

Relación del polimorfismo *TaqI* del gen del receptor de la vitamina D con la lepra lepromatosa en población mexicana

Jesús Salvador Velarde Félix, Biol, D en C Gen Hum,^(1,3) Silvestre Guadalupe Cázarez Salazar, QFB,⁽¹⁾
Rafael Castro Velázquez, Dermatol,^(2,3) José Guadalupe Rendón Maldonado, QFB, D Patol Exper,⁽⁴⁾
Héctor Rangel Villalobos, Biol, D en C Gen Hum.⁽⁵⁾

Velarde-Félix JS, Cázarez-Salazar SG, Castro-Velázquez R, Rendón-Maldonado JG, Rangel-Villalobos H. Relación del polimorfismo *TaqI* del gen del receptor de la vitamina D con la lepra lepromatosa en población mexicana. *Salud Publica Mex* 2009;51:59-61.

Resumen

Objetivo. Determinar la relación del polimorfismo *TaqI* del gen del receptor de la vitamina D (RVD) con la lepra lepromatosa (LL) en individuos originarios de Sinaloa, México. **Material y métodos.** Se amplificó un fragmento de 740 pb del gen RVD en muestras de ADN de 71 pacientes con LL y 144 controles en el Hospital General de Culiacán durante el periodo 2004-2007. El polimorfismo se identificó mediante la endonucleasa *TaqI*. **Resultados.** Se observó un aumento de relevancia estadística del genotipo TT en pacientes con LL en comparación con los controles ($p=0.040$; $RM=1.82$). **Conclusión.** Se demuestra un nexo entre el genotipo TT y la susceptibilidad a la LL.

Palabras clave: polimorfismo; lepra lepromatosa; población mexicana; México

Velarde-Félix JS, Cázarez-Salazar SG, Castro-Velázquez R, Rendón-Maldonado JG, Rangel-Villalobos H. Association between the *TaqI* polymorphism of Vitamin D Receptor gene and lepromatous leprosy in a Mexican population sample. *Salud Publica Mex* 2009;51:59-61.

Abstract

Objective. To establish the association of the vitamin D receptor gene *TaqI* polymorphism with lepromatous leprosy (LL) in individuals from Sinaloa, Mexico. **Material and Methods.** A 740 bp fragment was amplified from the VDR gene in DNA samples of 71 patients with LL and 144 controls in the Hospital General de Culiacán during 2004-2007. Polymorphism was identified through *TaqI* endonuclease. **Results.** A significant increase in the genotype TT of the VDR gene was observed in patients when compared to controls ($p=0.040$; $OR=1.82$). **Conclusions.** Our data support the association between the TT genotype and susceptibility to LL in this Mexican population.

Key words: polymorphism; lepromatous leprosy; mexican population; Mexico

- (1) Centro de Medicina Genómica del Hospital General de Culiacán Dr. Bernardo J. Gastélum, Servicios de Salud de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México.
- (2) Centro Dermatológico de Sinaloa Dr. Jesús Rodolfo Acedo Cárdenas, Servicios de Salud de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México.
- (3) Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México.
- (4) Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México.
- (5) Centro de Investigación en Genética Molecular, Centro Universitario de la Ciénega, Universidad de Guadalajara (CUCiénega-UdeG). Guadalajara, México.

Fecha de recibido: 25 de abril de 2008 • **Fecha de aceptado:** 25 de agosto de 2008
Solicitud de sobretiros: Dr. Jesús Salvador Velarde Félix. Centro de Medicina Genómica del Hospital General de Culiacán Bernardo J. Gastélum. Juan Aldama y Nayarit s/n. col. Rosales. 80230 Culiacán, Sinaloa, México.
Correo electrónico: jsvelfe@hotmail.com

La lepra es una enfermedad granulomatosa crónica secundaria a *Mycobacterium leprae*, que infecta sobre todo a macrófagos tisulares y células de Schwann.¹ Clínicamente se presenta en la forma de lepra tuberculoide (LT), caracterizada por inmunidad celular, citocinas tipo Th1, carga bacilar reducida y lesiones localizadas, o bien como lepra lepromatosa (LL), reconocible por tener una respuesta humoral y un perfil de citocinas Th2, ser progresiva y mostrar un número elevado de bacterias en la lesión.² Los sitios más afectados son la piel, nervios periféricos, mucosas, ojos, testículos, vías respiratorias superiores, músculos y huesos.¹

En México, durante el periodo de 2002 a 2006, se notificaron 1 340 nuevos pacientes con lepra, de los cuales 19.6% se registró en Sinaloa, entidad que representó el primer lugar nacional.³ La gran prevalencia de la enfermedad puede deberse a diversos factores, como los genéticos o los socioeconómicos, entre otros más.

De la predisposición genética o la resistencia a la lepra se han publicado diversos estudios en diferentes poblaciones. En México, Gorodezky y colaboradores encontraron un nexo entre el alelo HLA-DR3 y la LT;⁴ empero, hasta la fecha no se ha investigado la relación del gen RVD con la lepra.

El gen RVD se localiza en el cromosoma 12q12-14; el codón 352 del exón 9 es polimórfico y puede existir como ATC o ATT. Con la sustitución de C por T se pierde un sitio de restricción a *TaqI* y los alelos resultantes se designan como "T" para el alelo silvestre y corresponden a la ausencia del sitio de corte, mientras que "t" es el alelo que confiere el sitio de corte. Los tres genotipos posibles son: TT, Tt y tt y se vinculan con la resistencia del cáncer de próstata,⁵ urolitiasis grave,⁶ susceptibilidad a varias enfermedades infecciosas,⁷ y otras afecciones.

En el caso de la lepra, el genotipo tt se ha relacionado con LT (frecuencia de 21.5% en individuos de la India), en tanto que el TT se ha vinculado con LL (frecuencia de 52.4%);⁸ estos datos difieren de los publicados para Malawi, donde el genotipo tt que se vincula con la susceptibilidad a la lepra muestra una frecuencia de 6%.⁹

En Sinaloa se desconocen la prevalencia y el posible nexo del polimorfismo en pacientes con LL. Éste podría ser el punto de partida para contribuir a dilucidar las bases genéticas y los factores de riesgo de esta enfermedad.

Material y métodos

Se realizó un estudio de casos y controles no pareados en el Hospital General de Culiacán Dr. Bernardo J. Gastélum entre los años 2004 y 2007 en el que se incluyó a un grupo de 71 pacientes (47 varones y 24 mujeres, con límites de edad de 24 a 88 y media de 55.76 años)

con LL, según la clasificación de Ridley-Jopling,¹⁰ así como a un grupo de 144 controles (68 varones y 76 mujeres, con límites de edad de 18 a 62 y una media de 29.17 años) donadores del banco de sangre del Hospital General de Culiacán. Todos los participantes eran sinaloenses y firmaron una carta de consentimiento informado. El comité de ética de dicho hospital aprobó el protocolo. El ADN genómico se obtuvo de sangre periférica a partir del método CTAB-DTAB.¹¹

Los genotipos se identificaron mediante la actividad de la endonucleasa de restricción *TaqI*, previa amplificación por PCR de un fragmento de 740 pb⁵ y se establecieron mediante el método de conteo las frecuencias alélicas y genotípicas. A partir de pruebas exactas se determinó si la distribución de genotipos se hallaba en equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) en ambos grupos de estudio. Para vincular los genotipos con la enfermedad se utilizó el estadístico de Pearson (ji cuadrada) y se calculó la razón de momios (RM) con intervalos de confianza del 95%. Las diferencias significativas se determinaron con valores de $p \leq 0.05$. Se empleó el programa DeFinetti (<http://ihg2.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>).

Resultados

Se establecieron las frecuencias alélicas y genotípicas en pacientes y controles (cuadro I). La distribución de genotipos en los controles estuvo en EHW, si bien en los pacientes se evidenció un ligero desequilibrio ($p = 0.0236$) ya que se observó una menor frecuencia del genotipo Tt (19%) respecto del valor esperado por el modelo de

Cuadro I
DISTRIBUCIÓN DEL POLIMORFISMO *TaqI* DEL GEN DEL RECEPTOR DE LA VITAMINA D EN PACIENTES CON LEPRALPROMATOSA Y CONTROLES. ESTUDIO REALIZADO EN EL HOSPITAL GENERAL DE CULIACÁN DURANTE EL PERIODO 2004-2007

	Pacientes n=71 (%)	Controles n=144 (%)	Valor p
Genotipos			
TT	44 (61.97%)	68 (47.22%)	
Tt	19 (26.77%)	61 (42.36%)	0.56113
tt	8 (11.26%)	15 (10.42%)	
Alelos			
T	107 (75.35%)	197 (68.40%)	0.14
t	35 (24.64%)	91 (31.59%)	

Hardy-Weinberg (26.37%), en contraste con una frecuencia mayor del genotipo *tt* (8 contra 4.31%). Aunque las comparaciones no mostraron diferencias significativas para la frecuencia alélica ($p=0.136$) ni genotípica global ($p=0.561$), se observó una mayor prevalencia del alelo *T* en quienes padecen la enfermedad (41%) en comparación con quienes no la sufren ($RM=1.412$; $IC95\%=0.896-2.227$). De manera similar, se demostró una mayor prevalencia del genotipo *TT* en los pacientes ($p=0.0417$; $RM=0.549$; $IC95\%=0.307-0.981$), a diferencia del genotipo *Tt* cuya frecuencia es mayor en los controles ($p=0.0238$; $RM=0.481$; $IC95\%=0.254-0.912$).

Discusión

En este estudio se investigó la distribución del polimorfismo *TaqI* del gen *RVD* y su relación con *LL* en pacientes originarios del estado de Sinaloa; se encontró evidencia de un nexo tanto del alelo *T* como del genotipo *TT* con la *LL*, debido al aumento del alelo *T* de 41% y del genotipo *TT*, que fue más frecuente en grado notable en los pacientes. El caso contrario fue el del genotipo *Tt*, cuya frecuencia significativamente elevada en controles sugiere que podría jugar un papel de genotipo protector, afirmación que se apoya en un ligero desequilibrio de *HW* (19 contra 26.37%).

El polimorfismo *TaqI* se encuentra en notable desequilibrio de ligamiento con los polimorfismos *BsmI* y *ApaI* del intrón 8 del gen *RVD*,^{5,12} de tal manera que los individuos con el haplotipo *BAt* tienen mayores niveles de Vitamina D (VD).⁵

La VD posee una amplia gama de funciones inmunológicas¹³ y diversos estudios han demostrado que este polimorfismo se vincula con diferentes enfermedades micobacterianas,^{8,14,15} además de que altera el crecimiento de *M. tuberculosis* en células humanas *in vitro*.¹⁶

La relación entre los genotipos *TT* y *Tt* del gen *RVD* en el desarrollo y la protección, respectivamente, evidencia la posible participación de la VD en la respuesta inmunitaria al *Mycobacterium leprae*, aunque sería interesante realizar estudios de los haplotipos formados por los polimorfismos *BsmI*, *ApaI*, *TaqI* y su correlación con los niveles de VD en sujetos con *LL* y *LT* con objeto de explicar la respuesta clínica. Sin embargo, no se descarta un desequilibrio de ligamiento con genes contiguos, como el de la colágena y la proteína *G*, por lo que se requieren más estudios enfocados en identificar sus posibles funciones en la inmunidad contra *M. leprae* (http://vega.sanger.ac.uk/Homo_sapiens/contigview?region=AC121338.6.1.58272).

Agradecimientos

Los autores agradecen el financiamiento para el proyecto Sin-2005-CO1-02 suministrado por el CONACYT-FO-MIX, tanto como los comentarios al manuscrito de Luis E. Figueroa y Luis A. Ochoa.

Referencias

- López-Antuñano F. Diagnóstico y tratamiento de la lepra. *Salud Pública Mex* 1998;40:1-10.
- Eden W, Gonzalez NM, de Vries RR, Convit J, van Rood JJ. HLA-linked control of predisposition to lepromatous leprosy. *J Infect Dis* 1985; 151:9-14.
- Anuario de Morbilidad 2007. Sistema Único de Información Epidemiológica. México: Secretaría de Salud, Dirección General de Epidemiología, 2007.
- Gorodezky C, Flores J, Arevalo N, Castro LE, Silva A, Rodriguez O. Tubercloid leprosy in mexicans is associated with HLA-DR3. *Lepr Rev* 1987; 58: 401-406.
- Taylor JA, Hirvonen A, Watson M, Pittman G, Mohler JL, Bell DA. Association of prostate cancer with vitamin D receptor gene polymorphism. *Cancer Res* 1996;56:4108-4110.
- Seyhan S, Javascaoglu I, Kilickrslan H, Dogan HS, Kordan Y. Association of vitamin D receptor gene *TaqI* polymorphism with recurrent urolithiasis in children. *Int J Urol* 2007;14:1060-1062.
- Hill AV. Aspects of genetic susceptibility to human infectious diseases. *Annu Rev Genet* 2006;40:469-486.
- Roy S, Frodsham A, Saha B, Hazra SK, Mascie-Taylor CG, Hill AV. Association of vitamin D receptor genotype with leprosy type. *J Infect Dis* 1999;179:187-191.
- Fitness J, Floyd S, Warndorff DK, Sichali L, Mwaungulu L, Crampin AC, et al. Large-scale candidate gene study of leprosy susceptibility in the Karonga district of northern Malawi. *Am J Trop Med Hyg* 2004;71:330-340.
- Ridley DS, Jopling WH. Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1966;34:255-273.
- Gustincich S, Manfioletti G, Del Sal G, Schneider C, Carninci P. A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood. *Biotechniques* 1991;11:298-302.
- Bornman L, Campbell SJ, Fielding K, Bah B, Sillah J, Gustafson P, et al. Vitamin D receptor polymorphisms and susceptibility to tuberculosis in West Africa: a case-control and family study. *J Infect Dis* 2004;190: 1631-1641.
- Rigby WF. The immunobiology of vitamin D. *Immunol Today* 1988;9:54-58.
- Gelder CM, Hart KW, Williams OM, Lyons E, Welsh KI, Campbell IA, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and susceptibility to *Mycobacterium malmoense* pulmonary disease. *J Infect Dis* 2000;181:2099-2102.
- Selvaraj P, Chandra G, Jawahar MS, Rani MV, Rajeshwari DN, Narayanan PR. Regulatory role of vitamin D receptor gene variants of *BsmI*, *ApaI*, *TaqI*, and *Fok I* polymorphisms on macrophage phagocytosis and lymphoproliferative response to *mycobacterium tuberculosis* antigen in pulmonary tuberculosis. *J Clin Immunol* 2004;24:523-532.
- Rook GA, Steele J, Fraher L, Barker S, Karmali R, O'Riordan J, et al. Vitamin D3, gamma interferon, and control of proliferation of *Mycobacterium tuberculosis* by human monocytes. *Immunology* 1986;57:159-163.