D in the Colombian Caribbean population.

**Methods:** Case and control study. One hundred and thirty-three patients with SLE and 100 healthy individuals were included. VDR polymorphisms were genotyped by RT-PCR and Taqman<sup>®</sup> probes. Allelic, genotypic and haplotype associations were estimated. Serum vitamin D concentrations were quantified by Elisa. Values of 30 to 100 ng/ml were established as a normal reference range. P values < .05 were considered statistically significant.

**Results:** A high prevalence of SLE was observed in women (94%) and was associated with a higher risk of SLE (OR: 10.8; 95% CI: 4.7-24.6; P < .05). Moreover, higher risk of SLE was observed in individuals with *FokI* VDR [rs2228570] (OR: 1.58; 95% CI: 1.05-2.36) in allelic models. The ACCA Haplotype of *TaqI*/*Apal*/*BsmI*/*FokI* polymorphisms was associated with higher risk of SLE (OR: 2.28; 95% CI: 1.12-4.66; p < .01). Vitamin D deficiency was evidenced in 11.3% of the patients.

**Conclusion:** In this study, the VDR rs2228570 polymorphism and ACCA haplotype were associated with higher SLE risk in an adolescent population.

© 2021 Asociación Colombiana de Reumatología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

## Introducción

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune crónica que se caracteriza por su amplia heterogeneidad epidemiológica, clínica e inmunológica<sup>1</sup>. La fisiopatología se asocia a factores inmunológicos, hormonales, genéticos y ambientales<sup>1-3</sup>. Diversos estudios han reportado los efectos de polimorfismos de nucleótido único (SNP) en la susceptibilidad al LES<sup>4-6</sup>, incluido el gen del receptor de vitamina D (VDR); sin embargo, sus efectos sobre la actividad del VDR aún no se conocen bien<sup>7-9</sup>.

El VDR es el mediador de la actividad biológica de la vitamina D. Se localiza en el núcleo de las células diana, incluidas las células inmunitarias (células presentadoras de antígenos, células *natural killer* y linfocitos B y T)<sup>9-11</sup>. El gen VDR se ubica en el cromosoma 12q13.11 y regula la expresión de genes en varios tejidos que responden a la vitamina D<sup>10,12</sup>.

Además de la regulación de la homeostasis mineral ósea, la 1,25-dihidroxitamina D3 [1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] también participa en la inhibición de la interleucina (IL) 2, la modulación de los fenotipos de células T<sup>13,14</sup>, el incremento en el desarrollo de células T reguladoras<sup>15,16</sup> y la producción de inmunoglobulinas<sup>17</sup>. La 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> inhibe la secreción de interferón y regula la expresión de IL-12 y el factor nuclear kappa-B<sup>11,18</sup>. Un estudio *in vitro* demostró que la 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> tiene un efecto protector en enfermedades autoinmunes<sup>19</sup>. Por lo tanto, la vitamina D3 se considera un regulador del sistema inmunológico<sup>11,20</sup>.

Se han estudiado varios marcadores polimórficos de consecuencia funcional desconocida dentro del gen VDR por su papel potencial en el riesgo de LES. Existen cuatro polimorfismos importantes del gen VDR: *TaqI* (rs731236), ubicado en el

exón 9; *Apal* (rs7975232) en el intrón 8, *BsmI* (rs1544410) en el intrón 9 y *FokI* (rs10735810) en el codón de inicio<sup>8,9,21-23</sup>.

Sin embargo, los resultados de la asociación entre estos polimorfismos del gen VDR y el riesgo de LES son inconsistentes en diferentes estudios realizados en varios grupos de población, principalmente debido a diferentes coeficientes de desequilibrio de ligamiento y bloques de haplotipos en las poblaciones, así como a diferencias en el tamaño de la muestra, estratificación de la población y variación de los factores ambientales entre áreas geográficamente separadas<sup>8</sup>.

Estudios basados en poblaciones han demostrado que los pacientes con LES tienen niveles séricos significativamente bajos de vitamina D<sup>18,24</sup>; así mismo, polimorfismos del gen VDR están asociados a mayores índices de actividad/cronicidad y mayor riesgo de daño orgánico<sup>9,18,25</sup>.

El objetivo de este estudio es analizar la asociación genética entre los polimorfismos de VDR (*TaqI*, *Apal*, *BsmI* y *FokI*) y la susceptibilidad al LES, así como su relación con los niveles séricos de vitamina D en población del Caribe colombiano.

## Metodología

Estudio de casos y controles. Se incluyeron 133 pacientes con diagnóstico de LES y 100 individuos sanos, en etapa de adolescencia (10 a 19 años), grupo etario según la Organización Mundial de la Salud (OMS), procedentes de la ciudad de Barranquilla, en la Costa Caribe colombiana. El diagnóstico de LES se realizó por la presencia de al menos 4 de los 11 criterios según el *American College of Rheumatology* (ACR)<sup>26</sup>. Los pacientes fueron evaluados tanto por consulta especializada como en una institución de cuarto nivel de la ciudad de Barranquilla, Colombia.

Los pacientes no tenían antecedentes de enfermedades sistémicas, otras enfermedades reumáticas, infecciones o malignidades. El grupo control con prueba de ANA negativa no tenía antecedentes de enfermedades autoinmunes ni relación familiar con pacientes con LES.

### Consideraciones éticas

Todos los pacientes y los controles aprobaron por escrito mediante asentimiento o consentimiento informado según eran menores o mayores de edad en su participación voluntaria en el estudio. El presente estudio fue aprobado por el comité de ética institucional de la Universidad del Norte (Resolución N.º 05).

### Extracción de ADN genómico

Un equipo compuesto por flebotomistas, investigadores y médicos se encargó de recolectar 10 ml de sangre venosa periférica en tubos Vacutainer<sup>®</sup>, tanto con *serum separator tube* (SST) como con EDTA dipotásico (Beckton Dickinson & Company, Franklin Lakes, EE. UU. Ref: 367856) por cada participante, para la obtención de suero y la posterior extracción de ADN genómico, respectivamente.

El ADN se extrajo a partir de *buffycoat* (fracción leucoplaquetaria) de sangre anticoagulada y usando el protocolo de *salting out* modificado y precipitación con perclorato de sodio<sup>27</sup>. La concentración y calidad del ADN se midió mediante el espectrofotómetro Nanodrop 2000/2000c (Thermo Scientific, Waltham, MA, EE. UU.). Las muestras de ADN genómico y suero se dividieron en alícuotas y se almacenaron a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis.

### Concentraciones séricas de vitamina D

Las concentraciones séricas de 25-hidroxivitamina D se midieron mediante técnicas de inmunoanálisis enzimático: IDS-iSYS 25-Hydroxy Vitamin D (Immunodiagnosis Systems Ltd. Boldon, Tyne & Wear, Reino Unido). Los valores de referencia se establecieron según los criterios del *Institute of Medicine* (IOM), donde  $< 10\text{ ng/ml}$  de 25(OH)D corresponde a niveles deficientes;  $10\text{ ng/ml}$  a  $< 30\text{ ng/ml}$ , vitamina D insuficiente;  $\geq 30$  a  $< 100\text{ ng/ml}$ , vitamina D suficiente, y  $\geq 100\text{ ng/ml}$ , posible intoxicación de vitamina D<sup>28</sup>.

### Genotipificación de SNP

Los polimorfismos del gen VDR (*TaqI* [rs731236 A/G], *ApaI* [rs7975232 A/C], *FokI* [rs2228570 A/G] y *BsmI* [rs1544410 C/T]) fueron genotipificados mediante PCR en tiempo real (RT-PCR), utilizando estuches disponibles comercialmente: TaqMan<sup>®</sup> SNP Genotyping (Assay ID: C...16021387\_20, C...2404008\_10; C...28977635\_10; C...12060045\_20 y C...8716062\_10; respectivamente [Applied Biosystems, Foster City, CA, EE.UU.]).

Los ensayos de genotipificación se realizaron en un equipo de RT-PCR ABI Prism 7300, de Applied Biosystems, utilizando un volumen total por reacción de  $5\ \mu\text{l}$  ( $2,4\ \mu\text{l}$  de DNA a una concentración aproximada de  $10\text{ ng}/\mu\text{l}$ ,  $2,5\ \mu\text{l}$  de Master Mix-2x y  $0,125\ \mu\text{l}$  de sondas Taqman Genotyping-40x específicas de cada SNP).

Todas las reacciones de PCR se realizaron por duplicado. El programa de ciclado consistió en un paso inicial de 10 min a  $95^{\circ}\text{C}$ , seguido por 40 ciclos de 15 s a  $92^{\circ}\text{C}$  y 1 min a  $60^{\circ}\text{C}$  por ciclo. La asignación genotípica se realizó automáticamente mediante la aplicación de *Allelic Discrimination* del sistema Applied Biosystems, la cual tuvo en cuenta una calidad de amplificación  $\geq 90\%$  por muestra.

### Análisis estadístico

Se estimaron las frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas en los grupos de estudio. En este estudio se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia. Las frecuencias alélicas fueron usadas para estimar el equilibrio genético de Hardy-Weinberg; además, se llevó a cabo el análisis de asociación genética con LES a nivel de alelos mediante el software Arlequin v3.5.

El análisis de asociación a nivel de genotipos se realizó mediante la prueba de  $\chi^2$  de Pearson, con corrección de Bonferroni del valor de p, en el software estadístico SPSS v20 (IBM<sup>®</sup> SPSS<sup>®</sup> Statistics 20; IBM Corp., EE.UU.). Para estos dos análisis se estimó además el riesgo de LES asociado a cada genotipo o alelo, dependiendo del caso, mediante el cálculo de *odd ratios* (OR) y sus correspondientes intervalos de confianza del 95%, usando modelos de regresión logística ajustados por la variable género.

Los análisis de asociación entre los polimorfismos y las concentraciones séricas de vitamina D (datos cuantitativos) se realizaron mediante las pruebas de U de Mann-Whitney y Kruskal Wallis, según el caso, expresando los valores de media  $\pm$  desviación estándar (DE). Por otra parte, los análisis con los datos categóricos de vitamina D se realizaron mediante la prueba de  $\chi^2$  de Pearson o la prueba exacta de Fisher en los casos con valores esperados  $< 5$ , con corrección de Bonferroni del valor de p.

Para el análisis de asociación por haplotipos se empleó el paquete estadístico «Haplo.stats v1.6.8» (R versión 3.0.2; <http://www.r-project.org>)<sup>29</sup>; con este paquete se emplearon las funciones Haplo.cc (Modelos de regresión logística para la estimación de riesgo: OR [IC 95%], excluyendo haplotipos con frecuencias  $< 1\%$ ) y, además, se ejecutaron 10.000 simulaciones para el refinamiento del valor de p, representado como [psim]) y Haplo.glm (Modelo de regresión lineal generalizado para la estimación de asociaciones con rasgos numéricos). La significancia estadística fue interpretada como  $p < 0,05$ .

## Resultados

En la muestra estudiada, la edad promedio fue de  $16,19 \pm 3,48$  años; el 94% ( $n = 125$ ) fueron pacientes femeninas. El sexo femenino se asoció como factor de riesgo para LES (OR: 10,8; IC 95%: 4,7-24,6).

La distribución del equilibrio de Hardy-Weinberg demostró que los polimorfismos VDR: *ApaI* [rs7975232] y *BsmI* [rs1544410] no se encontraron en equilibrio genético para los grupos de controles y casos, respectivamente ( $p < 0,05$ ) (tabla 1).

Al comparar las frecuencias genotípica y alélica de los polimorfismos de VDR en pacientes con LES y grupo control, se evidenció una frecuencia del alelo A del polimorfismo *FokI*

**Tabla 1 – Comparación de la frecuencia genotípica y alélica de los polimorfismos del receptor de vitamina D en pacientes con lupus eritematoso sistémico y grupo control**

VDR	Casos (n = 133)	H-W	Controles (n = 100)	H-W	OR	IC 95%	p <sup>a</sup>
<b>FokI [rs2228570]</b>							
AA, n (%)	20 (18)		12 (12)		2,12	(0,9-4,8)	0,081
AG, n (%)	51 (45,9)		37 (37)		1,75	(0,9-3,17)	
GG, n (%)	40 (36)		51 (51)		0,47	(0,20-1,07)	
A, n (%)	91 (41)	1,00	61 (30,5)	1,00	1,58	(1,05-2,36)	0,025*
G, n (%)	131 (59)		139 (69,5)		0,63	(0,42-0,94)	
<b>Apal [rs7975232]</b>							
AA, n (%)	25 (22,5)		24 (24)		0,61	(0,2-1,4)	0,317
AC, n (%)	59 (53,2)		60 (60)		0,58	(0,2-1,1)	
CC, n (%)	27 (24,3)		16 (16)		1,62	(0,7-3,7)	
A, n (%)	109 (49,1)	1,00	108 (54)	0,03*	0,82	(0,56-1,20)	0,314
C, n (%)	113 (50,9)		92 (46)		1,21	(0,83-1,78)	
<b>TaqI [rs731236]</b>							
AA, n (%)	67 (60,4)		56 (56)		2,39	(0,6-8,3)	0,371
AG, n (%)	40 (36)		36 (36)		2,22	(0,6-8,0)	
GG, n (%)	4 (3,6)		8 (8)		0,41	(0,1-1,46)	
A, n (%)	174 (78,4)	1,00	148 (74)	1,00	1,27	(0,81-1,99)	0,291
G, n (%)	48 (21,6)		52 (26)		0,78	(0,5-1,23)	
<b>BsmI [rs1544410]</b>							
CC, n (%)	55 (49,5)		55 (55)		2,33	(0,5-9,4)	0,169
CT, n (%)	53 (47,7)		38 (38)		3,25	(0,7-13,4)	
TT, n (%)	3 (2,7)		7 (7)		0,42	(0,1-1,7)	
C, n (%)	163 (73,4)	0,04*	148 (74)	1,00	0,97	(0,62-1,49)	0,893
T, n (%)	59 (26,6)		52 (26)		1,03	(0,6-1,59)	

H-W: test de equilibrio de Hardy-Weinberg, mejorado con 100.000 pasos de la cadena Markov.

OR [IC 95%]: modelos de regresión logística.

<sup>a</sup> Razón de verosimilitud de  $\chi^2$ .

\*  $p < 0,05$  con corrección de Bonferroni.

[rs2228570] significativamente más alta en los casos que en los controles (41 vs. 30%), asociado a un riesgo 1,58 veces mayor de LES (OR: 1,58; IC 95%: 1,05-2,36;  $p = 0,025$ ) (tabla 1).

El análisis por haplotipo demostró que, en el locus VDR, el haplotipo ACCA de los polimorfismos TaqI/ApaI/BsmI/FokI se asoció a un riesgo 2,28 veces mayor de LES (OR: 2,28; IC 95%: 1,12-4,66;  $p = 0,0$ ) (tabla 2).

Al analizar la expresión sérica de vitamina D se encontró que los casos evidenciaron concentraciones séricas significativamente mayores, en comparación con los controles (49,5  $\pm$  24,06 ng/ml vs. 38,6  $\pm$  13,23 ng/ml) ( $p = 0,00$ ) (fig. 1). Se evidenció deficiencia de vitamina D en 11,3% de los pacientes (fig. 2).

## Discusión

En el presente estudio se observó una mayor frecuencia del alelo A del polimorfismo FokI [rs2228570] en los casos, lo que estuvo asociado a un riesgo mayor de LES. No hubo significancia estadística entre los polimorfismos ApaI [rs7975232], TaqI [rs731236] y BsmI [rs1544410] y LES en los modelos codominantes, ni tampoco en los alélicos. El haplotipo ACCA de los polimorfismos TaqI, ApaI, BsmI y FokI se asoció a mayor riesgo de LES. Adicionalmente, los individuos con LES presentaron concentraciones séricas significativamente mayores de vitamina D.

El LES está asociado a la sobreproducción de citocinas. Los cambios en el equilibrio de la secreción de citocinas Th1 y Th2 hacia la sobreproducción de citocinas Th2 median la hiperactividad de las células B, las cuales promueven la diferenciación de las células plasmáticas y la producción de anticuerpos<sup>30-32</sup>. El incremento en la generación de autoanticuerpos y el depósito de complejos inmunes son la piedra angular de las manifestaciones clínicas del LES, como la nefritis lúpica, las citopenias y las artralgias<sup>33-35</sup>.

La vitamina D permite una mayor tolerancia al limitar la producción de citocinas proinflamatorias como la IL-12, la cual es una citocina polarizante de células T en células Th1 y aumenta la producción de citocinas antiinflamatorias como la IL-10. Por consiguiente, disminuye la autorreactividad y es uno de los muchos mecanismos por los cuales la vitamina D puede disminuir la expresión de enfermedades autoinmunes<sup>9,10,36</sup>.

Abou-Raya et al.<sup>37</sup> evaluaron los efectos de la suplementación con vitamina D sobre citocinas inflamatorias (IL-1, IL-6 y factor de necrosis tumoral alfa), así como la producción de anti-dsDNA y anti-Sm en pacientes con LES con insuficiencia de vitamina D. Los niveles de IL-1, IL-6 y factor de necrosis tumoral alfa disminuyeron significativamente y mejoraron las puntuaciones del Systemic Lupus Erythematosus Activity Index (Sledai)<sup>38</sup> en pacientes con LES que recibieron suplementos de vitamina D, en comparación con el grupo placebo<sup>37</sup>. Se resalta el papel inmunomodulador de la vitamina D, lo que demuestra

**Tabla 2 – Análisis de haplotipos de los polimorfismos del receptor de vitamina D en pacientes con lupus eritematoso sistémico y grupo de control**

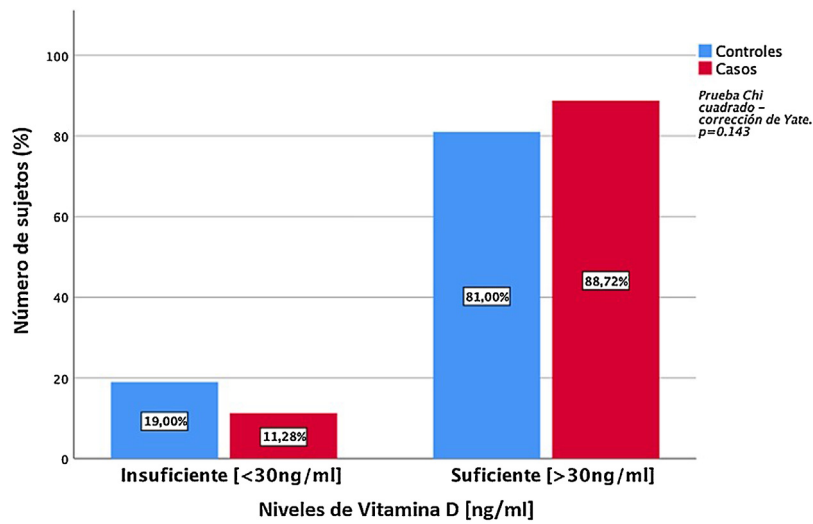
TaqI [rs731236]	ApaI [rs7975232]	BsmI [rs1544410]	FokI [rs2228570]	Controles (n=100) (%)	Casos (n=133) (%)	p <sup>a</sup>	p simulado <sup>b</sup>	OR <sup>c</sup>	IC 95%
A	A	C	G	0,23	0,158	0,052	0,058	0,90	(0,4-1,7)
G	A	T	G	0,13	0,107	0,114	0,107	0,95	(0,4-2,2)
A	C	C	G	0,298	0,215	0,135	0,137	1	—
G	A	T	A	0,103	0,0726	0,666	0,669	0,94	(0,4-2,2)
A	A	C	A	0,0601	0,0642	0,593	0,600	1,28	(0,4-3,6)
A	C	C	A	0,14	0,259	0,00*	0,00*	2,28	(1,12-4,66)
A	A	T	G	0,0094	0,0575	0,00*	0,00*	14,7	(0,2-767)

<sup>a</sup> Valor de p empírico.

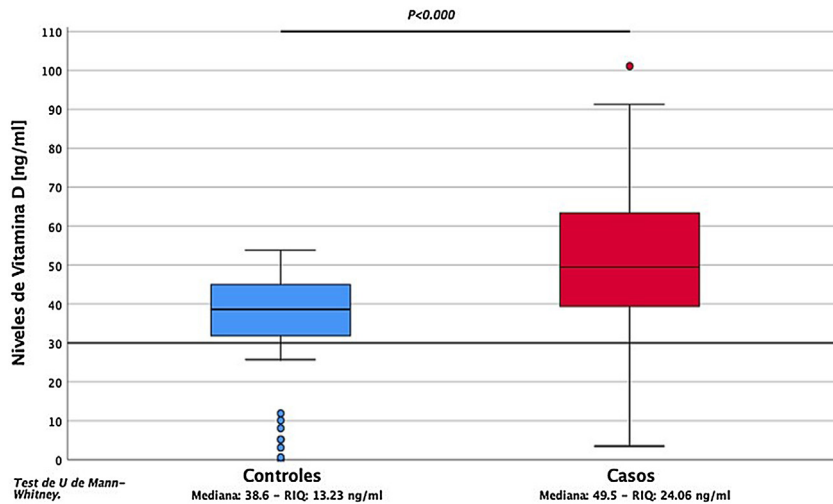
<sup>b</sup> Valor de p simulado.

<sup>c</sup> Valor de referencia para el modelo de regresión logística.

\* p < 0,05 con corrección de Bonferroni.



**Figura 1 – Comparación de niveles séricos de vitamina D (ng/ml) entre casos con lupus eritematoso sistémico y controles.**



**Figura 2 – Comparación de niveles séricos de vitamina D (ng/ml) según valores de referencia entre casos con lupus eritematoso sistémico y controles.**

que la deficiencia está asociada a mayores índices de actividad en enfermedades autoinmunes, incluido el LES<sup>9,10,36</sup>.

Los efectos de la vitamina D están mediados por la unión de alta afinidad del VDR que se une a la forma activa de la vitamina D 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> y se distribuye en diversos tejidos<sup>17,36</sup>. El gen VDR es muy polimórfico; sin embargo, los polimorfismos rs7975232 y rs7975232 en el intrón 8, rs731236 en el exón 9 y rs2228570 en el codón de inicio son las variantes más estudiadas<sup>39</sup>. En los últimos años, diferentes estudios han arrojado resultados contradictorios sobre la asociación entre los polimorfismos del gen VDR y el riesgo de LES<sup>9,10,23,40,41</sup>. Las posibles razones de esta disparidad pueden ser tamaños de muestra pequeños, bajo poder estadístico o heterogeneidad clínica<sup>8</sup>.

Un metaanálisis incluyó 11 estudios con 1.621 casos y 1.883 controles que asociaron los polimorfismos *BsmI*, *FokI*, *ApaI* o *TaqI* del gen VDR con el riesgo de LES<sup>41</sup>. Se observó una asociación entre el alelo *BsmI*B y la aparición de LES en las poblaciones en general (OR: 1,726; IC 95%: 1,214-2,455) y asiáticos (OR: 1,952; IC 95%: 1,135-3,355). Los polimorfismos *FokI*T/C y *TaqI* no se asociaron con el riesgo de LES en el caso de los caucásicos. No hubo asociación significativa entre el polimorfismo *ApaI* y el riesgo de LES para las poblaciones en general, asiáticos y caucásicos<sup>41</sup>. En un estudio llevado a cabo por Monticelio et al.<sup>42</sup> los polimorfismos VDR rs1544410 y rs2228570 no se relacionaron con LES en la población europea, pero se evidenciaron concentraciones más altas de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> en pacientes portadores del genotipo rs2228570 ff<sup>42</sup>.

En nuestra población no se encontraron asociaciones significativas entre los polimorfismos *BsmI*, *ApaI* y *TaqI* y el riesgo de LES. Sin embargo, sí se evidenció una mayor susceptibilidad mediante el polimorfismo *FokI* en modelos alélicos, solamente en concordancia con series en población árabe, tales como las descritas por Imam et al.<sup>43</sup> y Emerah y El-Shal<sup>40</sup>, con riesgos de susceptibilidad a LES de OR: 1,617; IC 95%: 1,282-2,041; p < 0,000, y OR: 1,948; IC 95%: 1,330-2,853; p < 0,001, respectivamente.

Emerah y El-Shal<sup>40</sup> llevaron a cabo un estudio para evaluar los polimorfismos y haplotipos del gen VDR (*ApaI*, *BsmI* y *FokI*) como factores de riesgo o marcadores de actividad del LES, y encontraron que el genotipo *ApaI*AA, el alelo *BsmI*B, los genotipos Bb, BB, el alelo *FokI*F y el genotipo FF de VDR aumentaron en el grupo LES. Además, los niveles séricos de la vitamina D 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> aumentaron en los pacientes con LES portadores del genotipo *FokI*ff en comparación con los pacientes portadores del genotipo FF.

En otro metaanálisis (13 estudios), Zhou et al.<sup>44</sup> observaron la asociación entre los alelos rs1544410B y rs2228570f y la susceptibilidad al LES en la población general, asiáticos y africanos, pero no en los caucásicos. En africanos, los genotipos rs1544410 BB/bb, rs2228570 ff y rs7975232 AA/aa se asociaron con LES. Sin embargo, no hubo una asociación significativa entre VDR rs1544410, rs2228570, rs7975232 y rs731236 y susceptibilidad al LES en caucásicos.

La exposición a la luz solar en el LES tiene un doble efecto, ya que los rayos ultravioleta B son esenciales para la síntesis cutánea de vitamina D y, al mismo tiempo, un posible desencadenante de un brote de LES<sup>45,46</sup>. Los niños con LES son propensos a la deficiencia de vitamina D, puesto que evitan la

luz solar debido a la fotosensibilidad, el uso de protector solar, la inactividad física secundaria al dolor o la fatiga y el uso crónico de medicamentos como corticosteroides y antipalúdicos que pueden mejorar la depuración de vitamina D<sup>47-51</sup>.

La hipovitaminosis D está asociada a mayor consumo del complemento y mayores índices de actividad de la enfermedad. Ospina-Caicedo et al.<sup>24</sup>, en un estudio transversal de 69 pacientes con LES, encontraron que el 36,2% de los pacientes tenían bajos niveles de vitamina D, lo cual fue superior a nuestro estudio (11,3%); los niveles más bajos se encontraron en pacientes con actividad moderada a severa por puntaje Sledai. Además, se evidenció mayor consumo de proteínas del complemento y altos títulos de anti-dsDNA (p = 0,006). Los pacientes que recibieron esteroides (0,5-1 mg/kg) tenían niveles promedios de vitamina D inferiores, comparados con los que no recibieron corticoterapia (p = 0,048). Por lo tanto, se considera importante evaluar la suplementación de vitamina D en pacientes con LES, especialmente cuando reciben corticoterapia.

Azab et al.<sup>51</sup> evidenciaron que la hipovitaminosis D es altamente prevalente (57%) entre los niños y adolescentes egipcios con LES. Por su parte, Yap et al.<sup>50</sup> detectaron una deficiencia de vitamina D en más de una cuarta parte de los pacientes australianos adultos con LES, con una alta proporción de caucásicos en su cohorte. Un estudio francés multicéntrico realizado por Schoindre et al.<sup>49</sup> informó hallazgos similares, y los autores concluyeron que se observó un estado subóptimo de vitamina D en más del 80% de los pacientes con LES. Sin embargo, contrariamente a la mayoría de los reportes, en nuestro estudio se evidenciaron mayores niveles de vitamina D en los casos con LES que en los controles, lo cual sugiere que nuestra población reside en áreas que se benefician de suficiente luz solar; asimismo, es señal de un adecuado esquema de suplementación de vitamina D en corticoterapia y, además, podría sugerir una menor presencia de anticuerpos anti-vitamina D entre los casos, lo cual requiere evaluación en estudios futuros<sup>52</sup>.

En conclusión, el presente estudio demostró la asociación entre el polimorfismo VDR *FokI* rs2228570 en modelos alélicos y el haplotipo ACCA de los polimorfismos *TaqI*, *ApaI*, *BsmI* y *FokI* y un mayor riesgo de LES en población adolescente. Son necesarios más estudios para evaluar los efectos de estos polimorfismos en el LES, especialmente sus manifestaciones funcionales en otros grupos étnicos con tamaños de muestra más grandes para confirmar o refutar nuestros hallazgos.

### Limitaciones

En nuestro conocimiento, este es el primer estudio que evalúa los polimorfismos del gen VDR en adolescentes con LES del Caribe colombiano. Sin embargo, existen algunas limitaciones en nuestro estudio que pueden afectar los resultados. Una de tales limitaciones fue la no obtención de variables clínicas e inmunológicas que limitaran establecer asociaciones entre los niveles de vitamina D, los polimorfismos del gen VDR y la actividad del LES; además, el tamaño de muestra fue relativamente pequeño. Debido a que los resultados de la asociación entre polimorfismos VDR y LES han sido diferentes en distintas razas y etnias, se necesitan más inves-

tigaciones que permitan distinguir tales variables en nuestra región.

## Financiación

El estudio fue cofinanciado por Minciencias, Universidad Simón Bolívar y Universidad del Norte, a través del proyecto N° 840 de 2017, convocatoria 777 en la ciudad de Barranquilla, Colombia.

## Conflicto de intereses

Ninguno.

## Agradecimientos

Los autores desean expresar agradecimiento a la Universidad Simón Bolívar y a la Universidad del Norte por la financiación del presente estudio. Deseamos expresar además nuestros agradecimientos a todos los pacientes participantes del estudio.

## BIBLIOGRAFÍA

- Lightstone L. Lupus nephritis: Where are we now? *Curr Opin Rheumatol.* 2010;22:252-6, <http://dx.doi.org/10.1097/BOR.0b013e3283386512>.
- Davidson A. What is damaging the kidney in lupus nephritis? *Nat Rev Rheumatol.* 2016;12:143-53, <http://dx.doi.org/10.1038/nrrheum.2015.159>.
- Kashgarian M. Lupus nephritis: Pathology, pathogenesis, clinical correlations and prognosis. En: Wallace D, Hahn B, Dubois E, editores. *Dubois' Lupus Erythematosus*. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2002. p. 1061-76.
- Salimi S, Mohammadoo-Khorasani M, Tabatabai E, Sandoughi M, Zakeri Z, Naghavi A. XRCC1 Arg399Gln and Arg194Trp polymorphisms and risk of systemic lupus erythematosus in an Iranian population: A pilot study. *Biomed Res Int.* 2014;2014:1-5, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/492956>.
- Moudi B, Salimi S, Farajian Mashhadi F, Sandoughi M, Zakeri Z. Association of FAS and FAS ligand genes polymorphism and risk of systemic lupus erythematosus. *Sci World J.* 2013;2013:1-6, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/176741>.
- Cui Y, Sheng Y, Zhang X. Genetic susceptibility to SLE: Recent progress from GWAS. *J Autoimmun.* 2013;41:25-33, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaut.2013.01.008>.
- Narooie-Nejad M, Moossavi M, Torkamanzehi A, Moghtaderi A, Salimi S. Vitamin D receptor gene polymorphism and the risk of multiple sclerosis in South Eastern of Iran. *J Mol Neurosci.* 2015;56:572-6, <http://dx.doi.org/10.1007/s12031-015-0513-x>.
- Bae SC, Lee YH. Vitamin D receptor FokI, TaqI, and ApaI polymorphisms and susceptibility to systemic lupus erythematosus: an updated meta-analysis. *Clin Rheumatol.* 2018;37:1529-37, <http://dx.doi.org/10.1007/s10067-018-4036-z>.
- Monticelo OA, Teixeira TDM, Chies JAB, Brenol JCT, Xavier RM. Vitamin D and polymorphisms of VDR gene in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol.* 2012;31:1411-21, <http://dx.doi.org/10.1007/s10067-012-2021-5>.
- Watad A, Neumann SG, Soriano A, Amital H, Shoenfeld Y. Vitamin D and systemic lupus erythematosus: Myth or reality? *Isr Med Assoc J.* 2016;18:177-82.
- Boonstra A, Barrat FJ, Crain C, Heath VL, Savelkoul HF, O'Garra A. 1 $\alpha$ , 25-Dihydroxyvitamin D3 has a direct effect on naive CD4+ T cells to enhance the development of Th2 cells. *J Immunol.* 2001;167:4974-80, <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.167.9.4974>.
- Miyamoto K, Kesterson RA, Yamamoto H, Taketani Y, Nishiwaki E, Tatsumi S, et al. Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. *Mol Endocrinol.* 1997;11:1165-79, <http://dx.doi.org/10.1210/mend.11.8.9951>.
- von Essen MR, Kongsbak M, Schjerling P, Olgaard K, Odum N, Geisler C. Vitamin D controls T cell antigen receptor signaling and activation of human T cells. *Nat Immunol.* 2010;11:344-9, <http://dx.doi.org/10.1038/ni.1851>.
- Smith-Garvin JE, Koretzky GA, Jordan MS. T cell activation. *Annu Rev Immunol.* 2009;27:591-619, <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132706>.
- Ghoreishi M, Bach P, Obst J, Komba M, Fleet JC, Dutz JP. Expansion of antigen-specific regulatory T cells with the topical vitamin D analog calcipotriol. *J Immunol.* 2009;182:6071-8, <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.0804064>.
- Gorman S, Kuritzky LA, Judge MA, Dixon KM, McGlade JP, Mason RS, et al. Topically applied 1,25-dihydroxyvitamin D3 enhances the suppressive activity of CD4+ CD25+ cells in the draining lymph nodes. *J Immunol.* 2007;179:6273-83, <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.179.9.6273>.
- Chen S, Sims GP, Chen XX, Gu YY, Chen S, Lipsky PE. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human B cell differentiation. *J Immunol.* 2007;179:1634-47, <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.179.3.1634>.
- Sabio JM, Vargas-Hitos JA, Martinez-Bordonado J, Navarrete-Navarrete N, Díaz-Chamorro A, Olvera-Porcel C, et al. Association between low 25-hydroxyvitamin D, insulin resistance and arterial stiffness in nondiabetic women with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2015;24:155-63, <http://dx.doi.org/10.1177/0961203314551811>.
- Koizumi T, Nakao Y, Matsui T, Nakagawa T, Matsuda S, Komoriya K, et al. Effects of corticosteroid and 1,24R-dihydroxy-vitamin D3 administration on lymphoproliferation and autoimmune disease in MRL/MP-lpr/lpr mice. *Int Arch Allergy Appl Immunol.* 1985;77:396-404, <http://dx.doi.org/10.1159/000233815>.
- Di Rosa M, Malaguarnera M, Nicoletti F, Malaguarnera L. Vitamin D3: A helpful immuno-modulator. *Immunology.* 2011;134:123-39, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2567.2011.03482.x>.
- Cauci S, Maione V, Buligan C, Linussio M, Serraino D, Stinco G. Bsmf (rs1544410) and FokI (rs2228570) vitamin D receptor polymorphisms, smoking, and body mass index as risk factors of cutaneous malignant melanoma in northeast Italy. *Cancer Biol Med.* 2017;14:302-18, <http://dx.doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2017.0064>.
- Jiang LL, Zhang C, Zhang Y, Ma F, Guan Y. Associations between polymorphisms in VDR gene and the risk of osteoporosis: A meta-analysis. *Arch Physiol Biochem.* 2020;1-8, <http://dx.doi.org/10.1080/13813455.2020.1787457>.
- Zhang WT, Jin TF, Chen L. Associations of four common VDR polymorphisms with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: Evidence from a meta-analysis. *Lupus.* 2020;29:364-70, <http://dx.doi.org/10.1177/0961203320909432>.
- Ospina-Caicedo AI, Cardona-Rincón AD, Bello-Gualtero JM, Valle-Oñate R, Romero-Sánchez C, Chalem-Choueka P, et al. Lower levels of vitamin D associated with disease activity in Colombian patients with systemic lupus erythematosus. *Curr Rheumatol Rev.* 2019;15:146-53, <http://dx.doi.org/10.2174/1573397114666181015161547>.
- De Azevedo Silva J, Addobbati C, Sandrin-Garcia P, Crovella S. Systemic lupus erythematosus: old and new susceptibility

- genes versus clinical manifestations. *Curr Genomics*. 2014;15:52-65, <http://dx.doi.org/10.2174/138920291501140306113715>.
26. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD, et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012;64:797-808, <http://dx.doi.org/10.1002/acr.21664>.
  27. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;16:1215, <http://dx.doi.org/10.1093/nar/16.3.1215>.
  28. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: What clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:53-8, <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2010-2704>.
  29. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2018. <https://www.R-project.org/>.
  30. Muhammad Yusoff F, Wong KK, Mohd Redzwan N. Th1, Th2, and Th17 cytokines in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*. 2020;53:8-20, <http://dx.doi.org/10.1080/08916934.2019.1693545>.
  31. Akahoshi M, Nakashima H, Tanaka Y, Kohsaka T, Nagano S, Ohgami E, et al. Th1/Th2 balance of peripheral T helper cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1999;42:1644-8, [http://dx.doi.org/10.1002/1529-0131\(199908\)42:8<1644::AID-ANR12>3.0.CO;2-L](http://dx.doi.org/10.1002/1529-0131(199908)42:8<1644::AID-ANR12>3.0.CO;2-L).
  32. Chan RW, Lai FM, Li EK, Tam LS, Chow KM, Li PK, et al. Imbalance of Th1/Th2 transcription factors in patients with lupus nephritis. *Rheumatology*. 2006;45:951-7, <http://dx.doi.org/10.1093/rheumatology/kei029>.
  33. Moulton VR, Suarez-Fueyo A, Meidan E, Li H, Mizui M, Tsokos GC. Pathogenesis of human systemic lupus erythematosus: A cellular perspective. *Trends Mol Med*. 2017;23:615-35, <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2017.05.006>.
  34. Wigren M, Nilsson J, Kaplan MJ. Pathogenic immunity in systemic lupus erythematosus and atherosclerosis: Common mechanisms and possible targets for intervention. *J Intern Med*. 2015;278:494-506, <http://dx.doi.org/10.1111/joim.12357>.
  35. Han S, Zhuang H, Shumyak S, Yang L, Reeves WH. Mechanisms of autoantibody production in systemic lupus erythematosus. *Front Immunol*. 2015;6:228, <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2015.00228>.
  36. Aranow C. Vitamin D and the immune system. *J Investig Med*. 2011;59:881-6, <http://dx.doi.org/10.2310/JIM.0b013e318218755>.
  37. Abou-Raya A, Abou-Raya S, Helmi M. The effect of vitamin D supplementation on inflammatory and hemostatic markers and disease activity in patients with systemic lupus erythematosus: A randomized placebo-controlled trial. *J Rheumatol*. 2013;40:265-72, <http://dx.doi.org/10.3899/jrheum.111594>.
  38. Uribe AG, Vilá LM, McGwin G, Sanchez ML, Reveille JD, Alarcón GS. The Systemic Lupus Activity Measure-revised, the Mexican Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI), and a modified SLEDAI-2K are adequate instruments to measure disease activity in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2004;31:1934-40, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15468356>.
  39. Xiong DH, Xu FH, Liu PY, Shen H, Long JR, Elze L, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms are linked to and associated with adult height. *J Med Genet*. 2005;42:228-34, <http://dx.doi.org/10.1136/jmg.2004.024083>.
  40. Emerah AA, El-Shal AS. Role of vitamin D receptor gene polymorphisms and serum 25-hydroxyvitamin D level in Egyptian female patients with systemic lupus erythematosus. *Mol Biol Rep*. 2013;40:6151-62, <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-013-2726-9>.
  41. Mao S, Huang S. Association between vitamin D receptor gene BsmI, FokI Apal and TaqI polymorphisms and the risk of systemic lupus erythematosus: A meta-analysis. *Rheumatol Int*. 2014;34:381-8, <http://dx.doi.org/10.1007/s00296-013-2898-6>.
  42. Monticciolo OA, Brenol JC, Chies JA, Longo MG, Rucatti GG, Scalco R, et al. The role of BsmI and FokI vitamin D receptor gene polymorphisms and serum 25-hydroxyvitamin D in Brazilian patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2012;21:43-52, <http://dx.doi.org/10.1177/0961203311421798>.
  43. Imam AA, Ibrahim HE, Farghaly MAA, Alkholy UM, Gawish HH, Abdalmonem N, et al. Vitamin D receptor gene FokI polymorphism in Egyptian children and adolescents with SLE: A case-control study. *Lupus*. 2017;26:1426-34, <http://dx.doi.org/10.1177/0961203317725588>.
  44. Zhou TB, Jiang ZP, Lin ZJ, Su N. Association of vitamin D receptor gene polymorphism with the risk of systemic lupus erythematosus. *J Recept Signal Transduct Res*. 2015;35:8-14, <http://dx.doi.org/10.3109/10799893.2014.922577>.
  45. Barbhaya M, Costenbader KH. Ultraviolet radiation and systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2014;23:588-95, <http://dx.doi.org/10.1177/0961203314530488>.
  46. Barbhaya M, Costenbader KH. Environmental exposures and the development of systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol*. 2016;28:497-505, <http://dx.doi.org/10.1097/BOR.0000000000000318>.
  47. Ahluwalia J, Marsch A. Photosensitivity and photoprotection in patients with lupus erythematosus. *Lupus*. 2019;28:697-702, <http://dx.doi.org/10.1177/0961203319839486>.
  48. Zandman-Goddard G, Solomon M, Rosman Z, Peeva E, Shoenfeld Y. Environment and lupus-related diseases. *Lupus*. 2012;21:241-50, <http://dx.doi.org/10.1177/0961203311426568>.
  49. Schoindre Y, Jallouli M, Tanguy ML, Ghillani P, Galicier L, Aumaitre O, et al. Lower vitamin D levels are associated with higher systemic lupus erythematosus activity, but not predictive of disease flare-up. *Lupus Sci Med*. 2014;1:e000027, <http://dx.doi.org/10.1136/lupus-2014-000027>.
  50. Yap KS, Northcott M, Hoi AB-Y, Morand EF, Nikpour M. Association of low vitamin D with high disease activity in an Australian systemic lupus erythematosus cohort. *Lupus Sci Med*. 2015;2:e000064, <http://dx.doi.org/10.1136/lupus-2014-000064>.
  51. Azab SF, Ali YF, Farghaly MAA, Hamed ME, Allah MAN, Emam AA, et al. Vitamin D receptor gene BsmI polymorphisms in Egyptian children and adolescents with systemic lupus erythematosus: A case-control study. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95:e5233, <http://dx.doi.org/10.1097/MD.0000000000005233>.
  52. Carvalho JF, Blank M, Kiss E, Tarr T, Amital H, Shoenfeld Y. Anti-vitamin D, vitamin D in SLE: Preliminary results. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1109:550-7, <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1398.061>.