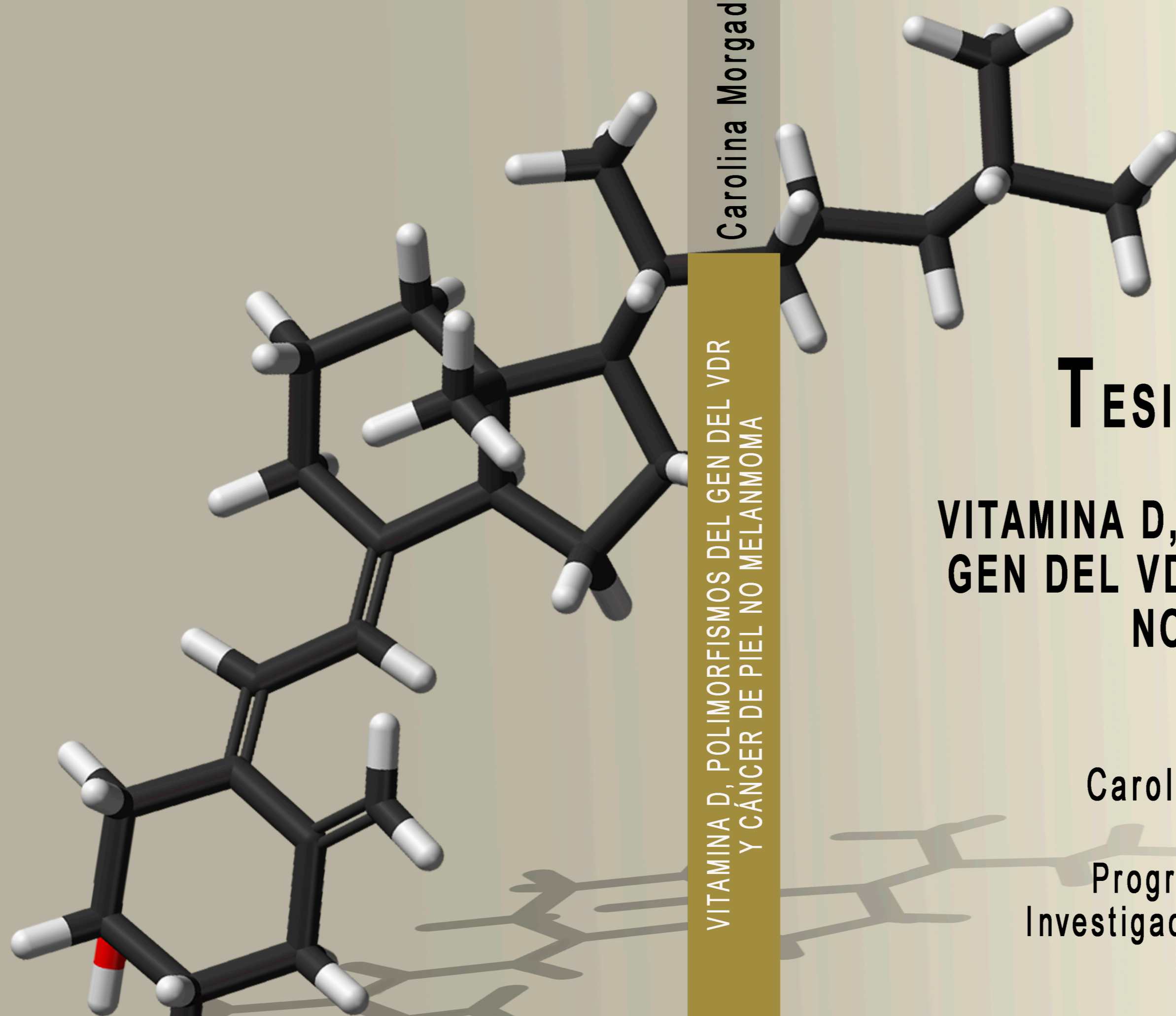


Carolina Morgado Águila

VITAMINA D, POLIMORFISMOS DEL GEN DEL VDR
Y CÁNCER DE PIEL NO MELANOMA



TESIS DOCTORAL

**VITAMINA D, POLIMORFISMOS DEL
GEN DEL VDR Y CÁNCER DE PIEL
NO MELANOMA**

Carolina Morgado Águila

Programa de doctorado:
Investigación biomédica aplicada
(R009)



TESIS DOCTORAL

VITAMINA D, POLIMORFISMOS DEL GEN DEL VDR Y

CÁNCER DE PIEL NO MELANOMA

CAROLINA MORGADO ÁGUILA

**PROGRAMA DE DOCTORADO: INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA APLICADA
(R009)**

Año 2020



TESIS DOCTORAL

***VITAMINA D, POLIMORFISMOS DEL GEN DEL VDR Y
CÁNCER DE PIEL NO MELANOMA***

CAROLINA MORGADO ÁGUILA
PROGRAMA DE DOCTORADO: INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA APLICADA
(R009)

La conformidad de los directores de la tesis consta en el original en papel de esta
Tesis Doctoral.

Fdo.: Dra. Purificación Rey Sánchez

Fdo.: Dr. Francisco José Rodríguez Velasco

Año 2020

Universidad de Extremadura

**Programa de doctorado: Investigación Biomédica Aplicada
(R009)**

VITAMINA D, POLIMORFISMOS DEL GEN DEL VDR Y

CÁNCER DE PIEL NO MELANOMA

**Memoria presentada en la Universidad de Extremadura, como aspirante al
Grado de Doctora por la Universidad de Extremadura, por Dña. Carolina
Morgado Águila.**

*La ciencia progresa mejor
cuando las observaciones
nos fuerzan a alterar
nuestras ideas preconcebidas.*

VERA RUBIN

A Leonor y Carolina.

A Orlando.

A mis padres.

AGRADECIMIENTOS

Al terminar esta tesis afloran en mí dos sentimientos: felicidad por haber conseguido finalizar el trabajo propuesto, no sin dificultades, y agradecimiento hacia todos aquellos que han estado a mi lado impulsándome a cada paso.

Primero, antes que nada, quiero agradecer a mi familia por siempre procurar mi bienestar, por su paciencia infinita, por su apoyo incondicional y por su amor. A mis hijas, Leonor y Carolina, y a mi marido, Orlando, pedirles también disculpas por el tiempo que no les he dedicado. Me hacéis feliz.

Gracias a mis padres por ser los principales promotores de mis sueños, gracias a ellos por cada día confiar y creer en mí y en mis expectativas.

Gracias a mi madre y a mi marido por estar dispuestos a acompañarme cada largo y agotador día de estudio. Bien sabéis que sin vuestra ayuda no habría sido posible concluir este trabajo.

A mis directores de tesis, la Dra. Purificación Rey Sánchez, por su paciencia, dedicación, motivación y aliento en los momentos de desfallecimiento. También por sus múltiples revisiones del trabajo realizado. Sin ti y sin tu apoyo probablemente no se estaría entregando este trabajo hoy. Ha sido un privilegio poder contar con tu guía durante todo el proceso. Al Dr. Francisco José Rodríguez

Velasco, por no tener horarios para resolver mis dudas y, cómo no, por su ayuda estadística e informática. Además de un buen investigador, he tenido la suerte de coincidir con una gran persona.

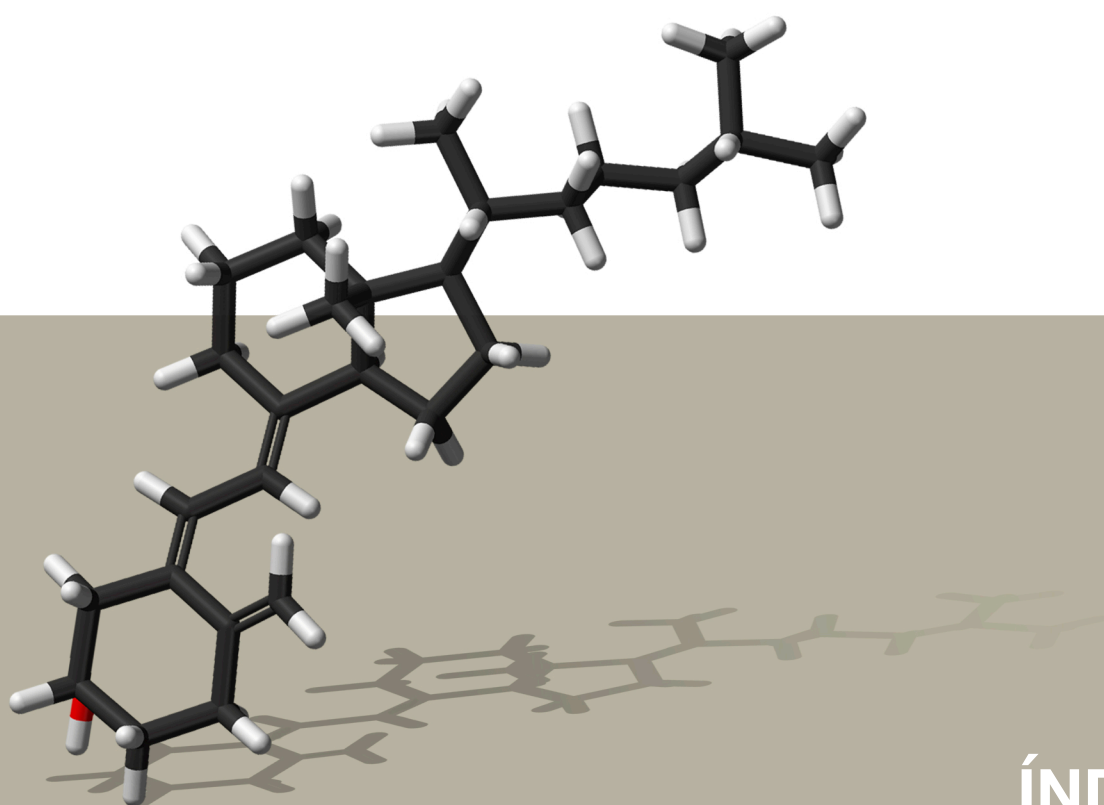
Al Dr. Juan Diego Pedrera Zamorano por sembrar la semilla de la idea de lo que se convertiría años después en esta tesis doctoral. Al Dr. Víctor Manuel Salinas Velasco por sus comentarios siempre certeros y por su revisión exhaustiva de nuestra publicación.

Al personal profesional de enfermería que ha colaborado desinteresadamente en la extracción de muestras sanguíneas. Mi mención especial a la Dra. M^a Carmen Costa Fernández por su colaboración incondicional.

A los amigos que sin darse cuenta han estado impulsándome para culminar este trabajo. Aquí no puedo dejar de mencionar a la Dra. Inmaculada Masa Jurado, que, con su ejemplo de tenacidad y firmeza en el logro de sus propósitos, me ha dado fuerza e ilusión para seguir en momentos críticos.

A todos los que han estado presentes de algún modo y que me apoyaron y creyeron en la realización de esta tesis doctoral.

De corazón, a todos, GRACIAS.



ÍNDICE

ÍNDICE

ÍNDICE	13
Índice de Tablas.....	19
Índice de Figuras	21
Índice de Abreviaturas.....	23
RESUMEN / ABSTRACT	27
Resumen	29
Abstract.....	33
I. INTRODUCCIÓN.....	35
II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	39
2.1 Vitamina D.....	41
2.1.1 Síntesis, metabolismo y regulación de niveles de vitamina D. Factores determinantes de los niveles de 1,25(OH) ₂ D ₃ y 25(OH)D ₃ . Mecanismo de acción y funciones.	41
2.1.2 Acción anticancerosa de la vitamina D.....	55
2.1.3 Vitamina D y su receptor: Función en la piel.	60
2.1.4 Vitamina D, luz solar y enfermedad.	64
2.1.5 Vitamina D, luz solar y cáncer.....	68
2.2 Receptor de la vitamina D (VDR).....	72
2.2.1 Introducción	72

ÍNDICE

2.2.2	Polimorfismos del gen del VDR.....	76
2.2.3	Polimorfismos del gen del VDR y enfermedad.....	81
2.2.4	Polimorfismos del gen del VDR y cáncer.	86
2.3	Cáncer de piel.....	95
2.3.1	Generalidades. Tipos. Prevención.	95
2.3.2	Vitamina D, VDR y cáncer de piel.....	108
2.4	¿Por qué la luz solar aumenta el cáncer de piel si la vitamina D lo disminuye? Un acercamiento.....	127
2.5	“¿Cuál es el futuro? ¿Hacia dónde nos dirigimos?” Vitamina D para prevención y tratamiento.....	131
III.	JUSTIFICACIÓN.....	141
IV.	OBJETIVOS	147
V.	HIPÓTESIS.....	151
VI.	MATERIAL Y MÉTODOS	155
6.1	Muestra de estudio.....	157
6.2	Diseño del estudio.	158
6.3	Toma de muestras cutáneas.....	159
6.4	Selección de polimorfismos y genotipado.....	159
6.5	Determinación de vitamina D.	161
6.6	Análisis estadístico.....	163
6.7	Consideraciones éticas.....	164

VII. RESULTADOS.....	167
7.1 Características descriptivas de la muestra de estudio.....	169
7.2 Polimorfismos del gen del VDR, edad y sexo y riesgo de cáncer de piel no melanoma.	170
7.3 Genotipos combinados <i>BsmI/ApaI</i> en los pacientes con cáncer de piel no melanoma y controles.	177
7.4 Niveles séricos de vitamina D. Análisis descriptivo.	178
VIII. DISCUSIÓN.....	189
8.1 Edad y género y su relación con el cáncer de piel no melanoma.	191
8.2 Polimorfismos del gen del VDR y cáncer de piel no melanoma.	192
8.2.1. <i>BsmI</i>	194
8.2.2. <i>ApaI</i>	195
8.3 Genotipos combinados <i>BsmI/ApaI</i> en pacientes con cáncer de piel no melanoma y controles.	198
8.4 Niveles séricos de vitamina D y cáncer de piel no melanoma.	199
8.5 Niveles séricos de vitamina D, VDR y cáncer de piel no melanoma....	202
8.6 Fortalezas.....	204
8.7 Limitaciones.....	205
IX. CONCLUSIONES.....	207
X. BIBLIOGRAFÍA.....	211
XI. ANEXOS	261
11.1 Anexo 1. Consentimiento informado.....	263

Índice de Tablas

Tabla 1. Polimorfismos del gen del VDR y melanoma. Modificado de Vasilovici <i>et al.</i> (Vasilovici et al., 2019).....	117
Tabla 2. Polimorfismos del gen del VDR y cáncer de piel no melanoma.	126
Tabla 3. Tabla aclaratoria de la correspondencia de nomenclatura.	161
Tabla 4. Características descriptivas de la muestra de estudio.	169
Tabla 5. Genotipo del VDR y riesgo de cancer de piel.....	173
Tabla 6. Estratificación por edad y género y riesgo de cancer de piel.....	174
Tabla 7. Polimorfismos <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> ajustados por sexo y riesgo de cáncer de piel.	175
Tabla 8. Polimorfismos <i>BsmI</i> y <i>Apal</i> ajustados por edad y riesgo de cancer de piel.	176
Tabla 9. Genotipos <i>BsmI/Apal</i> combinados en carcinoma basocelular, carcinoma espinocelular y controles.....	177

Tabla 10. Niveles séricos de vitamina D. Características descriptivas de la muestra.	178
Tabla 11. Caracterización de la muestra según género.	179
Tabla 12. Caracterización de la muestra según niveles de vitamina D y tipo de tumor.....	181
Tabla 13. Tabla cruzada: <i>BsmI</i> * Niveles de vitamina D	183
Tabla 14. Tabla cruzada: <i>ApaI</i> * Niveles de vitamina D.....	183
Tabla 15. Tabla cruzada: Niveles de Vitamina D * Tipo de tumor * <i>BsmI</i> * <i>ApaI</i>	184
Tabla 16. Tabla cruzada: Niveles de Vitamina D * Tipo de tumor * <i>BsmI</i>	186
Tabla 17. Tabla cruzada: Niveles de Vitamina D * Tipo de tumor * <i>ApaI</i>	187
Tabla 18. Comparativa de resultados: Polimorfismos del gen del VDR y cáncer de piel no melanoma	193

Índice de Figuras

Figura 1. Molécula de 25-hidroxicolecalciferol ($25(\text{OH})\text{D}_3$).	42
Figura 2. Molécula de $1\alpha,25$ -dihidroxicolecalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$).....	43
Figura 3. Síntesis y activación de la vitamina D_3	44
Figura 4. Modelo del mecanismo de acción de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ y su receptor, el VDR..	46
Figura 5. Niveles séricos de $25(\text{OH})\text{D}_3$ y su significación clínica.....	47
Figura 6. Nivel bajo de calcio sérico.....	48
Figura 7. Nivel alto de calcio sérico..	49
Figura 8. Nivel bajo de vitamina D.....	49
Figura 9. Síntesis y metabolismo de la vitamina D y el papel del sistema endocrino de la vitamina D en la homeostasis fosfocálcica.....	51
Figura 10. Mecanismo propuesto para la vitamina D y cáncer.....	55

Figura 11. Diferentes capas de la epidermis y las funciones en cada una de las capas reguladas por el VDR y sus coactivadores.	62
Figura 12. Dominios funcionales del receptor de la vitamina D.....	73
Figura 13. Estructura del gen de la proteína VDR y localización de los polimorfismos comunes.....	78
Figura 14. Gráfico con el número de casos de cáncer en 2018 en todo el mundo, ambos sexos y todas las edades.. ..	97
Figura 15. Gráfico del número de muertes mundiales por cáncer en 2018, ambos sexos y todas las edades.. ..	98
Figura 16. Carcinomas basocelulares.	102
Figura 17. Queratosis actínicas y carcinoma epidermoide.....	105
Figura 18. Cuatro tipos fundamentales de melanoma.	107
Figura 19. Irradiancias global, directa y difusa en las capitales de provincia de Extremadura (1983-2005).....	162
Figura 20. Barras de error simples para comparar los niveles medios de vitamina D (25(OH)D ₃) de los controles y los casos.	182

Índice de Abreviaturas

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero.

BCC: *Basal Cell Carcinoma* (Carcinoma basocelular).

C/EBP β : *Ccaat-enhancer-binding protein β* .

cGMP: Guanosín monofosfato cíclico.

DBD: Dominio de unión al ADN.

DBP: *Vitamin D Binding Protein* (Proteína transportadora de vitamina D).

DM: *Diabetes Mellitus*

DM-1: *Diabetes Mellitus* tipo 1.

DM-2: *Diabetes Mellitus* tipo 2.

DMO: Densidad mineral ósea.

DRIP: *Vitamin D Receptor Interacting Protein*.

EE.UU.: Estados Unidos.

EGFR: *Epidermal growth factor receptor* (Receptor del factor de crecimiento epidérmico).

Hr: *Hairless inhibitor*.

IARC: *International Agency for Research on Cancer* (Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer).

IC: Intervalo de confianza.

IGF-1: *Insulin-like growth factor-1* (Factor de crecimiento insulínico tipo 1).

IMC: Índice de masa corporal.

JCR: *Journal Citation Reports*.

kb: Kilobases.

kDa: Kilodaltons.

LBD: Dominio de unión al ligando.

MAP: *Mitogen-Activated Protein*, quinasa.

mm: Milímetro.

MTHFR: Metilen-tetrahidrofolato-reductasa.

nm: Nanómetro.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OR: *Odds ratio*.

pg: picogramo.

PKC: Proteína quinasa C.

PTH: Hormona paratiroidea. Parathormona.

PUVA: *Psoralen and UVA light therapy*

RFLP: *Restriction Fragment Length Polymorphism*.

rs: *Restriction Site* (Sitio o diana de restricción).

RXR: Receptor del 9-cis retinoide X.

SCC: *Squamous cell carcinoma* (Carcinoma espinocelular).

Shh: Sonic Hedgehog, proteína.

SNPs: *Single Nucleotide Polymorphisms*.

SRC: *Steroid Receptor Coactivator*.

STAB: Servicio de Técnicas Aplicadas a la Biociencia.

TGF α : *Transforming growth factor alpha*.

UI: Unidades Internacionales.

UTR: Región no traducida.

UV: Ultravioleta, radiación.

UVA: Ultravioleta A, radiación.

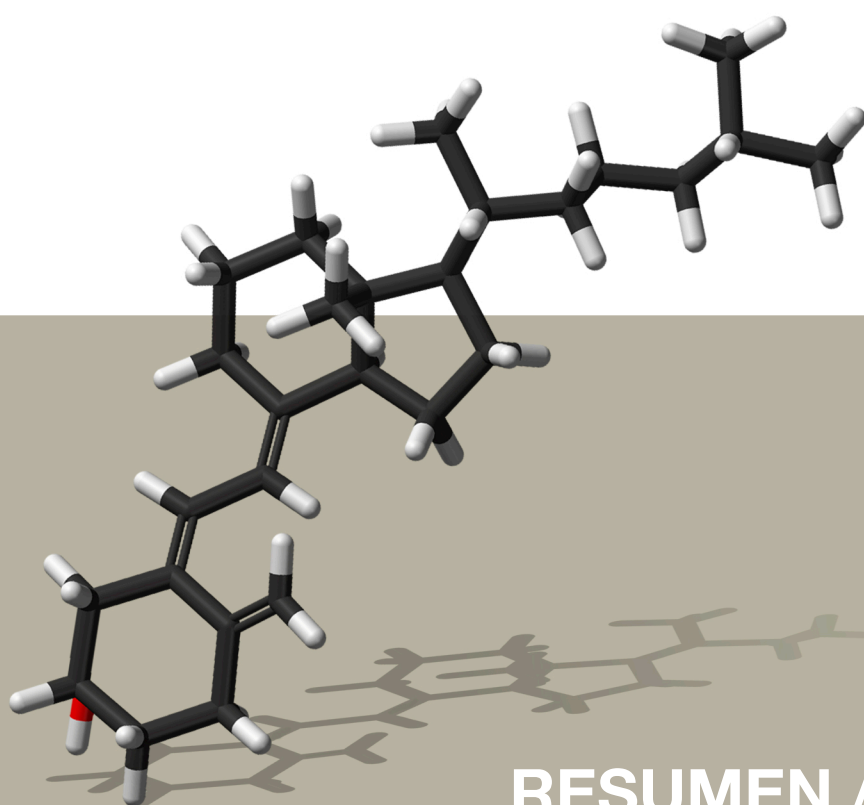
UVB: Ultravioleta B, radiación.

VDR: Receptor de vitamina D.

VDRE: Elementos de respuesta a la vitamina D.

VS / vs: *Versus*.

WHO: *World Health Organisation* (Organización Mundial de la Salud).



RESUMEN / ABSTRACT

Resumen

El cáncer de piel es el cáncer más frecuente de la raza humana. Además, en los últimos años la incidencia ha aumentado en casi todos los países, debido probablemente a la mayor exposición a la luz solar. Se trata de una enfermedad compleja que ocurre como resultado de la interacción de factores ambientales con factores genéticos: concretamente existe suficiente evidencia de que la luz solar (radiación ultravioleta) contribuye al desarrollo del cáncer de piel y, sin embargo, existe también evidencia emergente que relaciona los niveles adecuados de vitamina D, mediada a través del receptor de vitamina D, con la disminución del riesgo de varios tipos de cánceres a través de efectos sobre la proliferación celular, diferenciación, muerte celular, angiogénesis, invasión y metástasis de las células tumorales.

Entonces, la radiación ultravioleta procedente de la exposición solar contribuye al desarrollo del cáncer de piel, pero a su vez cataliza la conversión del 7-deshidrocolesterol en 25(OH)D₃ e induce la expresión del receptor de vitamina D, que parece ser protector del daño al ADN inducido por el sol.

Durante años muchos estudios han centrado sus objetivos en la identificación de marcadores genéticos, así como en polimorfismos de estos, implicados en la susceptibilidad al cáncer de piel. No tenemos constancia de la existencia de estudios de investigación que, como el nuestro, estudien la relación conjunta entre los

Carolina Morgado Águila

polimorfismos del receptor de vitamina D, los niveles séricos de vitamina D y el riesgo de cáncer de piel no melanoma en población española, concretamente extremeña. Hemos encontrado nuevos y muy interesantes resultados en relación con los polimorfismos del receptor de vitamina D *BsmI* y *ApalI*, los niveles séricos de vitamina D y el riesgo de cáncer de piel no melanoma, que se desarrollan extensamente a lo largo del presente trabajo.

De forma muy resumida, cabe destacar que no hemos observado efectos significativos entre estos polimorfismos y el cáncer de piel de forma aislada. No obstante, aparte de corroborar otras evidencias ya publicadas en la literatura, sí hemos observado diferencias cuando se ajustaba por género y comparado con controles: hemos encontrado asociación significativa entre los polimorfismos *GG* y *AG* de *BsmI* y el aumento de riesgo de carcinoma basocelular en hombres. Con respecto a *ApalI*, los tres polimorfismos aumentan significativamente el riesgo de carcinoma basocelular en hombres, pero en diferente “cuantía”.

Al analizar los niveles séricos de vitamina D, objetivamos que todos nuestros sujetos, tanto casos como controles, tienen unos niveles de vitamina D séricos normales o bajos. Llama la atención en nuestros resultados que hay mayor porcentaje de sujetos en déficit que no presenta tumor que pacientes en déficit con tumor.

Las implicaciones del conocimiento de las bases genéticas del cáncer de piel son de enorme importancia para la prevención, diagnóstico y pronóstico de esta patología. Igualmente, poder modificar los factores ambientales es extremadamente importante para la prevención de este tipo de cáncer. A este respecto nos preguntamos: ¿debemos cambiar las recomendaciones sobre la ingesta de vitamina D?, ¿tenemos que cambiar las recomendaciones sobre protección solar? Todas estas

cuestiones se desarrollan a lo largo de este trabajo, pero destacamos ya que tanto para el caso de los factores ambientales como para los factores genéticos es prematuro decidir cambiar las recomendaciones actuales, por falta de evidencia científica suficiente.

Abstract

Skin cancer is the most common cancer worldwide. The incidence rate is increasing, probably due to exposure to ultraviolet radiation from the sun. It is a complex disease that occurs as a result of the interaction between environmental and genetic factors. There is enough evidence that sunlight (ultraviolet radiation) contributes to the development of skin cancer, but there is also growing evidence that relates adequate levels of vitamin D, mediated through the vitamin D receptor, with the decreased risk of various types of cancers through effects on cell proliferation, cell differentiation, cell death, angiogenesis, invasion and tumor cell metastasis.

So, ultraviolet radiation from sun exposure contributes to the development of skin cancer, but in turn catalyzes the conversion of 7-dehydrocholesterol in 25(OH)D₃ and induces the expression of the vitamin D receptor, which appears to be protective of DNA damage induced by the sun. This is why it is difficult to draw conclusions from epidemiologic studies.

There are many studies that have focused their targets in identifying genetic markers, as well as its polymorphisms, in susceptibility to skin cancer. We are not aware of the existence of research studies that, like ours, analyse the relationship between vitamin D receptor polymorphisms, serum vitamin D levels and the risk of non-melanoma skin cancer in a Spanish population. We have found new and very

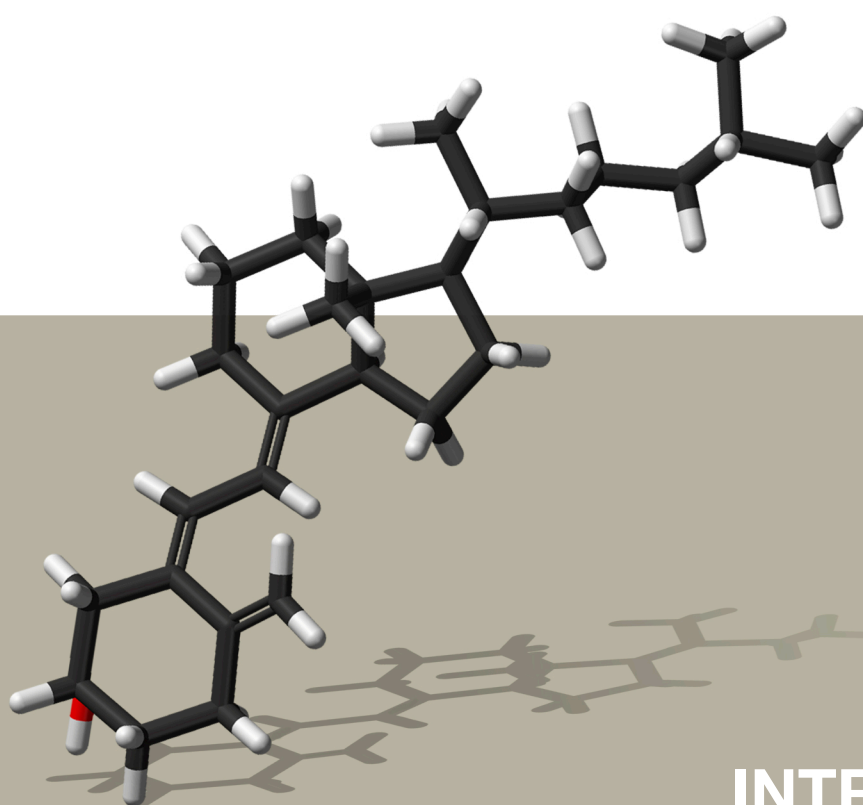
Carolina Morgado Águila

interesting results in relation to the vitamin D receptor polymorphisms *BsmI* and *Apal*, serum vitamin D levels and skin cancer risk, which we expound on extensively throughout this text.

It should be noted in this section that we have not observed significant effects between these polymorphisms and skin cancer when studied in isolation. However, we have found differences when adjusted for gender and compared with controls. We have found a significant association between the *GG* and *AG* polymorphisms of *BsmI* and a increased risk of basal cell carcinoma in men. In relation to *Apal*, the three polymorphisms significantly increase the risk of basal cell carcinoma in men, but in a different “amount”.

When analysing serum vitamin D levels, we objectify that all our subjects, both cases and controls, have normal or low serum vitamin D levels. It is striking in our results that there is a higher percentage of subjects in deficit who do not have a skin cancer than patients in deficit with this type of tumor.

The genetic basis of skin cancer are of great importance for the prevention, diagnosis and prognosis of this pathology. Likewise, being able to modify environmental factors is extremely important for the prevention of this cancer. In this regard, questions arise: should recommendations for vitamin D intakes be changed? should recommendations for sun protection of light-skinned populations be changed?. All these and other questions are answered throughout this work, but from now on we emphasize that it would be premature to change current recommendations, as at present, there is insufficient evidence.



Capítulo I

INTRODUCCIÓN

La piel está formada por distintos tipos celulares que, como otras células del organismo, pueden proliferar de forma descontrolada y dar lugar a un tumor o neoplasia, de comportamiento benigno o maligno. En caso de tumoración maligna, hablamos de cáncer de piel. Cuando este crecimiento anormal ocurre en células que no son melanocitos, hablamos de cáncer de piel no melanoma. Entre ellos se encuentra el carcinoma basocelular y el carcinoma espinocelular.

El cáncer de piel no melanoma es el cáncer más frecuente de la raza humana y además en los últimos años la incidencia ha aumentado en casi todos los países del mundo.

La etiopatogenia de estos tumores es multifactorial. Están asociados tanto factores intrínsecos como factores ambientales: existen claras evidencias epidemiológicas que apoyan la hipótesis de que la radiación ultravioleta (UV) causa cáncer de piel. A su vez existe evidencia científica suficiente del efecto protector sobre algunos cánceres de la vitamina D, producida en la piel por acción de la radiación ultravioleta B (UVB). Resulta, por tanto, evidente que la relación entre cáncer de piel, radiación solar y el sistema endocrino de la vitamina D es más complejo que para otros tipos de cáncer.

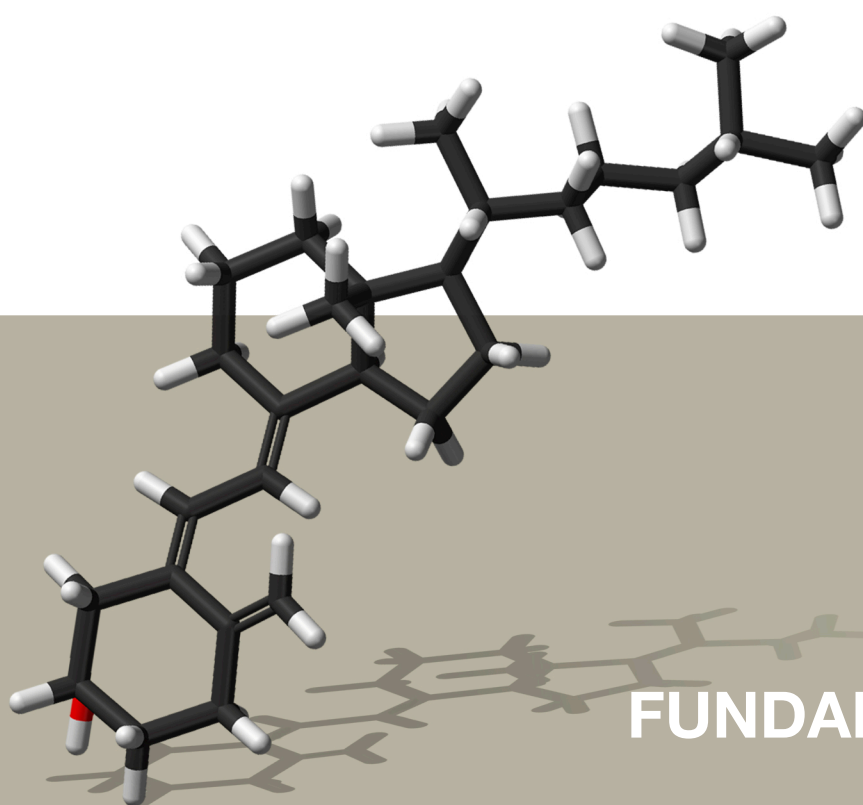
Determinados polimorfismos del gen del receptor de vitamina D (VDR) han sido ampliamente estudiados y asociados a distintos tipos de cáncer. Aunque se han publicado numerosos estudios sobre los polimorfismos del gen del VDR, los resultados son contradictorios. El hecho de que exista disparidad en los resultados

I. INTRODUCCIÓN

sobre la importancia de este gen sugiere la etiología poligénica del cáncer y concretamente el cáncer de piel.

Es importante investigar si los polimorfismos del gen del VDR podrían influir en la etiopatogenia del cáncer de piel, con el propósito de encontrar un marcador que indique los pacientes con más riesgo de desarrollar cáncer de piel no melanoma o de peor pronóstico y poder instaurar medidas preventivas más precoces o tratamientos más agresivos en su caso.

Por este motivo nos dispusimos a desarrollar nuestro trabajo. Se trata de un estudio aleatorizado prospectivo tipo caso control realizado en Extremadura en el que se pretende estudiar la relación entre el cáncer de piel no melanoma, los polimorfismos *BsmI* y *Apal* del gen del VDR y los niveles séricos de vitamina D.



Capítulo II

**FUNDAMENTACIÓN
TEÓRICA**

2.1 Vitamina D.

Bajo el nombre de vitamina D se engloban una familia de metabolitos liposolubles interrelacionados que tienen actividad de vitamina D.

Técnicamente, la vitamina D debería considerarse una hormona y no una vitamina, ya que las vitaminas son aquellas sustancias orgánicas presentes en los alimentos naturales que no pueden ser sintetizadas por el organismo humano en cantidades adecuadas (Devlin, 2004).

2.1.1 Síntesis, metabolismo y regulación de niveles de vitamina D. Factores determinantes de los niveles de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ y $25(\text{OH})\text{D}_3$. Mecanismo de acción y funciones.

El colecalciferol (vitamina D_3) se produce en el *stratum granulosum* de la piel por acción de la radiación UVB (290-315 nm de longitud de onda) y la temperatura sobre el 7-deshidrocolesterol (previtamina D_3). De modo similar, el ergocalciferol (vitamina D_2) se produce por irradiación del ergosterol (previtamina D_2). Mientras el cuerpo esté expuesto a luz solar adecuada, no hay necesidad, o muy poca, de ingestión dietética de vitamina D. Pocos alimentos contienen naturalmente vitamina D. Entre los alimentos con más abundante contenido de

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

vitamina D encontramos el salmón, las sardinas o el hígado de bacalao (Charoenngam, Shirvani, & Holick, 2019).

Independientemente de su origen, ya sea derivado de la bioactivación en la piel o de la dieta -natural o en alimentos fortificados-, esta vitamina D es inerte y necesita ser activada para ejercer su función biológica. El colecalciferol y el ergocalciferol se metabolizan de manera idéntica. Ambos son transportados al hígado, donde se forma el derivado 25-hidroxi. Aunque existen otros tejidos como la piel, intestino o riñón que pueden realizar esta función, su contribución a los niveles plasmáticos es incierta. El 25-hidroxicolecalciferol ($25(\text{OH})\text{D}_3$, también denominado calcifediol o calcidiol) es el principal derivado circulante de la vitamina D (Holick 2007) (Figura 1).

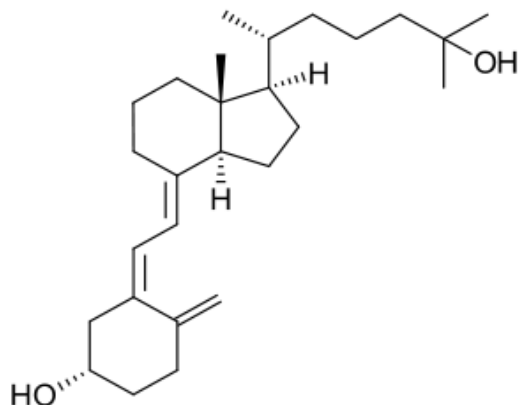


Figura 1. Molécula de 25-hidroxicolecalciferol ($25(\text{OH})\text{D}_3$), también denominado calcifediol o calcidiol.

Los niveles de $25(\text{OH})\text{D}_3$ se incrementan en proporción a los niveles de producción o ingesta de vitamina D. Es por esta razón, además de su vida media más larga (21 días la $25(\text{OH})\text{D}_3$ versus (VS) 3-5 días la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), que los niveles plasmáticos de $25(\text{OH})\text{D}_3$ son los más usados como indicador del estatus de vitamina D. Posteriormente el $25(\text{OH})\text{D}_3$ se convertirá, gracias a la 1α -hidroxilasa de los túbulos proximales de la nefrona del riñón, en $1\alpha,25$ -dihidroxicolecalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, también denominado calcitriol), que es el compuesto biológicamente más activo (Figura 2).

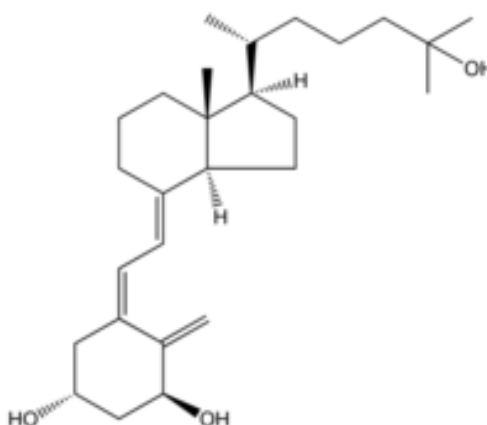


Figura 2. Molécula de $1\alpha,25$ -dihidroxicolecalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), también denominado calcitriol.

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Al igual que el riñón, se ha demostrado que otros muchos tejidos también poseen acción 1α -hidroxilasa (Hewison, Zehnder, Chakraverty, & Adams, 2004), entre ellos la piel, contribuyendo estos a los niveles intracelulares de vitamina D. (Figura 3).

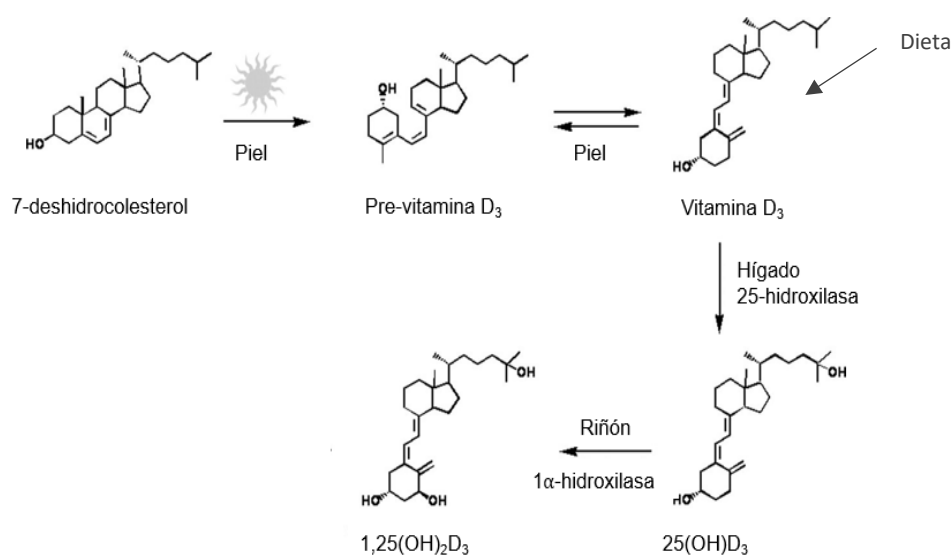


Figura 3. Síntesis y activación de la vitamina D₃. La vitamina D se produce en la piel por la escisión fotolítica del 7-deshidrocolesterol seguido de una isomerización térmica. También puede obtenerse de la dieta. Luego se transporta al hígado unida a su proteína transportadora, donde se convierte en 25-hidroxicolecalciferol, el principal metabolito circulante. El último proceso de activación, la 1α -hidroxilación, ocurre principalmente pero no exclusivamente en el riñón, formándose el $1\alpha,25$ -dihidroxicolecalciferol, la forma activa de la vitamina. Tomado y modificado de Dusso *et al.* (Dusso, Brown, & Slatopolsky, 2005).

El calcitriol sintetizado en el riñón por la 1α -hidroxilasa es una molécula muy lipofílica que debe ser transportada en la sangre, lo que ocurre principalmente gracias a la proteína transportadora de vitamina D (DBP) (85%), aunque también se une a la albúmina (15%) y a lipoproteínas (D. C. Huang, Papavasiliou, Rhim, Horst, & Kremer, 2002).

Una vez dentro de la célula, puede inactivarse por acción de la 24-hidroxilasa mitocondrial, transformándose en el inactivo ácido calcitroico, o bien unirse a su receptor, el VDR, que se encuentra libre en el citoplasma celular. La unión de su ligando activa al VDR y entra en el núcleo donde se va a unir al receptor del 9-cis retinoide X (RXR) para formar el complejo VDR-RXR. Este complejo reconoce y se une específicamente al ADN en secuencias promotoras de diferentes genes, llamadas elementos de respuesta a la vitamina D (VDRE), además de reclutar numerosos factores de transcripción y otros reguladores que, en último término, harán que aumente o disminuya la tasa de transcripción de los genes diana (Figura 4).

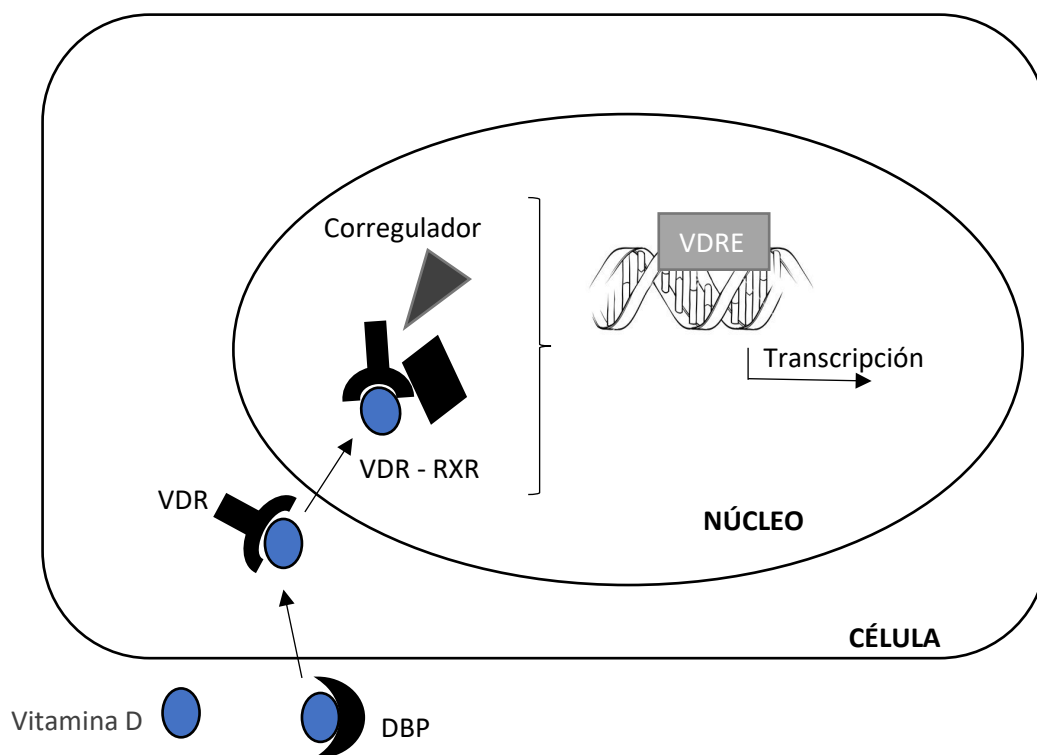


Figura 4. Modelo del mecanismo de acción de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ y su receptor, el VDR. La vitamina D bioactivada, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, circula unida a su proteína transportadora (DBP). Esta $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ entra en la célula diana y se une a su ligando, el VDR, formando el complejo $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -VDR que posteriormente pasa al núcleo donde se heterodimeriza con el RXR (VDR-RXR). Determinados corre reguladores pueden interaccionar con este complejo y finalmente el heterodímero VDR-RXR se une específicamente a secuencias promotoras (VDRE) del gen diana para comenzar la transcripción.

La $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ tiene gran capacidad de elevar el calcio y fosfato séricos y por ello requiere que sus niveles circulantes estén estrechamente regulados. Es también por este motivo que la concentración de $25(\text{OH})\text{D}_3$ es considerado el mejor indicador del estatus de vitamina D.

Los niveles séricos óptimos de vitamina D se consideran cuando están entre 30 y 60 ng/ml. Entre 20 y 30 ng/ml se consideran niveles bajos de vitamina D y entre 60 y 100 ng/ml se consideran niveles altos, pero aún dentro del rango de normalidad. Si encontramos valores menores de 20 ng/ml consideramos que estamos en déficit, mientras que si encontramos valores entre 100 y 150 ng/ml consideramos que tenemos un exceso de vitamina D. Niveles mayores de 150 ng/ml suelen aparecer en casos raros de intoxicación por vitamina D (Figura 5).

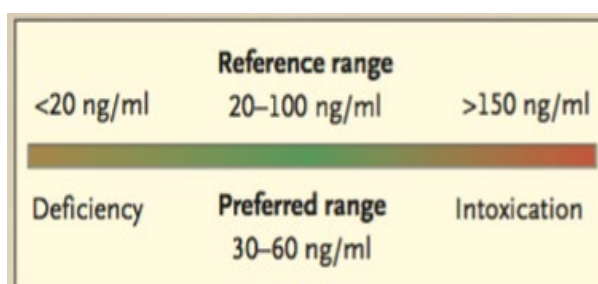


Figura 5. Niveles séricos de 25(OH)D₃ y su significación clínica. Tomado y modificado de Holick (Holick 2007).

El control estricto de los niveles séricos de 1,25(OH)₂D₃ viene dictado por las necesidades de calcio y fósforo y se ejerce a través de la acción coordinada del riñón, intestino, hueso y glándula paratiroides. Los principales reguladores de los niveles de 1,25(OH)₂D₃ son la hormona paratiroidea (PTH), el calcio, fósforo y los propios niveles de 1,25(OH)₂D₃ a través de un mecanismo de *feedback*. En las figuras 6, 7 y 8 se ilustra y explica la respuesta global del metabolismo fosfocálcico ante distintas situaciones fisiológicas (Figura 6, Figura 7, Figura 8).

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Hay otra serie de factores que se han relacionado con la síntesis y degradación de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, pero su importancia fisiológica es aún incierta.

La principal enzima catabólica es la D-24-hidroxilasa, presente de forma ubicua en los tejidos diana de la vitamina D. Esta 24-hidroxilasa se induce por la propia $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, de forma que aporta un mecanismo para atenuar la respuesta a la vitamina D y reduce los niveles de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ cuando son anormalmente altos. La $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ actúa de forma coordinada con la PTH, la cual también se produce en respuesta a un nivel bajo de calcio sérico. Niveles elevados de PTH estimulan la producción de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ a través de la estimulación de la 1α -hidroxilasa renal, mientras que unos niveles de PTH bajos inducen la formación de $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ inactivo.

Existe evidencia de una regulación de los niveles de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ independiente de la PTH a través del calcio.

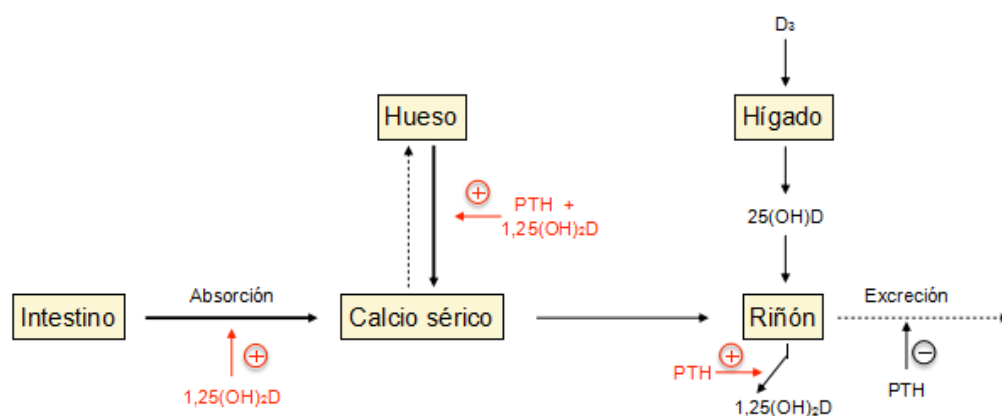


Figura 6. Nivel bajo de calcio sérico. La respuesta a los niveles bajos de calcio sérico se caracteriza por el aumento de la PTH y del $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, que actúan potenciando la absorción intestinal de calcio y la resorción ósea, al tiempo que inhiben la excreción de calcio por el riñón. "+", activación; "-", inhibición. Tomado de Devlin (Devlin, 2004).

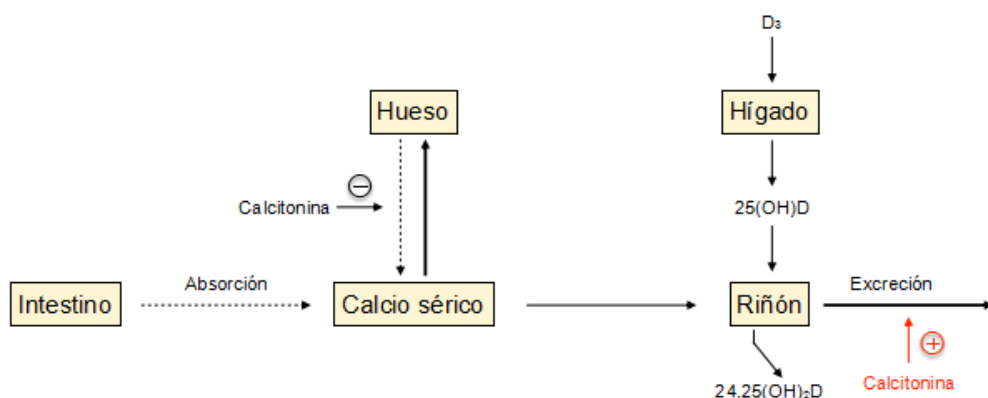


Figura 7. Nivel alto de calcio sérico. Niveles elevados de calcio sérico bloquean la producción de PTH. Los bajos niveles de PTH permiten que se metabolice el 25(OH)D₃ a 24,25(OH)₂D₃ y no a 1,25(OH)₂D₃. En ausencia de PTH y de 1,25(OH)₂D₃, se inhibe la resorción del hueso y se potencia la excreción del calcio. Los niveles de calcio sérico elevados también estimulan la producción de calcitonina, lo que contribuye a la inhibición de la resorción ósea y al aumento de la excreción de calcio. Finalmente, los niveles elevados tanto de calcio como de fosfato séricos aumentan la velocidad de mineralización del hueso. “+”, activación; “-”, inhibición. Tomado de Devlin (Devlin, 2004).

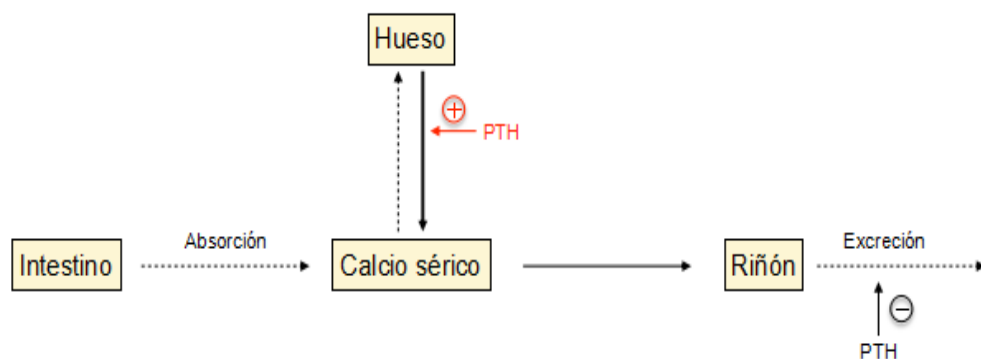


Figura 8. Nivel bajo de vitamina D. El hueso actúa como un depósito muy importante del calcio y fosfato necesarios para mantener la homeostasis de los niveles séricos. Cuando la vitamina D y el calcio de la dieta son adecuados, no se produce pérdida neta de calcio óseo. Sin embargo, cuando

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

el calcio de la dieta es bajo, la PTH y el $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ dan lugar a la desmineralización neta del hueso para mantener los niveles normales de calcio sérico. La deficiencia de vitamina D también produce la desmineralización neta de los huesos, debido al aumento de PTH. “+”, activación; “-”, inhibición. Tomado de Devlin (Devlin, 2004).

Otro regulador importante en la síntesis de la vitamina D es el fósforo ingerido en la dieta, de forma que la restricción de fosfatos y la hipofosfatemia, en combinación con la PTH, producen un aumento en la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Por otra parte, la acidosis y la insulina o el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) también parecen contribuir a la regulación del metabolismo de la vitamina D.

En la figura 9 se ilustra a modo de resumen la síntesis y metabolismo de la vitamina D y el papel del sistema endocrino de la vitamina D en la homeostasis fosfocálcica (Figura 9).

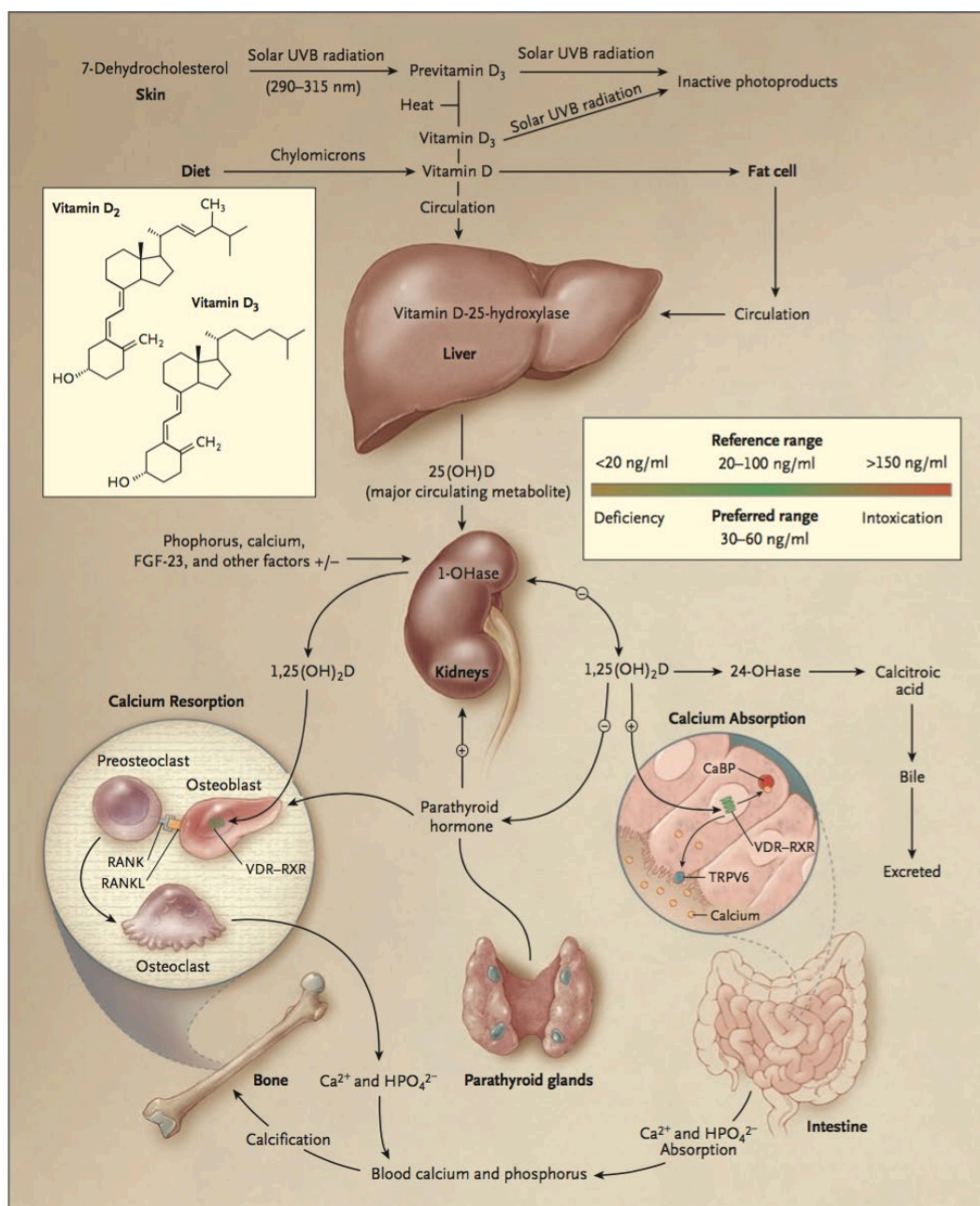


Figura 9. Síntesis y metabolismo de la vitamina D y el papel del sistema endocrino de la vitamina D en la homeostasis fosfocálcica. Las respuestas a aumentos y disminuciones del calcio y fosfato séricos implican acciones coordinadas de las glándulas paratiroides, riñón, intestino y hueso. Tomado de Holick (Holick 2007).

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Los mecanismos de acción de la vitamina D en los diferentes órganos diana dependerán de diferentes factores, tales como los niveles de metabolitos (calcidiol y calcitriol), la presencia de moduladores (coactivadores y correpresores) y los aspectos cuantitativos y cualitativos del gen del VDR.

Así mismo, si los niveles de 25(OH)D₃ se incrementan en proporción a los niveles de producción o ingesta de vitamina D, se entiende que habrá factores determinantes de los niveles de 1,25(OH)₂D₃ y 25(OH)D₃, como son, entre otros:

- Exposición solar: La radiación UVB es la mayor fuente de vitamina D para la mayoría de las personas.
- Pigmentación cutánea: La melanina es un filtro contra la radiación UVB.
- Ingesta de alimentos que contienen vitamina D naturalmente o fortificados.
- Índice de masa corporal (IMC): La hipovitaminosis D asociada a obesidad es debida probablemente a una disminución de la biodisponibilidad de 25(OH)D₃ que se depositaría en compartimentos grasos corporales (Wortsman, Matsuoka, Chen, Lu, & Holick, 2000). Este es probablemente el motivo por el cual las personas obesas tienen generalmente una deficiencia de vitamina D.
- Edad: La edad disminuye los niveles de 7-deshidrocolesterol producidos en la piel hasta un 75% (Holick, Matsuoka, & Wortsman, 1989; MacLaughlin & Holick, 1985).
- Retinol o vitamina A: Como ambas vitaminas -A y D- requieren de proteínas RXR para ejercer sus acciones, altas dosis de retinol pueden antagonizar las acciones de la vitamina D al competir con el RXR para su heterodimerización (Johansson & Melhus, 2001; Rohde, Manatt, Clagett-Dame, & DeLuca, 1999).

Tanto las acciones genómicas (ocurren según el modelo de transactivación de genes de las hormonas esteroideas al unirse la 1,25(OH)₂D₃ con el VDR) como las no genómicas¹ (mediadas por receptores de superficie distintos al VDR, aún no claramente establecidos (Brown, Dusso, & Slatopolsky, 1999)) de la vitamina D, se combinan para producir multitud de respuestas en una serie de células diana que a día de hoy sigue creciendo.

Además de las acciones clásicas de regulación del metabolismo mineral, la vitamina D realiza otras funciones no clásicas como la regulación de la proliferación y diferenciación celular, la regulación de la secreción hormonal y la modulación de la función inmune. La evidencia sugiere que la vitamina D desempeña importantes actividades que podrían tener implicaciones fisiológicas y patológicas significativas en enfermedades inmunes (Arnson, Amital, & Shoenfeld, 2007; Cantorna, 2000; Deluca & Cantorna, 2001). También tiene

¹ Existen acciones de la 1,25(OH)₂D₃ que precisan respuestas tan rápidas que no pueden suponer cambios en la expresión génica. Están mediadas por otros receptores de superficie distintos del VDR. La naturaleza de este receptor es desconocida, pero ya se han identificado al menos dos receptores distintos. La significación clínica de estas acciones rápidas aún no está bien establecida. La 1,25(OH)₂D₃ puede, entre otros, alterar los niveles de guanosín monofosfato cíclico (cGMP) (Guillemant & Guillemant, 1980; Vesely & Juan, 1984), proteína quinasa C (PKC) (Sylvia et al., 1996) o (*Mitogen-Activated Protein*) MAP quinasas (Benou, Brady, Bissonnette, & Davis, 1995; Norman, Song, Zanello, Bula, & Okamura, 1999) o abrir los canales rápidos de cloro (Zanello & Norman, 1996). Llama la atención que varios estudios han indicado que estas acciones rápidas no genómicas de 1,25(OH)₂D₃ requieren también de la presencia del VDR, ya que estas acciones están ausentes en células aisladas de ratones transgénicos donde se bloquea el gen del VDR (Erben et al., 2002; Zanello & Norman, 2004). El papel exacto del VDR en estas acciones es desconocido. Se ha postulado que estos eventos no genómicos modulan las acciones genómicas de la 1,25(OH)₂D₃ (Baran, 1994; Baran et al., 1992; Farach-Carson & Davis, 2003), pero es una afirmación controvertida.

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

relación con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (Giovannucci, 2005; Holick 2007; Mathieu & Badenhop, 2005; Mathieu, Gysemans, Giuliatti, & Bouillon, 2005). La vitamina D parece asimismo estimular la proliferación celular de otro tipo de células, como condrocitos (Krohn et al., 2003) y células del endometrio (Delissalde et al., 1998). Además, existe evidencia que demuestra la relación entre la vitamina D y el riesgo de cáncer (Giovannucci, 2005). Por otra parte, no solo se ha asociado la vitamina D con el riesgo de desarrollar cáncer, sino que también se ha relacionado una mayor mortalidad asociada al cáncer en los grupos con mayor deficiencia de vitamina D. Los grupos étnicos (como los afroamericanos) con menores niveles de vitamina D presentan una mayor mortalidad debida a cánceres tanto en hombres como en mujeres (Giovannucci, 2005). Además, parece que existe también una relación entre la expresión del gen del VDR y el riesgo y pronóstico de cáncer.

2.1.2 Acción anticancerosa de la vitamina D.

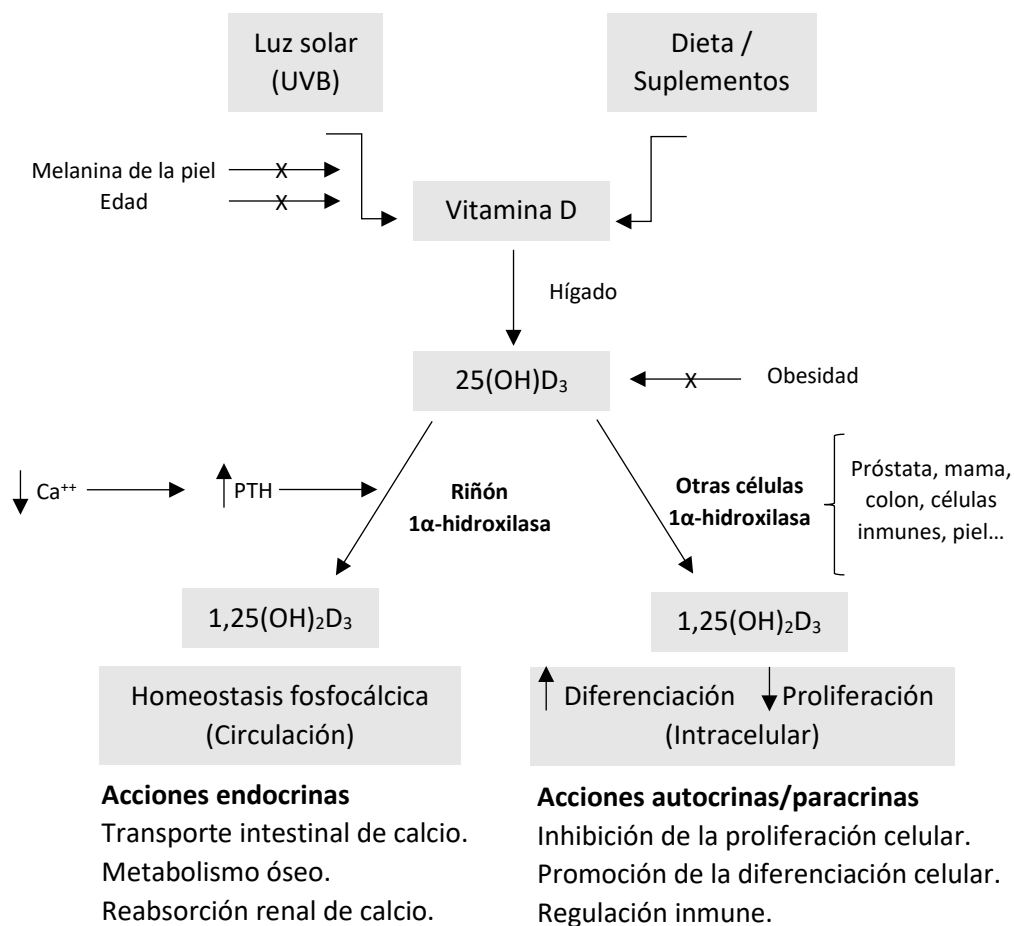


Figura 10. Mecanismo propuesto para la vitamina D y cáncer. La 1,25(OH)₂D₃ renal y extrarrenal tiene funciones endocrinas, autocrinas y paracrinas. De forma muy simplificada, se puede observar cómo la vitamina D en sus funciones clásicas actúa sobre la homeostasis fosfocálcica fundamentalmente y cómo en otras células con función α-hidroxilasa actúa potenciando la diferenciación e inhibiendo la proliferación celular. En general, las acciones “no calcémicas” de la vitamina D parecen depender de la síntesis extrarrenal de 1,25(OH)₂D₃ vía 1α-hidroxilasa (Hewison et al., 2004). Tomado de Giovannucci (Giovannucci, 2005) y modificado de Dusso *et al.* (Dusso et al., 2005).

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Muchos tipos celulares distintos contienen receptores de vitamina D (Wang, Zhu, & DeLuca, 2012). Cuando estos receptores son activados por la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, se induce la diferenciación y se inhibe la proliferación, invasividad, angiogénesis y potencial metastásico de la célula en cuestión. Además, la $25(\text{OH})\text{D}_3$ circulante también ha demostrado un beneficio potencial, ya que muchos tipos celulares, incluyendo células cancerosas, expresan la 1α -hidroxilasa (Hewison et al., 2004) y son, por tanto, capaces de convertir la $25(\text{OH})\text{D}_3$ en $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

A través de la circulación, múltiples células pueden resultar expuestas tanto a la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ como a la $25(\text{OH})\text{D}_3$. La $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ es cientos de veces más activa que la $25(\text{OH})\text{D}_3$, que está mil veces más concentrada en la circulación. Así, ambas formas de vitamina D circulante pueden contribuir a la actividad de la vitamina D: la primera por su mayor actividad; la segunda por su mayor concentración. De hecho, las dos, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ y $25(\text{OH})\text{D}_3$, son determinantes en la carcinogénesis. De este modo, entonces también cabe pensar que los factores que influyen sus niveles, que se enumeran en el apartado anterior, tales como edad, color de piel o IMC, también podrían ser predicadores de cáncer.

Una de las más importantes e intrigantes funciones de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ es su habilidad para frenar el crecimiento celular. Tanto células normales como cancerígenas que tienen VDR responden a la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ disminuyendo su proliferación y promoviendo su maduración. Este fue el motivo de usar la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ y sus análogos para tratar algunas enfermedades hiperproliferativas comunes como la psoriasis.

Concretamente existen dos acciones principales de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ que parecen ser las responsables de la acción anticancerosa de la vitamina D: la supresión del crecimiento celular y la regulación de la apoptosis.

1. Supresión del crecimiento celular:

Ya en 1981, las observaciones realizadas por Abe y colaboradores (Abe et al., 1981) de que la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ inhibía la proliferación clonal de una gran variedad de líneas celulares y que promovía la diferenciación de precursores mieloides normales en la leucemia humana hacia unos fenotipos más maduros y menos agresivos, aportaron un uso potencial de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ para el tratamiento de esta patología y otros desórdenes mieloproliferativos.

Posteriormente, el papel protector de la vitamina D para el cáncer se ha seguido sugiriendo al encontrar una fuerte asociación epidemiológica entre el cáncer de colon, de mama y de próstata, entre otros, y la deficiencia de vitamina D (Zittermann, 2003).

El sistema $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -VDR frena el ciclo celular cancerígeno en la transición G1-G0 a través de múltiples mecanismos:

1.- La $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ induce la transcripción génica del inhibidor p21 (Liu, Lee, Cohen, Bommakanti, & Freedman, 1996), que frena el crecimiento y promueve la diferenciación de células de la línea monocito-macrófago.

2.- La $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ induce la síntesis y/o estabilización del inhibidor p27 (P. Li et al., 2004).

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

3.-En tumores en los que el crecimiento está dirigido por la sobreexpresión del *transforming growth factor alpha / epidermal growth factor receptor* (TGF- α /EGFR), el 1,25(OH) $_2$ D $_3$ induce la reclusión del EGFR-ligando activado en endosomas, reduciendo así la señal de crecimiento en la membrana celular y la transactivación del EGFR del gen de la ciclina D1 en el núcleo (Cordero et al., 2002). Esta inhibición del TGF- α /EGFR podría contribuir a la eficacia del 1,25(OH) $_2$ D $_3$ en el tratamiento de los queratinocitos hiperplásicos de la psoriasis, ya que los queratinocitos psoriásicos sobreexpresan TGF- α .

4.- En una línea monocítica (Ji & Studzinski, 2004) y en osteoblastos (Gutierrez et al., 2002), la 1,25(OH) $_2$ D $_3$ induce la expresión de *Ccaat-enhancer-binding protein β* (C/EBP β), una proteína que se ha identificado como un potente supresor de la oncogénica ciclina D1 en tumores epiteliales humanos (Lamb et al., 2003).

5.- La 1,25(OH) $_2$ D $_3$ reduce los niveles de HRPAP20², una nueva fosfoproteína que incrementa la supervivencia del linfoma (Karp et al., 2004).

² También conocida como NDUFAF4, la HRPAP20 es una proteína de ensamblaje mitocondrial que parece estar relacionada con distintos tipos de cánceres, como el linfoma y el cáncer de mama.

2. Regulación de la apoptosis.

La apoptosis inducida por la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ es un contribuyente importante a la supresión tumoral en los desórdenes hiperproliferativos. Por ejemplo, en el cáncer de mama, la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ induce la apoptosis a través de la modulación del contenido de $Bcl2^3$ y Bax^4 (Wagner et al., 2003). También incrementa el calcio intracelular (Schwartz, Whitlatch, Chen, Lokeshwar, & Holick, 1998), lo que activa las proteasas proapoptóticas dependientes del calcio (Mathiasen et al., 2002).

Así mismo tiene funciones proapoptóticas en el glioma (Elias et al., 2003), en el melanoma y en el cáncer de mama (Valrance & Welsh, 2004), aunque no parece ejercer su función proapoptótica en astrocitos o melanocitos normales (Sauer, Ruwisch, & Kleuser, 2003). Sin embargo, es importante reseñar que en otros tejidos normales las propiedades proapoptóticas de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ son críticas para controlar el crecimiento hiperplásico. Por ejemplo, en tejido mamario normal, el control de la apoptosis por el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -VDR se necesita durante el embarazo, lactancia e involución postlactancia (Zinser & Welsh, 2004).

³ Bcl-2 es una familia de proteínas formada por alrededor de 25 miembros que regulan procesos de permeabilización mitocondrial y constituyen un punto clave en la vía intrínseca de apoptosis celular.

⁴ El regulador de apoptosis BAX es miembro de la familia de genes Bcl-2.

Teniendo en cuenta estos datos, estos hallazgos demuestran que los efectos proapoptóticos de la vitamina D son importantes en el desarrollo del tejido normal y en su función, al igual que la inducción del freno del crecimiento en desórdenes hiperproliferativos cancerosos o no cancerosos (Dusso et al., 2005).

Al menos algunas de las acciones antiproliferativas de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ podrían ser autocrinas más que endocrinas. Cuando la $25(\text{OH})\text{D}_3$ está a concentraciones demasiado bajas como para activar el VDR, se frena de todos modos el crecimiento celular en las células que expresan 1α -hidroxilasa (Barreto, Schwartz, Woodruff, & Cramer, 2000; Schwartz et al., 1998), mientras que la delección de 1α -hidroxilasa en queratinocitos abole las propiedades antiproliferativas de la $25(\text{OH})\text{D}_3$ (D. C. Huang et al., 2002).

2.1.3 Vitamina D y su receptor: Función en la piel.

Los queratinocitos de la piel son únicos, no solo porque son la fuente primaria de vitamina D para el organismo, sino porque además poseen la maquinaria enzimática necesaria para metabolizar esta vitamina D hacia sus metabolitos activos (en particular el $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, gracias a la 1α -hidroxilasa) y también el VDR que permite a los queratinocitos responder ante esta $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ generada por ellos mismos.

La capa basal de la epidermis se asienta sobre la lámina basal, que separa la dermis de la epidermis. En esta capa están las células germinales que proliferarán para formar las capas superiores más diferenciadas. El $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ producido endógenamente, a través del VDR, regula la proliferación en esta capa basal de la epidermis y promueve la diferenciación secuencial de queratinocitos a medida que forman las capas superiores de la epidermis. La pérdida del VDR o la pérdida de la capacidad de producir $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ deriva en una hiperproliferación de las capas basales con alteración de la función de las capas más diferenciadas y con alteración de la inmunidad innata.

La especificidad de la acción del VDR en la piel para las diferentes funciones que regula se atribuye en parte a los diferentes correguladores que modulan sus acciones genómicas. Entre ellos se incluyen el complejo *Vitamin D Receptor Interacting Protein* (DRIP), el *Steroid Receptor Coactivator* (SRC, de los cuales SRC 2 y 3 están presentes en los queratinocitos), el *Hairless inhibitor* (Hr), y la β -catenina, cuyo impacto en la función del VDR es compleja (Bikle, 2012).

Diferentes correguladores parecen tener relación con diferentes funciones del VDR. Por ejemplo, en la proliferación de queratinocitos de la epidermis y del folículo piloso, el complejo DRIP es el corregulador dominante. Para los queratinocitos más diferenciados de la epidermis, son los complejos SRC 2 y 3 los que dominan la función del VDR. El papel de Hr está menos claro. (Figura 11).

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

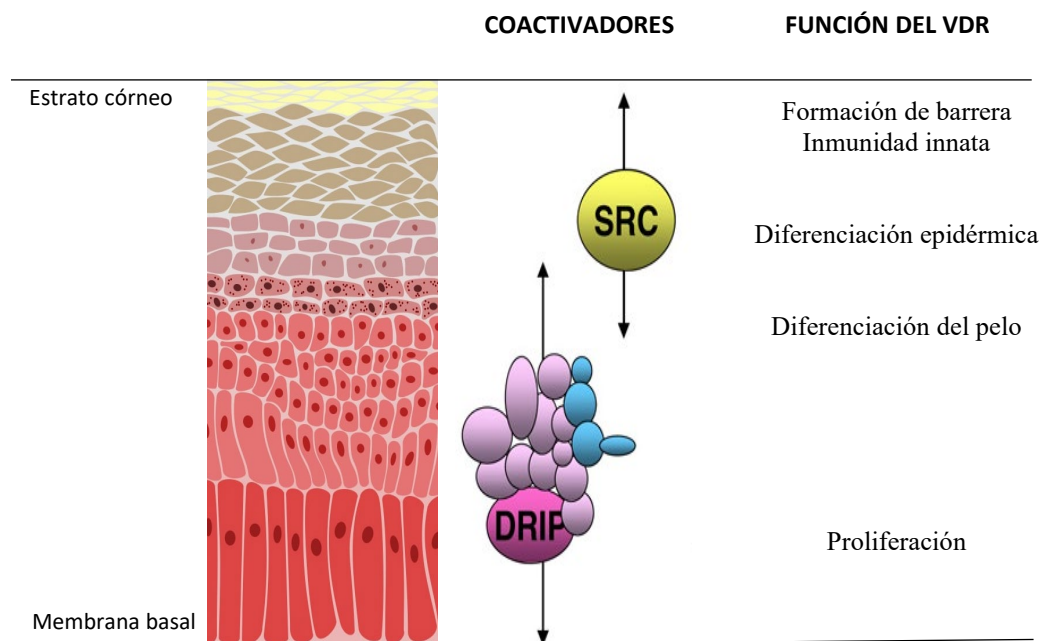


Figura 11. Diferentes capas de la epidermis y las funciones en cada una de las capas reguladas por el VDR y sus coactivadores. La capa basal de la epidermis contiene las células madre que proliferarán y proveerán de células las capas superiores. Modificado de Bikle (Bikle, 2012).

Existen numerosas funciones de la piel reguladas por la vitamina D y/o su receptor. Entre ellas se incluyen:

- Inhibición de la proliferación. La vitamina D se ha usado desde los años 30 para tratar múltiples enfermedades de la piel, incluyendo la psoriasis. Sin embargo, hasta mediados de los 80 no reemergió el interés por este potencial terapéutico de la vitamina D, cuando se publicó el caso de un paciente con psoriasis que mejoró drásticamente al recibir vitamina D para el tratamiento de su osteoporosis (Morimoto & Kumahara, 1985). Desde entonces no ha

dejado de observarse la vitamina D como posible tratamiento para enfermedades hiperproliferativas. Como se expone anteriormente en el trabajo, en los queratinocitos psoriásicos, que sobreexpresan TGF- α , la 1,25(OH) $_2$ D $_3$ contribuye a la eficacia del tratamiento al inhibir el TGF- α /EGFR (Cordero et al., 2002).

- Promoción de la inmunidad innata e inmunosupresión. Las propiedades inmunosupresoras de la 1,25(OH) $_2$ D $_3$ sobre las células de Langerhans, las células presentadoras de antígenos de la epidermis, podrían mediar en la eficacia de la vitamina sobre la psoriasis o el melanoma. (Dusso et al., 2005)
- Regulación del ciclo folicular. Los queratinocitos que rodean al folículo piloso también poseen VDR. El complejo 1,25(OH) $_2$ D $_3$ -VDR es esencial para el desarrollo normal de la piel y del pelo. El papel del VDR queda demostrado al observarse el desarrollo de alopecia en pacientes con raquitismo hereditario resistente a la vitamina D y en ratones en los que se bloquea el VDR, mientras que la alopecia no ocurre cuando lo que se bloquea es la 1 α -hidroxilasa (Bikle, Elalieh, Chang, Xie, & Sundberg, 2006; Hochberg et al., 1985; Marx, Bliziotis, & Nanes, 1986). Además, al corregirse el calcio sérico no se corrige la alopecia o la dilatación de los folículos pilosos (Y. C. Li et al., 1998). Estudios realizados posteriormente sobre el papel del VDR en el ciclo celular nos han permitido identificar el Hr como un potente represor de la transcripción mediada por VDR (Hsieh et al., 2003).
- Supresión de la formación de tumores. El VDR también es un supresor de tumores. Los ratones que pierden el VDR son más susceptibles a la

formación de tumores en la piel inducidos por medios químicos o radiación ultravioleta (Bikle, 2011).

- Estímulo de la diferenciación. Los queratinocitos normales producen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ que induce a la formación de proteínas directamente relacionadas con la diferenciación. Además, entre los efectos autocrinos de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ se incluye el incremento de la expresión génica de fosfolipasa C, que se requiere para la modulación del queratinocito por el calcio (Bikle, Oda, & Xie, 2004). Se ha demostrado que la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ es necesaria para el mantenimiento del exacto gradiente del calcio en la epidermis, que afecta a la función del queratinocito, a la integridad de la permeabilidad de la barrera cutánea y a la recuperación cuando la barrera se interrumpe.

2.1.4 Vitamina D, luz solar y enfermedad.

La vitamina D es la vitamina de la luz del sol, que ha sido producida en nuestro planeta durante más de 500 millones de años. De hecho, sabemos que la vida se originó en los océanos hace aproximadamente un billón de años y ya los primeros seres se aprovecharon de la luz solar y la usaron como fuente de energía para generar carbohidratos. Curiosamente, algunos de los primeros fitopláctones al exponerse a la luz solar no solo fotosintetizaban glucosa, sino que también producían vitamina D_2 (Wacker & Holick, 2013).

Cuando la revolución industrial se inició en Europa en el siglo XVIII, con los edificios construidos en proximidad y el carbón causando polución, apareció

una enfermedad ósea deformante, el raquitismo, que tuvo devastadoras consecuencias para la salud. La primera observación sobre la posible relación entre la industrialización en el norte de Europa y la enfermedad la realizó Sniadecki (Sniadecki, 1939) en 1822 cuando concluyó que los niños que vivían en la ciudad de Varsovia tenían mayor incidencia de raquitismo que aquellos que vivían en la periferia debido a la falta de exposición solar. Posteriormente otros investigadores harían aseveraciones reveladoras similares.

La osteoporosis, la enfermedad metabólica ósea más frecuente y la que desarrolla uno de los mayores problemas de salud pública actualmente en todo el mundo debido a los enormes costos sociales y económicos que genera, está relacionada también, entre otros, con algunos factores de riesgo nutricionales: personas con baja ingesta de calcio, vitamina D (Holick, 2006b) o vitamina K (Okano, 2005) alcanzan una menor densidad mineral ósea (DMO). Además, una revisión sistemática sugiere que los suplementos de vitamina D a dosis elevadas, de 700 a 1000 unidades internacionales (UI) al día, pero no a dosis menores, pueden reducir el riesgo de caídas en adultos de edad avanzada (Bischoff-Ferrari et al., 2009) y además han demostrado un efecto beneficioso en el equilibrio y en la fuerza muscular (Muir & Montero-Odasso, 2011).

La salud cardiovascular también está íntimamente ligada a los niveles de vitamina D. En 1997 Rostand informó de que existía una asociación entre la latitud y la prevalencia de hipertensión (Rostand, 1997). Posteriormente vinieron otros estudios que informaron de que la exposición a la radiación UVB reducía tanto la presión sistólica como diastólica en pacientes con hipertensión arterial (Krause, Buhning, Hopfenmuller, Holick, & Sharma, 1998). Se han presentado asimismo varios estudios que sugieren una asociación entre la deficiencia de vitamina D y el riesgo de infarto de miocardio y de la muerte por este (Milazzo,

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

De Metrio, Cosentino, Marenzi, & Tremoli, 2017; Muscogiuri et al., 2017). Dos factores contribuyentes en la enfermedad cardiovascular son la obesidad y la diabetes *mellitus* tipo 2 (DM-2). Es bien sabido que existe una relación inversa entre las concentraciones de 25(OH)D₃ y el IMC, debido a una “dilución” de esta vitamina liposoluble en el tejido graso (Wortsman et al., 2000). Además, existe una asociación entre la deficiencia de vitamina D y un aumento de riesgo DM-2 (Mathieu et al., 2005). También la 1,25(OH)₂D₃ reduce el riesgo de formación de placas ateroscleróticas (Muscogiuri et al., 2017). Sin embargo, en una revisión reciente de Veloudi *et al.* (Veloudi, Jones, & Sharman, 2017) se ha demostrado que la suplementación con vitamina D no es efectiva para mejorar la salud cardiovascular en pacientes, tengan o no deficiencia de vitamina D.

También existen varios estudios que demuestran la asociación entre nacer o vivir cerca del ecuador y la disminución de enfermedades autoinmunes, como por ejemplo la diabetes *mellitus* tipo 1 (DM-1), la enfermedad de Crohn o la artritis reumatoide. (Breuer et al., 2014; Cadario et al., 2015; Holmes, Xiang, & Lucas, 2015; Touma et al., 2011). Las enfermedades autoinmunes más comunes, como la DM-1, la artritis reumatoide o la esclerosis múltiple, se han prevenido de forma satisfactoria en ratones predispuestos a estas enfermedades si recibían 1,25(OH)₂D₃ de forma temprana (Cantorna, Hayes, & DeLuca, 1996, 1998; DeLuca & Cantorna, 2001; Gregori, Giarratana, Smiroldo, Uskokovic, & Adorini, 2002; Mathieu, Waer, Laureys, Rutgeerts, & Bouillon, 1994). Esto se complementa con la observación de Hypponen *et al.* (Hypponen, Laara, Reunanen, Jarvelin, & Virtanen, 2001) que informa de que los niños que reciben 2000 UI de vitamina D desde que tienen un año de edad disminuyen el riesgo de tener DM-1 en el futuro en un 80%.

Además de la inmunidad celular, la vitamina D juega un papel importante en la inmunidad innata. Ya durante la primera parte del siglo XX la exposición solar y la vitamina D se usaron para tratar y prevenir las infecciones de las vías aéreas superiores y la tuberculosis (Everett, 1846).

La eficacia del sistema endocrino de la vitamina D para controlar la infección, las enfermedades autoinmunes y la tolerancia en los trasplantes puede ser atribuida a los efectos proinflamatorios de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ en monocitos y macrófagos, células presentadoras de antígenos, células dendríticas y linfocitos (Dusso et al., 2005).

La $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ inhibe el rechazo de los tejidos trasplantados. En trasplantes cardíacos experimentales en ratas, la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ es más eficaz que la ciclosporina para prolongar la supervivencia del injerto, sin incrementar la susceptibilidad a infecciones fúngicas o virales (Hullett et al., 1998).

En el ámbito de la salud mental, la vitamina D también juega un papel importante. La esquizofrenia ha sido relacionada con una inadecuada exposición solar y déficit de vitamina D (Kinney et al., 2009). Además, existen estudios varios que relacionan el déficit de vitamina D con un aumento del riesgo de depresión (Annweiler, Rastmanesh, Richard-Devantoy, & Beauchet, 2013; Hoogendijk et al., 2008), enfermedad de Alzheimer (Annweiler, Llewellyn, & Beauchet, 2013) y epilepsia (Hollo, Clemens, Kamondi, Lakatos, & Szucs, 2012).

Hay múltiples estudios que relacionan la vitamina D y mortalidad, como el metaanálisis de Autier *et al.* (Autier & Gandini, 2007), en el que se encontró que la ingesta de suplementos de vitamina D parecía estar relacionado con una disminución de la mortalidad. Además se ha realizado posteriormente otro

metaanálisis (Schottker et al., 2014) en el que se han analizado 8 estudios prospectivos de diferentes países europeos y Estados Unidos (EE.UU.) para investigar la asociación entre los niveles de 25(OH)D₃ y muerte en general, muerte por causas cardiovasculares y muertes por cáncer, prestando particular atención a las potenciales diferencias entre países, sexos, grupos de edad y estaciones. A pesar de que los niveles de 25(OH)D₃ varían mucho según estos factores, la asociación entre 25(OH)D₃ y muertes por todas las causas o por causas específicas parecía ser significativa.

Asimismo, en el contexto de la “*Tercera encuesta sobre salud y nutrición nacional de EE.UU.*” (*Third National Health and Nutrition Examination Survey – NHANES III, USA*), se ha realizado un estudio en 13.331 adultos de 20 años de edad o más, seguidos durante un período de 8.7 años (Melamed, Michos, Post, & Astor, 2008). Ocurrieron 1806 muertes, 777 por enfermedad cardiovascular y 424 por cáncer. Se objetivó que los niveles séricos por debajo de 17.8 ng/ml estaban asociados con un aumento de un 26% en la mortalidad por todas las causas (Intervalo de confianza (IC) del 95%: 8% - 46%).

2.1.5 Vitamina D, luz solar y cáncer.

Uno de los primeros estudios que asoció la exposición solar y el riesgo de cáncer fue el publicado por Hoffman en 1916 (Hoffman, 1916), que encontró que vivir a mayor latitud estaba asociado con una mayor mortalidad por cáncer.

Años después, Apperly (Apperly, 1941) concluyó en su estudio que la incidencia de mortalidad por cáncer en Norte América era mayor en agricultores que vivían en el noreste comparados con aquellos que vivían en el sur. Sin

embargo, también informa que los que vivían en el sur, que estaban más expuestos a la luz solar, tenían mayor riesgo de cáncer cutáneo no melanoma, que él consideró que eran más fáciles de detectar y tratar. Él concluyó que el hecho de que estos agricultores del sur tuvieran más cáncer de piel no melanoma más fácil de tratar se debía a que ellos desarrollaron una inmunidad al cáncer de piel que además resultó en una inmunidad a otros tipos de cáncer, incluyendo a aquellos con una alta tasa de mortalidad.

En los años 80 se demostró por primera vez que la forma activa de la vitamina D, la 1,25-dihidroxitamina D₃, podía inhibir la proliferación de células de melanoma *in vitro* (K. Colston, Colston, & Feldman, 1981). Realmente este fue un hallazgo fortuito, ya que las células cancerosas están más disponibles en los laboratorios que las células normales y en este caso las células elegidas estaban en el laboratorio adyacente. Otros estudios animales e *in vitro* indican que la vitamina D podría tener beneficios anticáncer, incluyendo protección contra la progresión y metástasis, en un amplio espectro de cánceres.

En 1980, Garland y Garland hipotetizaron que el déficit de vitamina D podría contribuir a un mayor riesgo de mortalidad por cáncer de colon (C. F. Garland & Garland, 1980). Posteriormente, Garland *et al.* propusieron una asociación similar para los cánceres de mama (F. C. Garland, Garland, Gorham, & Young, 1990) y ovario (Lefkowitz & Garland, 1994). También Schwartz *et al.* y Hanchette *et al.* hipotetizaron que existía una relación similar para el cáncer de próstata (Hanchette & Schwartz, 1992; Schwartz & Hulka, 1990). Más recientemente, Grant ha demostrado que las tasas de mortalidad para estos y otros cánceres están inversamente relacionadas con la exposición en las distintas regiones a la radiación UVB (Grant, 2002).

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

No conocemos que exista en la literatura ningún estudio que haya examinado prospectivamente la relación entre las concentraciones plasmáticas de vitamina D o la ingesta total de vitamina D y la incidencia o mortalidad por todos los cánceres. De hecho, los estudios que se han llevado a cabo en este contexto se limitan en general a exámenes de la latitud como mecanismo de examen de la radiación UVB, como el estudio de Grant que mencionamos, que usó datos de UVB para estimar en 24.000 las muertes prematuras por cáncer atribuibles anualmente en los EE.UU. a exposición subóptima a radiación UVB (Grant, 2002). Él encontró una correlación inversa entre tasas de mortalidad por cáncer y radiación UVB regional para cáncer de mama, colon, recto, ovario, próstata, estómago, vejiga, esófago, riñón, pulmón, páncreas y útero, además de para el linfoma no-Hodgkin y el mieloma múltiple. Estas asociaciones persistieron después de ajustar según otros factores de riesgo, como el fumar, factores dietéticos o el uso de antiinflamatorios no esteroideos. Aunque hay que interpretar con cautela estos datos, no se ha encontrado otra explicación alternativa.

Otros estudios han demostrado además un gradiente norte-sur en cuanto a la mortalidad por cáncer de próstata en EE.UU., con mayor mortalidad en el norte, posiblemente relacionado con la falta de vitamina D activa (Hanchette & Schwartz, 1992; Schwartz & Hulka, 1990). Además, una vez diagnosticado el cáncer de próstata, parece que la vitamina D puede retrasar la progresión desde un cáncer de próstata indolente a una enfermedad más activa (Hanchette & Schwartz, 1992; Schwartz & Hulka, 1990). Se ha demostrado también que la administración oral de vitamina D retrasa la recurrencia del cáncer de próstata después del tratamiento primario (Gross, Stamey, Hancock, & Feldman, 1998).

Otro estudio basado en 115.096 casos y 45.667 muertes por cáncer de mama, colon o próstata diagnosticados entre 1964 y 1992 en Noruega, encontró una llamativa reducción del 30% en las tasas de mortalidad para estos cánceres diagnosticados en verano y otoño, cuando los niveles de vitamina D son más elevados comparados con el invierno (Robsahm, Tretli, Dahlback, & Moan, 2004). Este hallazgo sugiere que un elevado nivel de vitamina D en el momento del diagnóstico, y posiblemente durante la duración del tratamiento del cáncer, podría mejorar el pronóstico de, al menos, estas tres neoplasias.

En varios estudios observacionales se ha asociado la toma de vitamina D y las concentraciones séricas altas de vitamina D con una disminución del riesgo de cáncer de mama (Bertone-Johnson et al., 2005; K. W. Colston, Lowe, Mansi, & Campbell, 2006; Shin et al., 2002).

La obesidad, que reduce sustancialmente los niveles de vitamina D circulantes, ha sido asociada con un incremento de la mortalidad en numerosos tipos de cáncer (Calle, Rodriguez, Walker-Thurmond, & Thun, 2003), incluyendo colon, mama y próstata. Igualmente, entre afroamericanos, que también tienen menor cantidad de vitamina D circulante, los hombres tienen un 40% y las mujeres un 20% mayor tasa de mortalidad para cáncer total que sus análogos blancos. Los negros tienen mayor tasa de mortalidad y menor supervivencia que cualquier otro grupo étnico en los Estados Unidos para la mayoría de cánceres (American-Cancer-Society, 2019).

Desde hace años también se viene apoyando la hipótesis del beneficio de la vitamina D en cáncer en diversos estudios que administran $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ en modelos tumorales animales (Lucia et al., 1995; Schwartz, Hill, Oeler, Becich, & Bahnson, 1995) y en pequeños estudios clínicos en humanos que muestran que la

administración de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ puede ralentizar por ejemplo la progresión del cáncer prostático avanzado (Beer, 2003; Gross et al., 1998; G. Liu et al., 2003).

En otros modelos tumorales, incluyendo cáncer de pulmón (Nakagawa, Kawaura, Kato, Takeda, & Okano, 2004), hueso (Barroga, Kadosawa, Okumura, & Fujinaga, 2000), colon (S. R. Evans et al., 2000), riñón (Fujioka et al., 1998), melanocitos (Yudoh, Matsuno, & Kimura, 1999), retina (Albert, Marcus, Gallo, & O'Brien, 1992), mama (Sundaram et al., 2003) y próstata (Lokeshwar, 1999), se ha observado que la vitamina D tiene actividad antimetastásica.

Por tanto, aunque no existen estudios a muy largo plazo, estudios *in vitro*, animales y datos clínicos apoyan el papel beneficioso de la vitamina D contra la incidencia o progresión de un amplio espectro de cánceres y con la mortalidad derivada de ellos.

2.2 Receptor de la vitamina D (VDR).

2.2.1 Introducción

El principal logro en la investigación sobre la vitamina D fue el descubrimiento del VDR (Haussler et al., 1988).

El VDR es una fosfoproteína de 427 aminoácidos y 48 kilodaltons (kDa) en la que se reconocen varios dominios bien definidos que pueden funcionar de forma autónoma: dominio de unión al ADN (DBD), dominio de unión al ligando u

hormona (calcitriol o vitamina D₃) (LBD), dominio relacionado con la dimerización y lugar de unión a proteínas nucleares correguladoras del complejo transcripcional (Figura 12).

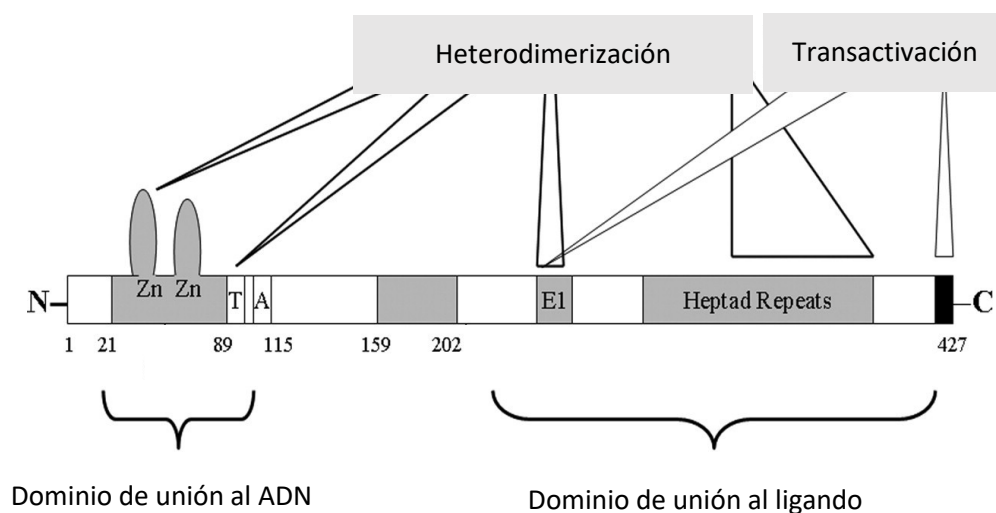


Figura 12. Dominios funcionales del receptor de la vitamina D. Modificado de Dusso (Dusso et al., 2005).

Las acciones de la 1,25(OH)₂D₃ y sus análogos sintéticos están mediadas por este receptor nuclear, el VDR, que es la única proteína nuclear que se une a esta hormona con alta afinidad. Las moléculas 25(OH)D₃ y 24,25(OH)D₃ se unen con 100 veces menos afinidad (Brumbaugh & Haussler, 1974; Mellon & DeLuca, 1979).

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Los receptores nucleares⁵ endocrinos y más concretamente el VDR, al unirse con su ligando específico, interaccionan, tras heterodimerizarse con el RXR, con secuencias específicas de ADN para modificar la transcripción de genes controlados por estos VDRE. El VDR activado por la 1,25(OH)₂D₃ interacciona específicamente con secuencias de ADN y regula su tasa de transcripción (Brown et al., 1999). Además, existen interacciones del VDR con otros componentes transcripcionales y coactivadores (Figura 4).

Una alteración en cualquiera de estos pasos puede influir en la actividad del complejo Vitamina D - VDR, como: 1. La tasa de captación celular y catabolismo del calcitriol.; 2. Los niveles del VDR; 3. Modificaciones post-traduccionales del VDR; 4. Disponibilidad nuclear de otros componentes transcripcionales y corre reguladores (Garnero & Delmas, 1998). El regulador mejor conocido es el calcitriol: La unión con la 1-25(OH)₂D₃ estabiliza el VDR y prolonga su vida media (Delissalde et al., 1998).

El VDR se distribuye ampliamente en multitud de tipos celulares. Originalmente se encontró en los tejidos diana clásicos de la vitamina D, es decir, en los tejidos implicados en la homeostasis del calcio: en la mucosa intestinal (Pike, 1982), paratiroides (Hughes & Haussler, 1978), osteoblastos (K. W. Colston & Feldman, 1979), y en las células de los túbulos proximal y distal del riñón (Simpson & DeLuca, 1980). Pero existen receptores en otros muchos tejidos como el músculo (Bischoff et al., 2001), el páncreas (Kream, Jose, Yamada, & DeLuca,

⁵ Los receptores nucleares son factores de transcripción activados por ligando que modulan la expresión de diferentes genes.

1977), los órganos reproductores (Stumpf & Denny, 1989), el cerebro (Stumpf, Sar, Clark, & DeLuca, 1982), los pulmones (Sandgren, Bronnegard, & DeLuca, 1991), el sistema hematopoyético (Kizaki et al., 1991) o la epidermis (Brumbaugh & Haussler, 1974, 1975). La respuesta al proceso descrito con anterioridad es específica de cada tejido y varía desde complejas acciones de homeostasis para control del metabolismo mineral hasta acciones de inmunomodulación, control de sistemas hormonales o acciones locales que regulan el crecimiento, diferenciación y función de cada tipo celular. En cada uno de estos tejidos, los genes diana son numerosos. (Pike & Meyer, 2012). Estas acciones abren un amplio campo de posibles aplicaciones terapéuticas en enfermedades autoinmunes, alteraciones endocrinas o en desórdenes hiperproliferativos (Brown et al., 1999).

Los ligandos del VDR parecen ser importantes para la regulación del crecimiento y diferenciación celular normal y tienen acciones en la prevención y tratamiento de enfermedades hiperproliferativas. Concretamente en la epidermis, la 1,25-dihidroxitamina D₃ y su VDR parece que juegan un papel importante en la diferenciación del queratinocito. De hecho, los ratones a los que se les ha bloqueado el VDR exhiben una diferenciación epidérmica reducida y alopecia (Bikle, Chang, et al., 2004). Además, la 1,25-dihidroxitamina D₃ y sus análogos⁶ se han usado de forma satisfactoria para el tratamiento de la psoriasis, una

⁶ El uso de análogos de la vitamina D puede ser controvertido por su potencial para promover la hipercalcemia. Sin embargo, ciertos análogos de vitamina D inducen menos efecto en los niveles de calcio mientras que mantienen su capacidad de inducir la diferenciación del queratinocito (Eelen et al., 2006).

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

enfermedad cutánea humana caracterizada por la hiperproliferación, diferenciación anormal e inflamación de la epidermis (Fogh & Kragballe, 2004).

Pero este receptor también se encuentra en diversos tejidos malignos, entre los que se incluyen el carcinoma basocelular (Kamradt et al., 2003; Mitschele et al., 2004; Tang et al., 2012), el carcinoma espinocelular (Tang et al., 2012) y el melanoma (Reichrath et al., 2004).

2.2.2 Polimorfismos del gen del VDR

El desarrollo de anticuerpos monoclonales dirigidos contra el VDR permitió el aislamiento del ADN del VDR para aves, humanos, ratones y ratas (Baker et al., 1988; Burmester, Maeda, & DeLuca, 1988; Kamei et al., 1995; McDonnell, Mangelsdorf, Pike, Haussler, & O'Malley, 1987).

El gen del VDR en humanos se localiza en el brazo largo del cromosoma 12 (12q13-14) (Gomez Alonso, Naves Diaz, Diaz-Corte, Fernandez Martin, & Cannata Andia, 1998; Martinez & Willett, 1998) y comprende una región de aproximadamente 100 kilobases (kb) de ADN aunque solo 4,63 kb son las que codifican la proteína (Brown, 1999; Ruggiero et al., 1998). Está formado por 11 exones, de los cuales 8 son codificantes (Miyamoto et al., 1997), y sus intrones asociados, así como varias regiones no codificadoras en posición 5' (Garnero & Delmas, 1998).

La caracterización e identificación de cientos de miles de loci polimórficos distribuidos a lo largo de los 3.250 millones de nucleótidos (*Single Nucleotide Polymorphisms* - SNPs) que constituyen nuestro genoma (Levy et al., 2007; Sachidanandam et al., 2001) constituye una de las contribuciones más importantes de la secuenciación del genoma humano (Lander et al., 2001; Venter, 2003; Venter et al., 2001). Se estima que los SNPs son responsables aproximadamente de tres millones de las diferencias promedio individuales.

Un polimorfismo es una variante genética que aparece al menos en el 1% de los cromosomas de una población. Las secuencias polimórficas son secuencias de ADN que, normalmente, no codifican para un producto génico, se distribuyen de forma más o menos aleatoria a lo largo del genoma y presenta la característica de ser polimórficas.

Hace años ya se identificaron varios polimorfismos en el VDR humano (Faraco, Morrison, Baker, Shine, & Frossard, 1989; Feldman & Malloy, 1990) y se ha relacionado la frecuencia de ciertos alelos con la DMO (Koshiyama, Sone, & Nakao, 1995; Morrison et al., 1994), la susceptibilidad al hiperparatiroidismo primario (Carling et al., 1995) y la respuesta de la psoriasis al tratamiento con vitamina D (Kontula, Valimaki, Kainulainen, Viitanen, & Keski-Oja, 1997), entre otros muchos.

Estas variantes polimórficas pueden estar localizadas en regiones reguladoras o codificantes de un gen, o bien en regiones intergénicas. Las variantes localizadas en un gen pueden inducir cambios en el patrón de expresión del gen o introducir cambios en la proteína. Si las variaciones se localizan en un exón pueden generar la alteración en la secuencia de un codón de forma que este siga codificando el mismo aminoácido o bien que el codón codifique un aminoácido

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

diferente alterando la secuencia de la proteína, resultando una alteración en la función biológica. Sin embargo, la mayoría de estas variaciones en el gen del VDR no se localizan en áreas que afectan a la estructura de la proteína (Faraco et al., 1989; Feldman & Malloy, 1990), de forma que pueden modificar su funcionalidad sin alterar la estructura final del receptor (Dusso & Brown, 1998) (Figura 13).

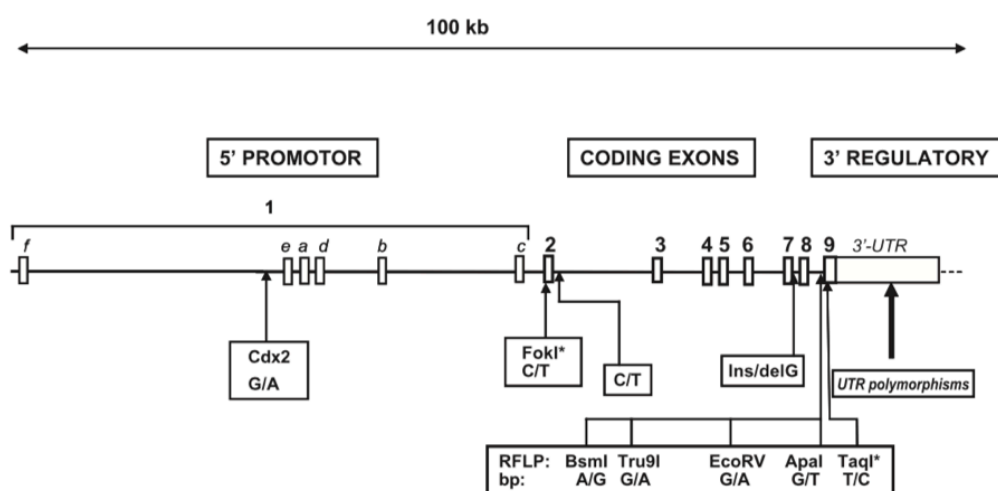


Figura 13. Estructura del gen de la proteína VDR y localización de los polimorfismos comunes. Tomado de Uitterlinden. (Uitterlinden, Fang, Van Meurs, Pols, & Van Leeuwen, 2004).

Por ejemplo, se ha descrito una mutación en el exón 2 (región codificante), que puede ser detectada por la enzima de restricción *FokI*, que modifica el codón inicial ATG por ACG (T/C) y que presenta 3 aminoácidos extras (metionina, treonina y serina) en la estructura del VDR (Stumpf et al., 1982). Del mismo modo,

utilizando las enzimas de restricción *BsmI*, *Apal* y *TaqI*, se han identificado en la región 3'UTR⁷ del gen del VDR humano polimorfismos en la región no codificante. Además de *BsmI* (rs1544410) (Morrison, Yeoman, Kelly, & Eisman, 1992), *Apal* (rs7975232) (Faraco et al., 1989) y *TaqI* (rs731236) (Morrison et al., 1992), existen otros polimorfismos de tipo *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) como *Tru9I* (rs757343) (Ye, Reis, & Velho, 2000) y *EcoRV*, también denominado *A-1012G* o *GATA* (rs4516035) (Mocellin & Nitti, 2008). Además, se ha localizado un polimorfismo de tipo microsatélite conocido como *PolyA* (rs17878969), que consiste en la repetición de un número variable de adeninas que oscilan entre repeticiones de 15 a 18 (formas cortas de *PolyA*) y repeticiones de más de 20 (formas largas de *PolyA*). Aunque menos estudiados, también existen polimorfismos de la región 5'UTR, como el *Cdx-2* (rs11568820).

En esta región 3'UTR se ha identificado una gran variabilidad genética debida a la presencia de varios polimorfismos. Esta variabilidad ha sido ampliamente discutida en la literatura, así como la posición que ocupa cada uno en la región 3'UTR. Morrison *et al.* hablan de 13 polimorfismos (Morrison et al., 1994), mientras que Durrin *et al.* describen 7 de estos (Durrin, Haile, Ingles, & Coetzee, 1999). Sorprendentemente, solo dos secuencias eran comunes en ambos estudios.

⁷ En genética se denomina región no traducida o UTR al sector extremo de los genes. Se habla generalmente de una región no traducida cinco prima (5') y de una región no traducida tres prima (3') que son las dos partes no traducidas de cada gen, debido a que se encuentran colindando el marco abierto de lectura.

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

La mayor parte de las variaciones polimórficas están localizadas en regiones intergénicas, sin efectos fenotípicos observables o disfunción grave, aunque estas variaciones pueden actuar como marcadoras de las secuencias adyacentes, dando como resultado “desequilibrios de ligamientos” (Reich et al., 2001). Por esto resulta de gran interés el conocimiento de la relación de vecindad entre polimorfismos contiguos en una determinada región genómica. Esta relación de vecindad entre polimorfismos se obtiene a partir del estudio del desequilibrio de ligamiento de la región y el establecimiento del patrón de bloques de la misma. Los SNPs contenidos en un mismo bloque presentan un alto desequilibrio de ligamiento entre ellos y muy bajo desequilibrio de ligamiento con SNPs que se encuentran fuera de ese bloque (Fang et al., 2005; Nejentsev et al., 2004).

La región 3'UTR del gen del VDR está relacionada con la estabilidad del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) y, por tanto, con el nivel de expresión del VDR. Los polimorfismos *Apal*, *BsmI* y *TaqI* presentan una alta asociación debido fundamentalmente al alto desequilibrio de ligamiento que presenta esta región.

Nosotros analizamos para este trabajo dos de estos polimorfismos, definidos por las enzimas de restricción⁸ *BsmI* (rs1544410) y *Apal* (rs7975232). En el polimorfismo de *BsmI* (intrón 8) se sustituye el nucleótido adenina por guanina (G>A) (Dehghan & Pourahmad-Jaktaji, 2016). Como SNP silente, no cambia la secuencia de aminoácidos de la proteína que codifica, pero puede afectar la

⁸ Una enzima de restricción o endonucleasa de restricción es una endonucleasa de origen bacteriano capaz de reconocer una secuencia característica de nucleótidos dentro de una molécula de ADN y cortar el ADN en ese punto concreto llamado diana de restricción o sitio de restricción (*restriction site* o rs).

expresión del gen al regular la estabilidad del ARNm. Como en *BsmI*, el polimorfismo *Apal* también se localiza en el intrón 8 en la región 3', y provoca un cambio de guanina por timina (T>G) (Dehghan & Pourahmad-Jaktaji, 2016).

2.2.3 Polimorfismos del gen del VDR y enfermedad.

Debido a que la vitamina D a través de su VDR interviene en multitud de procesos biológicos, es posible encontrar alteraciones en los niveles de expresión o función de dicho receptor debido a la presencia de variantes polimórficas del gen que pudieran estar relacionadas con distintas enfermedades. Es complejo establecer causalidad entre las asociaciones de los polimorfismos del gen del VDR, presentándose resultados contradictorios en multitud de los estudios realizados.

Las consecuencias fisiológicas de los polimorfismos del gen del VDR han sido ampliamente estudiada en multitud de procesos patológicos. Concretamente el efecto de los polimorfismos del gen del VDR se ha explorado extensamente en relación con la insuficiencia renal debido al complejo papel fisiológico que desempeña la vitamina D en estos pacientes. Tsukamoto *et al.* (Tsukamoto et al., 1996) reportaron una mayor incidencia del alelo *b*⁹ del polimorfismo *BsmI* en pacientes sometidos a hemodiálisis con hiperparatiroidismo secundario. La

⁹ La nomenclatura utilizada para los polimorfismos de tipo RFLP hace referencia a la ausencia (se denota con letras mayúsculas) o presencia (se denota con letras minúsculas) de la diana de restricción. Es decir, se designa con mayúsculas el alelo salvaje y con minúsculas el alelo mutado.

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

asociación del genotipo *BsmI* con los niveles de PTH también ha sido estudiado en pacientes trasplantados de riñón, y se ha objetivado que el genotipo *bb* está relacionado con niveles mayores de PTH (Giannini et al., 2002) y una mejor recuperación postquirúrgica de la DMO tres meses después del trasplante (Falkiewicz et al., 2005; Torres et al., 1996). La asociación entre la insuficiencia renal y el resto de polimorfismos del gen del VDR no ha sido tan ampliamente estudiada como en el caso del polimorfismo *BsmI*. Sí existe por ejemplo un estudio en el que se relaciona el genotipo *FF* del polimorfismo *FokI*, con altos niveles de PTH en pacientes prediálisis (Vigo Gago et al., 2005). Por su parte, el genotipo *AA* del polimorfismo *Apal* ha sido relacionado con niveles mayores de PTH y osteocalcina en pacientes prediálisis (Yokoyama et al., 1998). Otros estudios han relacionado a los polimorfismos del gen del VDR con la nefrolitiasis (Mossetti et al., 2003; Nishijima et al., 2002; Ozkaya et al., 2003; Ruggiero, Pacini, Amato, Aterini, & Chiarugi, 1999), con resultados contradictorios.

En 1992, Morrison (Morrison et al., 1992) describió por primera vez la relación entre el polimorfismo *BsmI* y los niveles de osteocalcina. En este trabajo la presencia del alelo *bb* estaba relacionado con una mayor DMO. Este artículo, junto con otro publicado en *Nature* en 1994 (Morrison et al., 1994) en el que la presencia del genotipo *BB* se relacionaba con menor DMO en mujeres postmenopáusicas, sentó las bases de decenas de artículos que se publicarían posteriormente.

Se han realizado estudios en población normal (Morrison et al., 1994; Uitterlinden et al., 1996; Yamagata et al., 1994), en gemelos (Hustmyer, Peacock, Hui, Johnston, & Christian, 1994; Morrison et al., 1994), en mujeres premenopáusicas (Fleet, Harris, Wood, & Dawson-Hughes, 1995; Garnero, Borel, Sornay-Rendu, & Delmas, 1995; Houston, Grant, Reid, & Ralston, 1996), en

mujeres postmenopáusicas (Gross et al., 1996; Houston et al., 1996; Keen, Major, Lanchbury, & Spector, 1995; Krall, Parry, Lichter, & Dawson-Hughes, 1995; Kroger et al., 1995; Looney et al., 1995), en ancianas (Ferrari et al., 1995; Gross et al., 1996; Melhus et al., 1994), en mujeres sanas (Riggs et al., 1995), en mujeres con osteoporosis (Riggs et al., 1995) e incluso comparando entre mujeres blancas y negras (Fleet et al., 1995).

Todos estos estudios aportaron resultados contradictorios, algunos confirmando asociación (Cooper & Umbach, 1996; G. Gong et al., 1999; Keen et al., 1995; Langdahl, Gravholt, Brixen, & Eriksen, 2000; Rubin et al., 1999; Sainz et al., 1997), otros no encontrando asociación (Hustmyer et al., 1994; S. K. Lim et al., 1995; Looney et al., 1995; Melhus et al., 1994; Peacock, 1995; Uitterlinden et al., 1996) y otros incluso encontrando el efecto contrario (Houston et al., 1996). Estas discrepancias podrían explicarse por diferencias en la dieta (Kiel et al., 1997; Krall et al., 1995), por estar hechos los estudios en poblaciones dispares (Matsuyama et al., 1995; Morrison et al., 1994) o incluso por el tamaño muestral. Sin embargo, se acepta en general que el efecto de *BsmI* en la DMO es relativamente pequeño (2-3%) y está muy influenciado por otros factores no genéticos como la dieta (Valdivielso & Fernandez, 2006). Posteriormente se han realizado dos metaanálisis (Thakkinstian, D'Este, & Attia, 2004; Thakkinstian, D'Este, Eisman, Nguyen, & Attia, 2004) que han demostrado asociación entre el alelo *b* y la DMO.

También se han estudiado la relación entre la DMO y otros polimorfismos del gen del VDR, como *FokI* (Arai et al., 1997; Eccleshall, Garner, Gross, Delmas, & Feldman, 1998; Ferrari, Rizzoli, Manen, Slosman, & Bonjour, 1998; Gennari et al., 1999; Gross et al., 1996; Katsumata, Nishizawa, Unno, Fujita, & Tokita, 2002; Langdahl et al., 2000; Lau, Lam, Li, Ho, & Woo, 2002) o *Cdx-2*

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

(Arai et al., 2001; Casado-Diaz et al., 2013), también con resultados contradictorios.

Aparte de la DMO, en 1997 se publicaron dos artículos casi simultáneamente describiendo por primera vez la posible relación entre polimorfismos del VDR y el riesgo de artrosis (Keen, Hart, Lanchbury, & Spector, 1997; Uitterlinden et al., 1997). Posteriormente se publicaron más artículos (Aerssens, Dequeker, Peeters, Breemans, & Boonen, 1998; Baldwin et al., 2002; Granchi et al., 2002; J. Huang, Ushiyama, Inoue, Kawasaki, & Hukuda, 2000; Loughlin et al., 2000) para intentar demostrar esta relación, de forma infructuosa.

Aunque sin duda la mayor parte de estudios se han realizado sobre patologías relacionadas con el metabolismo mineral, también han sido estudiadas otras asociaciones de los polimorfismos del gen del VDR con enfermedades cardiovasculares, inmunológicas, dermatológicas, etc., aunque dichas asociaciones resultan aún más controvertidas que las descritas anteriormente.

Se han publicado multitud de estudios sobre polimorfismos del VDR y enfermedades cardiovasculares. Con respecto a la hipertensión arterial por ejemplo, se han observado mayores niveles de presión arterial en hombres y mujeres sanos portadores del alelo *b* del polimorfismo *BsmI* (Muray, Parisi, Cardus, Craver, & Fernandez, 2003). Por otra parte, parece que hay un aumento en la susceptibilidad a sufrir un infarto de miocardio en pacientes portadores del alelo *B* de *BsmI* (Ortlepp et al., 2005). Sin embargo, el mismo grupo no encontró relación entre los polimorfismos de *BsmI* y la severidad de la enfermedad coronaria (Ortlepp, von Korff, Hanrath, Zerres, & Hoffmann, 2003).

Con respecto a enfermedades inmunológicas, podemos encontrar en la literatura estudios en pacientes con lupus, cirrosis, hepatitis autoinmune, enfermedad de Crohn, enfermedad de Graves o esclerosis múltiple. Ozaki *et al.* (Ozaki *et al.*, 2000) y Huang *et al.* (C. M. Huang, Wu, Wu, & Tsai, 2002a) describieron una relación entre el alelo *B* de *BsmI* y la incidencia de lupus eritematoso sistémico, pero no parece existir tal relación entre los polimorfismos de *FokI* y esta enfermedad (C. M. Huang, Wu, Wu, & Tsai, 2002b). En el caso de la enfermedad de Crohn, parece que pudiera existir relación entre los polimorfismos de *TaqI*, *Apal* y *FokI* y la enfermedad (Simmons, Mullighan, Welsh, & Jewell, 2000). También se ha descrito asociación entre *BsmI* y *FokI* y cirrosis biliar primaria y hepatitis autoinmune (Fan *et al.*, 2005; Vogel, Strassburg, & Manns, 2002). En estudios con muestras de pacientes con esclerosis múltiple se observó una mayor presencia de los haplotipos *bA* (Fukazawa *et al.*, 1999; Niino *et al.*, 2000) y un aparente efecto diferencial entre los polimorfismos *TaqI* (Tajouri *et al.*, 2005) y *FokI* (Partridge *et al.*, 2004) respecto al riesgo de padecer esclerosis múltiple. Sin embargo, los efectos de *Apal* y *TaqI* no se confirmaron en otras poblaciones (Steckley *et al.*, 2000). Los resultados obtenidos en pacientes con enfermedad de Graves varían dependiendo de la etnicidad de los pacientes (Ban, Ban, Taniyama, & Katagiri, 2000; Ban, Taniyama, & Ban, 2000; Collins *et al.*, 2004; Ramos-Lopez *et al.*, 2005; Stefanic *et al.*, 2005).

En relación a los diferentes polimorfismos del VDR y la DM hay resultados contrapuestos obtenidos por diferentes investigadores. El polimorfismo *BsmI* ha sido relacionado con la susceptibilidad de presentar DM-1 en pacientes taiwaneses (Chang *et al.*, 2000), croatas (Skrabic, Zemunik, Situm, & Terzic, 2003), y japoneses (Motohashi *et al.*, 2003). Sin embargo, no se encontró asociación en muestras finlandesas (Turpeinen *et al.*, 2003) y chilenas (Angel, Santos, Carrasco,

Albala, & Perez-Bravo, 2004). Este polimorfismo también se ha asociado al padecimiento de DM-2 en alemanes (Ortlepp, Lauscher, Hoffmann, Hanrath, & Joost, 2001) y húngaros (Speer et al., 2001), pero esta relación no se ha mantenido en muestras francesas (Ye et al., 2001), bangladesíes (Hitman et al., 1998) o polacas (Malecki et al., 2003).

Halsall *et al.* (Halsall, Osborne, Pringle, & Hutchinson, 2005) han demostrado que en pacientes sin historia familiar de psoriasis la presencia del alelo *A* de *A-1012G* confiere protección frente a la psoriasis. Esta protección se incrementa en combinación con el alelo *F* de *FokI*. Además, la respuesta al tratamiento con derivados de la vitamina D también parece ser mejor en pacientes con el genotipo *AAFF*.

Otras enfermedades como la tuberculosis también se han estudiado extensamente. Sin embargo, Lewis *et al.* (Lewis, Baker, & Davey Smith, 2005) demostraron en su metaanálisis que los resultados no eran concluyentes.

2.2.4 Polimorfismos del gen del VDR y cáncer.

Durante los últimos 30 años, se le han asignado nuevos roles al VDR en cuanto a la proliferación y diferenciación celular. El estudio *in vitro* e *in vivo* de la señalización en distintos tipos de cáncer (como por ejemplo mama, próstata o colon) apoya la posible utilidad de la quimiopreención o la quimioterapia dirigida al VDR. Se ha hipotetizado que los polimorfismos del VDR pueden influenciar no solo la incidencia de cáncer sino también su pronóstico. Sin embargo, al igual que con otras enfermedades, la mayoría de estudios que han investigado estas

asociaciones entre polimorfismos específicos del VDR y cáncer han mostrado resultados controvertidos.

En el momento actual no es posible hacer ninguna afirmación definitiva sobre la importancia del genotipado del VDR en relación a la ocurrencia de cáncer. Probablemente la interacción con otros factores (como los niveles de calcio, la ingesta de vitamina D o los niveles plasmáticos de 25(OH)D₃) juegue un papel decisivo en la incidencia del cáncer; no hay que olvidar tampoco la relación del cáncer con otros factores de riesgo como son el IMC, la dieta o el tabaco, entre otros. Además, el mismo polimorfismo del VDR tiene diferente acción dependiendo del tipo de cáncer, pero no solo eso, sino que además un determinado polimorfismo podría ser decisivo solo en cuanto a la agresividad del tumor y no en cuanto a su incidencia (Köstner, Denzer, & Mueller, 2009).

FokI es el polimorfismo del VDR que más ha sido estudiado con el objetivo de buscar posible asociación con distintos tipos de cáncer. Hasta la fecha los resultados solo aportan controversias. Hay un gran número de artículos que informan de la existencia de una asociación significativa entre el polimorfismo *FokI* y el riesgo de distintos tipos de cáncer (cáncer de mama (Chen, Bertone-Johnson, Hunter, Willett, & Hankinson, 2005), cáncer de próstata (Cicek, Liu, Schumacher, Casey, & Witte, 2006; H. Li et al., 2007; Xu et al., 2003), melanoma maligno (C. Li et al., 2008), cáncer de ovario (Lurie et al., 2007)) y sobre todo hubo un grupo mucho mayor que no observó asociación significativa (cáncer de mama (Abbas et al., 2008; abbasJohn, Schwartz, Koo, Wang, & Ingles, 2007; Bretherton-Watt et al., 2001; Curran et al., 1999; Guy, Lowe, Bretherton-Watt, Mansi, & Colston, 2003; Guy et al., 2004; Ingles et al., 2000; McCullough et al., 2007), cáncer de próstata (Correa-Cerro et al., 1999; Cheteri et al., 2004; Chokkalingam et al., 2001; C. N. Holick et al., 2007; Luscombe et al., 2001;

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Mikhak et al., 2007; Tayeb et al., 2004; Yang, Wang, Ye, & Yang, 2004), melanoma maligno (C. Li et al., 2007), carcinoma basocelular o carcinoma espinocelular (Han et al., 2007)). Estas discrepancias pueden ser debidas al limitado tamaño muestral en algunos estudios o el análisis de distintos grupos étnicos. Además, algunos estudios indican que el polimorfismo *FokI* no puede ser estudiado como un factor pronóstico independiente. Por ejemplo, en un estudio en EE.UU. se demostró que el *FokI* interactuaba con el estatus de vitamina D (medido por los niveles plasmáticos de 25(OH)D₃) y modificaba el riesgo de cáncer próstata de tal forma que aquellos pacientes con genotipo *ff* eran más susceptibles de padecer cáncer de próstata en presencia de unos niveles séricos de 25(OH)D₃ bajos (H. Li et al., 2007). En otros estudios, el polimorfismo *FokI* del VDR solo estaba asociado con cáncer cuando se estudiaba en conjunto con otros factores, como la exposición solar o actividad ocupacional en el exterior (abbasaJohn et al., 2007). Algo similar ocurre con el cáncer de piel, donde el polimorfismo *FokI* parece interactuar con otros factores de riesgo de melanoma maligno, tales como el color de piel y los lunares o pecas, modificando el riesgo definitivo (C. Li et al., 2007). En cuanto a la importancia del polimorfismo *FokI* en relación con el pronóstico, algunos estudios informaron de la existencia de una asociación del genotipo *ff* con un comportamiento más agresivo del tumor (cáncer de próstata (Cicek et al., 2006; Xu et al., 2003)). Sin embargo, estos resultados son demasiado preliminares como para llegar a una conclusión definitiva. En resumen, puede sugerirse que la importancia del polimorfismo *FokI* para el riesgo y pronóstico del cáncer depende fuertemente de factores adicionales, incluyendo combinaciones haplotípicas del VDR, otros factores genéticos, niveles séricos de 25(OH)D₃, ingesta de calcio, exposición solar, etc.

Numerosos estudios encontraron asociación entre el polimorfismo del VDR *BsmI* y el riesgo de cáncer (cáncer de mama (Bretherton-Watt et al., 2001; Guy et al., 2003; Guy et al., 2004; Hou et al., 2002; Ingles et al., 2000; Lowe et al., 2005; Ruggiero et al., 1998; Trabert et al., 2007), cáncer de próstata (Cheteri et al., 2004; Habuchi et al., 2000; S. P. Huang et al., 2004), cáncer de ovario (Lurie et al., 2007), melanoma maligno (Santonocito et al., 2007), cáncer de colon (Slatter, Yakumo, Hoffman, & Neuhausen, 2001; Slattery, Neuhausen, et al., 2004), cáncer colorrectal (Kadiyska et al., 2007; Kim et al., 2001)), pero otros estudios no han informado de asociación (cáncer de mama (Buyru, Tezol, Yosunkaya-Fenerci, & Dalay, 2003), cáncer de próstata (Chaimuangraj, Thammachoti, Ongphiphadhanakul, & Thammavit, 2006; C. N. Holick et al., 2007; J. H. Liu et al., 2003; Oakley-Girvan et al., 2004), cáncer de ovario (Clendenen et al., 2008)). Hay una fuerte evidencia de que el genotipo *bb* de *BsmI* está asociado con un aumento del riesgo de cáncer de mama (Bretherton-Watt et al., 2001; Guy et al., 2003; Guy et al., 2004; Ruggiero et al., 1998; Trabert et al., 2007). Sin embargo, esta asociación podría estar influenciada por otros factores de riesgo como el ser o no fumadora (Trabert et al., 2007). En relación con la importancia del polimorfismo de *BsmI* para el pronóstico del cáncer, un estudio ha confirmado que las mujeres homocigotas *bb* tenían al menos 4 veces mayor riesgo de desarrollar metástasis que las mujeres *BB* (Ruggiero et al., 1998). Sin embargo, este estudio estaba limitado a un pequeño número de casos, por lo que deben realizarse mayores estudios a pesar de este haber obtenido resultados altamente significativos. Además, la influencia del polimorfismo *BsmI* varía entre distintos grupos étnicos. Se realizó un gran estudio observacional en EE.UU. en el que el genotipo *bb* se asoció con un aumento del riesgo del cáncer de mama para mujeres postmenopáusicas caucásicas, pero no entre afro-americanas (Trabert et al., 2007). La diferencia racial en el riesgo de cáncer podría deberse a variaciones en la

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

distribución del polimorfismo *BsmI* en las diferentes poblaciones (Chaimuangraj et al., 2006). En contraste con la clara asociación del genotipo *bb* con el aumento del cáncer de mama, ninguno de los estudios que analizaron los polimorfismos de *BsmI* en relación con el cáncer de próstata lograron demostrar asociaciones similares tan fuertes. En relación con el cáncer colorrectal, el genotipo *BB* estaba sobre todo asociado con una disminución del riesgo de cáncer de colon (Kim et al., 2001; Slatter et al., 2001). Además, y muy interesante, la ingesta de calcio y vitamina D parecía influenciar el riesgo de cáncer colorrectal. Sin embargo, los resultados son controvertidos: mientras que un estudio observó que el riesgo de cáncer colorrectal era más bajo en pacientes con el genotipo *BB* y la menor ingesta de calcio y vitamina D (Kim et al., 2001), Slattery *et al.* (Slattery, Neuhausen, et al., 2004) enunciaron que la mayor ingesta de calcio y vitamina D podría estar asociada con una disminución del riesgo de cáncer colorrectal. Además, en este enorme estudio realizado en EE.UU., los niveles elevados de ingesta de calcio estaban asociados con una disminución del riesgo de cáncer rectal en mujeres, pero no en hombres (Slattery, Neuhausen, et al., 2004). Por tanto, al analizar el genotipo del VDR, habrá que tener también en cuenta diferencias de género. Con respecto al cáncer de piel, cáncer de ovario y cáncer renal, los resultados todavía están limitados a estudios muy pequeños. El genotipo *bb* de *BsmI* parecía estar asociado con mayor grosor tumoral (Índice de Breslow) y, por tanto, peor pronóstico, en el melanoma maligno (Santonocito et al., 2007), mientras que el genotipo *BB*, sobre todo si estaba asociado con una ingesta elevada de vitamina D, parecía estar asociado con un aumento de riesgo de carcinoma espinocelular (Han et al., 2007). Con respecto al cáncer de ovario y cáncer renal, no se observaron diferencias significativas. Otro aspecto que debe tenerse en cuenta es el fuerte desequilibrio de ligamiento entre los tres polimorfismos *BsmI*, *Apal* y

TaqI, que pueden llevar a una influencia mutua en términos de incidencia y pronóstico de cáncer (Kostner et al., 2009).

El polimorfismo *Apal* se ha analizado en menos ocasiones, en general en estudios pequeños y limitados a un grupo racial. Sin embargo, en contraste con todos los otros polimorfismos, en la mayoría de los casos se ha encontrado una asociación con el riesgo de cáncer (cáncer de mama (Curran et al., 1999; Hou et al., 2002; Sillanpaa et al., 2004), cáncer de próstata (Cicek et al., 2006), cáncer de ovario (Lurie et al., 2007) y cáncer de células renales (Obara et al., 2007)). Sin embargo, es verdad que otros estudios no han encontrado asociación, sobre todo estudios que analizan el polimorfismo *Apal* en relación con pacientes con cáncer de próstata (Chaimuangraj et al., 2006; Habuchi et al., 2000; S. P. Huang et al., 2004; Maistro, Snitcovsky, Sarkis, da Silva, & Brentani, 2004; Oakley-Girvan et al., 2004) y cáncer de ovario (Clendenen et al., 2008).

De forma general, el alelo *A* parece estar asociado más frecuentemente con un incremento del riesgo de cáncer (cáncer de mama (Hou et al., 2002; Sillanpaa et al., 2004), cáncer de ovario (Lurie et al., 2007), cáncer de células renales (Obara et al., 2007)), mientras que el alelo *a*, parece estar relacionado con una disminución del riesgo de cáncer (cáncer de mama (Hou et al., 2002; Sillanpaa et al., 2004)). Sin embargo, todavía existen discrepancias y otros estudios han informado de una asociación entre el alelo *a* y un aumento del riesgo de cáncer (cáncer de mama (Curran et al., 1999)) o entre el alelo *A* y una reducción del riesgo de cáncer (cáncer de próstata (Cicek et al., 2006)).

Sobre el polimorfismo *Apal* como un factor pronóstico, Cicek *et al* (Cicek et al., 2006) publicaron un estudio que informaba de la importancia del alelo *A* como factor pronóstico para la reducción del riesgo del cáncer prostático

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

avanzado. Por su parte, un estudio japonés (Obara et al., 2007) observó que el genotipo *AA* era un factor pronóstico independiente para la supervivencia por esta causa en individuos japoneses. En general los polimorfismos de *Apal* parecen ser menos importantes para el riesgo de cáncer de próstata, pero se necesitan más estudios (Kostner et al., 2009).

En conclusión, parece que existe una tendencia para el alelo *A* de *Apal* para ser el alelo de riesgo, pero los resultados todavía son controvertidos.

En la mayoría de los estudios realizados no se ha encontrado asociación entre el polimorfismo del VDR *TaqI* con la incidencia de cáncer (cáncer de mama (abbasaJohn et al., 2007; Buyru et al., 2003; Dunning et al., 1999; Hou et al., 2002; Sillanpaa et al., 2004), cáncer de próstata (Anderson, Nakane, Ruan, Kroeger, & Wu-Wong, 2006; Blazer, Umbach, Bostick, & Taylor, 2000; Bodiwala et al., 2004; Chaimuangraj et al., 2006; Gsur et al., 2002; Habuchi et al., 2000; C. N. Holick et al., 2007; S. P. Huang et al., 2004; Kibel, Isaacs, Isaacs, & Bova, 1998; Luscombe et al., 2001; Ma et al., 1998; Oakley-Girvan et al., 2004; Tayeb et al., 2003), melanoma maligno (Hutchinson et al., 2000), cáncer de ovario (Clendenen et al., 2008), cáncer de células renales (Obara et al., 2007)). Sin embargo, sí se ha informado de asociación con el pronóstico (cáncer de mama (Abbas et al., 2008; Curran et al., 1999; Lundin, Soderkvist, Eriksson, Bergman-Jungstrom, & Wingren, 1999; McCullough et al., 2007), cáncer de próstata (Correa-Cerro et al., 1999; Medeiros et al., 2002; Onsory et al., 2008; Tayeb et al., 2004; Taylor et al., 1996), melanoma maligno (C. Li et al., 2007), cáncer colorrectal (Slatter et al., 2001; Yaylim-Eraltan et al., 2007), cáncer de ovario (Lurie et al., 2007), cáncer de células renales (Ikuyama et al., 2002)).

El polimorfismo *TaqI* parecía estar influenciado por factores dietéticos como la ingesta de calcio (cáncer de mama (McCullough et al., 2007)).

Otros estudios afirman que parece que el alelo *t* podría estar asociado con una reducción del riesgo de melanoma maligno (C. Li et al., 2008; C. Li et al., 2007) y cáncer de colon (Slatter et al., 2001).

Por otra parte, el genotipo *TT* estaba asociado con un riesgo elevado de metástasis linfáticas en pacientes con cáncer de mama (Lundin et al., 1999) y en pacientes con cáncer de células renales de rápido crecimiento (Ikuyama et al., 2002).

Además, hay una tendencia de asociar el alelo *T* con un aumento del riesgo de cáncer de próstata (Medeiros et al., 2002; Tayeb et al., 2004; Taylor et al., 1996). Una posible explicación podría ser que el alelo *T* está asociado con menores niveles circulantes de vitamina D activa (Ma et al., 1998; Morrison et al., 1994; Yaylim-Eraltan et al., 2007).

En conclusión, los polimorfismos de *TaqI* parecen que están relacionados con el riesgo de cáncer y su pronóstico, siendo el alelo *T* alelo de riesgo y el alelo *t* un alelo protector.

Los resultados de los estudios del polimorfismo del VDR *Poly(A)* son muy controvertidos, incluso en estudios de gran tamaño. Se ha asociado con el riesgo de cáncer en algunos estudios (cáncer de mama (Bretherton-Watt et al., 2001; Guy et al., 2004; Ingles et al., 2000; McCullough et al., 2007; Wedren et al., 2007), cáncer de próstata (Andersson, Varenhorst, & Soderkvist, 2006; Correa-Cerro et al., 1999; Ingles et al., 1997), cáncer colorrectal (Slatter et al., 2001; Slattery,

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Murtaugh, et al., 2004; Sweeney et al., 2006)); sin embargo, otros estudios no han encontrado asociación significativa (cáncer de mama (Trabert et al., 2007), cáncer de próstata (Blazer et al., 2000; Cheteri et al., 2004; Kibel et al., 1998; Oakley-Girvan et al., 2004)).

En 4 estudios, el genotipo homocigótico *Poly(A) SS* se ha visto asociado con un incremento del riesgo de cáncer (cáncer de mama (Ingles et al., 2000; Wedren et al., 2007), cáncer de próstata (Andersson et al., 2006), cáncer colorrectal (Slattery, Murtaugh, et al., 2004)), mientras que , especialmente para cáncer de colon y colorrectal, un alelo corto *Poly(A)* (alelo *S*) parecía estar asociado con una reducción del riesgo de cáncer (Slatter et al., 2001; Slattery, Murtaugh, et al., 2004; Sweeney et al., 2006).

Esto lleva a la conclusión de que se deberían considerar otros factores de riesgo. Wedrén *et al.* (Wedren et al., 2007) mencionaron las gestaciones como un factor que podría influenciar en el genotipo del VDR. Otros factores influyentes podrían ser la ingesta de calcio (McCullough et al., 2007) o el ser o no fumador (Trabert et al., 2007).

Otro hecho importante es el gran desequilibrio de ligamiento del polimorfismo *Poly(A)* con el polimorfismo *BsmI* (Bretherton-Watt et al., 2001) y el *TaqI* (Blazer et al., 2000; Correa-Cerro et al., 1999; Kibel et al., 1998). Algo muy interesante es que la “fuerza” de este desequilibrio parece variar en los diferentes grupos étnicos. Además, se ha demostrado que la distribución alélica en general varía entre los diferentes grupos étnicos (Kibel et al., 1998; Ntais, Polycarpou, & Ioannidis, 2003; Watanabe et al., 1999). Estos podrían, al menos en parte, explicar las discrepancias entre los diferentes estudios.

Con respecto a otros polimorfismos del VDR menos estudiados, cabe destacar que parece que el polimorfismo *A-1012G* podría estar relacionado con el melanoma (Halsall, Osborne, Potter, Pringle, & Hutchinson, 2004). Un estudio caso control (abbasaJohn et al., 2007) no ha encontrado asociación entre el polimorfismo *Bgll* y el cáncer de mama en estadios iniciales en diferentes grupos raciales. Abbas *et al.* no han encontrado asociación entre el *VDR-5132* y el cáncer de mama (Abbas et al., 2008). Los genotipos *Uu* y *uu* de *Tru9I* estaban asociados con una disminución del riesgo de adenoma colónico (Y. L. Gong et al., 2005).

2.3 Cáncer de piel.

2.3.1 Generalidades. Tipos. Prevención.

La piel es el órgano más extenso del organismo. Está formada por tres estratos distintos: la epidermis, la dermis y el tejido celular subcutáneo, cada uno de ellos con células con diferentes funciones. Estas células, como cualquier otra célula del organismo, pueden proliferar de forma descontrolada, dando lugar a un tumor o neoplasia, de comportamiento benigno o maligno. En el caso de tumoración maligna, hablamos de cáncer de piel.

Según el tipo de célula del que derive este crecimiento anormal, tendremos un tipo de neoplasia u otro. En general, el cáncer de piel se divide en dos grandes grupos:

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

- a las neoplasias malignas que derivan de los melanocitos de la piel se las denomina *melanoma*. Es menos frecuente y más agresivo (80% de los fallecimientos por cáncer de piel).
- en el otro grupo se engloba el resto de tumores malignos de la piel: *cáncer de piel no melanoma*. Es más frecuente y comprende todos aquellos cánceres de piel que no derivan del melanocito. Entre ellos se encuentra el carcinoma basocelular, el carcinoma espinocelular u otros tumores menos frecuentes, como el carcinoma de células de Merkel, sarcoma, linfoma cutáneo de células T, sarcoma de Kaposi, tumores vasculares o metástasis cutáneas de tumores de otros órganos.

El cáncer de piel es el cáncer más frecuente de la raza humana (Figura 14).

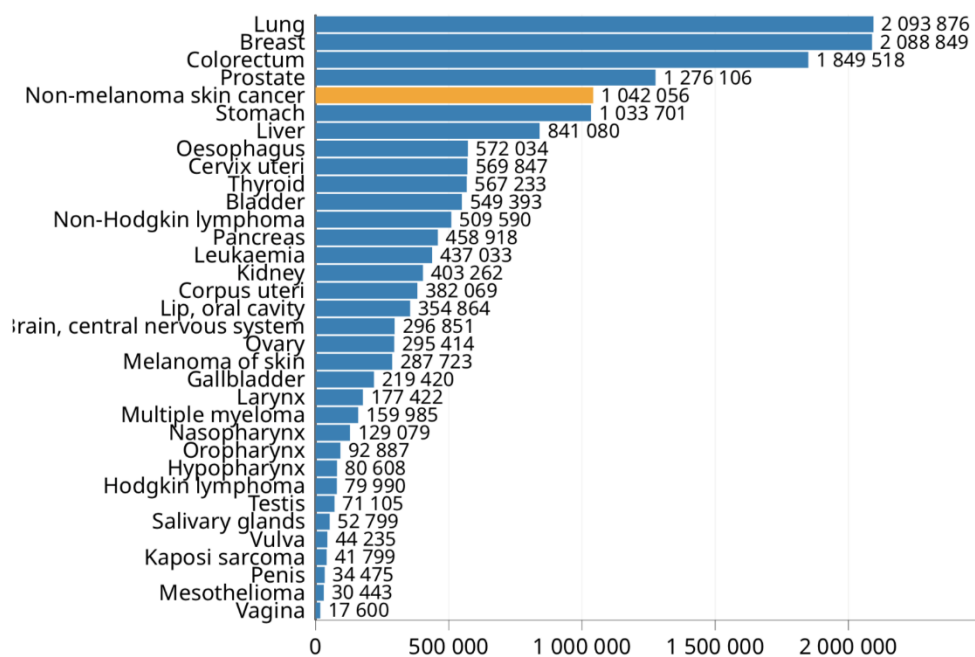


Figura 14. Gráfico con el número de casos de cáncer en 2018 en todo el mundo, ambos sexos y todas las edades. El cáncer de piel no melanoma aparece en quinto lugar, tras el cáncer de pulmón, mama, colorrectal y prostático. Aunque se consideran el cáncer de piel más frecuente, no ocupan esta posición en la lista probablemente por la falta de notificación y registros. Tomado de la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (*IARC - International Agency for Research on Cancer*) (IARC, 2008).

Además, en los últimos años la incidencia ha aumentado en casi todos los países, debido probablemente a la mayor exposición a la luz solar, pero también asociado a la mejor detección del cáncer de piel y al aumento de la esperanza de vida. Según se ha estimado, aproximadamente 5,4 millones de cánceres de piel de células basales (basocelular) y de células escamosas (espinocelular) se diagnostican cada año en los Estados Unidos. La mayoría son carcinomas

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

basocelulares. Es infrecuente que los cánceres de piel de células basales y de células escamosas causen muertes. Se cree que aproximadamente 2.000 personas en los EE.UU. mueren cada año a causa de estos cánceres, lo que supone un porcentaje bajo respecto a los casos diagnosticados. Esta tasa ha estado disminuyendo en los últimos años (American-Cancer-Society, 2020) (Figura 15).

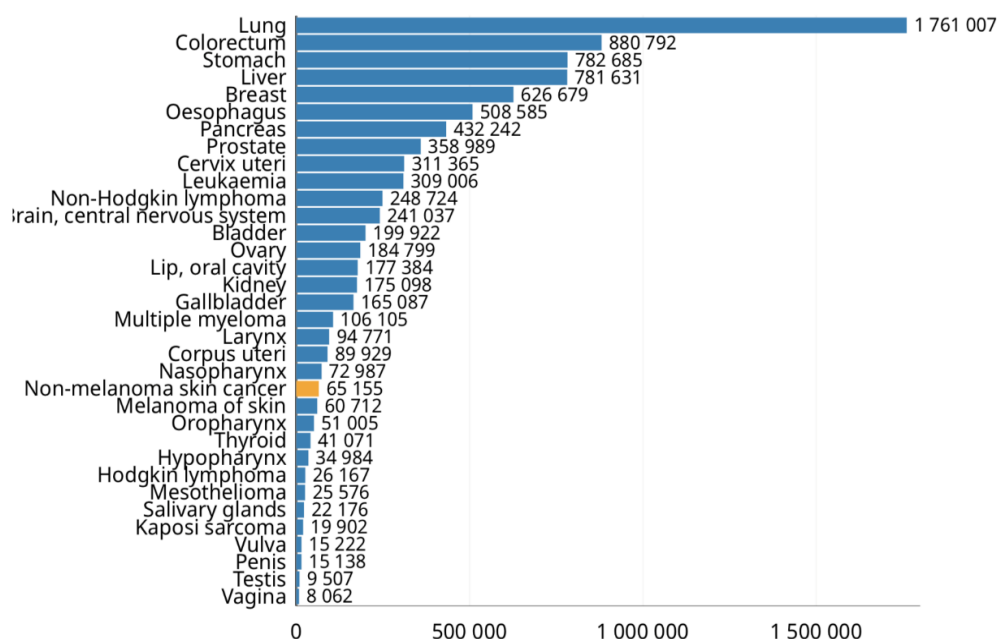


Figura 15. Gráfico del número de muertes mundiales por cáncer en 2018, ambos sexos y todas las edades. Tomado de IARC (IARC, 2008).

Hasta donde nos es conocido, no existen registros en España del número exacto de personas que padece o muere a causa de estos cánceres de piel. Las estadísticas de la mayoría de los otros cánceres se conocen, ya que son informados y rastreados por los registros de cáncer, pero los cánceres de piel de células basales y de células escamosas no suelen ser notificados. Según la Asociación Española de Dermatología y Venereología, en España cada año más de 74.000 personas tienen un cáncer cutáneo no melanoma (Asociación-Española-de-Dermatología-y-Venereología, 2018).

A pesar de ser el más frecuente, el cáncer de piel no melanoma representa menos del 1% de todas las defunciones por cáncer. Es por esta razón por la que atrae menos a la comunidad médica; sin embargo, causan alteraciones cosméticas y funcionales importantes, además de representar un elevado coste sanitario.

La etiopatogenia de estos tumores es multifactorial. Están asociados tanto con factores intrínsecos como con factores ambientales. Entre los factores intrínsecos se encuentra el tipo de piel, la inmunocompetencia del individuo o la predisposición genética. En contraposición a otros tipos de tumores, la influencia ambiental está bien establecida. Así, las radiaciones ionizantes o una gran variedad de productos químicos pueden estar relacionados con el desarrollo de estas neoplasias.

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Existen claras evidencias epidemiológicas que apoyan la hipótesis de que la luz solar¹⁰ causa cáncer de piel: 1. ocurre frecuentemente en residentes de áreas con alta irradiación solar; 2. son más frecuentes en personas sensibles al sol; 3. sobre todo ocurren en áreas corporales expuestas; 4. más frecuentes en personas que han estado más expuestas; 5. se reducen con la protección solar.

A nivel molecular se ha demostrado que se producen una serie de efectos deletéreos que resultan en el desarrollo de estos tumores como consecuencia de la luz solar (English, Armstrong, Krickler, & Fleming, 1997). Concretamente, al absorber el ADN la radiación ultravioleta, puede dañarse. Si este daño no se repara, ocurren una serie de cambios que pueden resultar en transformación maligna.

En particular se ha observado que el gen supresor de tumores p53 tiene en ocasiones mutaciones puntuales específicamente asociadas con el daño causado por la exposición a radiación UVB (de Grujil, van Kranen, & Mullenders, 2001). Aproximadamente entre un 45 y un 60% de carcinomas espinocelulares tienen mutaciones en p53 (Brash et al., 1991; K. Y. Tsai & Tsao, 2004). Sin embargo, las mutaciones de p53 se encuentran difícilmente en el melanoma, donde se ha encontrado otra mutación posiblemente relacionada con la radiación solar, la ocurrida en el gen CDKN2 (Pollock, Pearson, & Hayward, 1996).

¹⁰ Hablando estrictamente, la luz solar es aquella luz visible procedente del sol. Es un término utilizado erróneamente, ya que aquí nos referimos a la radiación ultravioleta, no visible, de 295 a 400 nanómetros (nm) de longitud de onda, que es la que alcanza la superficie terrestre. Probablemente es esta radiación la responsable de todos los efectos carcinogénicos de la luz solar.

Como ejemplo cabe recordar a aquellos pacientes con xeroderma pigmentoso, enfermedad hereditaria caracterizada por un aumento de la sensibilidad a la exposición solar y a reparación defectuosa del ADN, que tienen historia de un elevado número de carcinomas basocelulares, carcinomas espinocelulares y melanomas, sobre todo en zonas expuestas a la luz solar. Esta observación relaciona estrechamente el defecto en la reparación del ADN con el origen del cáncer.

El carcinoma basocelular es el tumor maligno más frecuente en la raza blanca. Son agresivos y tienen capacidad para invadir y destruir tejidos adyacentes, incluido hueso, aunque su capacidad metastásica sea baja. Aunque no son causa de aumento de la mortalidad por cáncer, sí suponen una considerable morbilidad para los pacientes y un peso económico importante para el sistema sanitario.

El principal factor etiológico conocido es la exposición solar, aunque otras radiaciones del espectro electromagnético y sustancias químicas pueden estar también implicadas en su etiología. En ocasiones se manifiestan formando parte de síndromes genéticos o hereditarios. La inmunodeficiencia y las cicatrices también son factores predisponentes.

Existe una importante diferencia en la incidencia según variaciones geográficas. Estados de Estados Unidos cercanos al Ecuador, como Hawái y California, tienen una incidencia al menos duplicada de carcinoma basocelular respecto a estados del medio-oeste (Chuang, Popescu, Su, & Chute, 1990; Reizner, Chuang, Elpern, Stone, & Farmer, 1993). También existen variaciones globales

Carolina Morgado Águila

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

en incidencia. Así, países del norte de Europa, como Finlandia, tienen un cuarto de la incidencia de estados del medio-oeste de Estados Unidos. Esto contrasta con Australia, que tiene tasas de hasta 40 veces más que Finlandia (Green, Battistutta, Hart, Leslie, & Weedon, 1996; Hannuksela-Svahn, Pukkala, & Karvonen, 1999; Marks, Staples, & Giles, 1993). De esto se deduce que la mayor prevención se conseguiría minimizando la exposición solar.

Se distinguen varios tipos clínicos de carcinoma basocelular (Figura 16). El facultativo que está familiarizado con las manifestaciones clínicas de este tumor normalmente es capaz de hacer el diagnóstico solamente con el examen clínico.

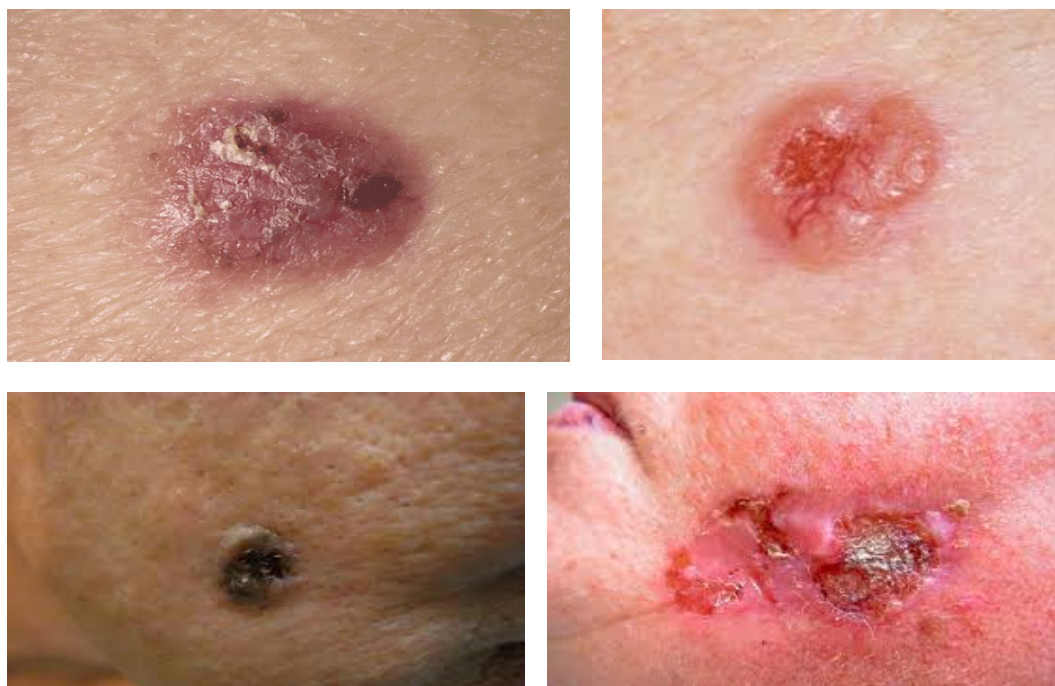


Figura 16. Carcinomas basocelulares.

El tratamiento electivo es quirúrgico, aunque existen otras posibilidades, como la radioterapia, el imiquimod, la terapia fotodinámica o el interferón intralesional.

El carcinoma espinocelular es una tumoración maligna derivada de los queratinocitos de la epidermis con capacidad para producir metástasis. Es el segundo tipo de cáncer de piel más frecuente, tras el carcinoma basocelular. La incidencia exacta de esta neoplasia es desconocida, puesto que no suelen reportarse a los registros de cáncer. Sí es conocido el incremento de la incidencia en los últimos 20 años, probablemente relacionado con la exposición solar, centros de bronceado, aumento de la edad poblacional y mejoría de la detección del cáncer de piel. Parece que factores geográficos y étnicos también influyen en el riesgo de carcinoma epidermoide cutáneo.

En la mayoría de los casos se origina sobre lesiones previas, las queratosis actínicas, consideradas en ocasiones lesiones premalignas. Actualmente estas lesiones premalignas se interpretan como auténticos carcinomas *in situ*, es decir, el estadio intraepidérmico de la neoplasia ¹¹.

¹¹ Durante años, el concepto que teníamos de la queratosis actínica era el de una lesión premaligna o precancerosa que podía evolucionar con el tiempo a una lesión maligna de carcinoma espinocelular o epidermoide. Sin embargo, en los últimos años se plantea un cambio en el posicionamiento conceptual de esta patología. Muchos expertos consideran la queratosis actínica como un verdadero carcinoma espinocelular *in situ*, al compartir características morfológicas y cambios citogenéticos (Carmena-Ramón, 2017).

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Aunque no el único, el principal factor etiológico es la exposición solar, lo que condiciona su predominio en las zonas corporales expuestas y una distribución que se relaciona con las áreas de máxima irradiación solar. Esta misma razón justifica la mayor incidencia en personas de piel clara, en los varones y un aumento progresivo con la edad. Aunque se cree que la radiación UVB es el primer factor causante del carcinoma espinocelular cutáneo, la radiación ultravioleta A (UVA) también juega un papel importante. De hecho, el uso de la terapia con luz ultravioleta y psoralenos (PUVA; *Psoralen and UVA light therapy*¹²) está asociada con un incremento de la incidencia de este tumor (Lindelof et al., 1999).

El carcinoma espinocelular cutáneo se manifiesta clínicamente en una gran variedad de formas, entre las que se incluyen las pápulas, placas o nódulos, que pueden ser suaves, hiperqueratósicas o ulceradas (Figura 17).

¹² La fotoquimioterapia PUVA es una modalidad de tratamiento que utiliza la radiación ultravioleta asociada a sustancias químicas fotoactivables, en este caso los psoralenos. Este tratamiento ha demostrado su eficacia por ejemplo contra la psoriasis.



Figura 17. Queratosis actínicas (imagen izquierda) y carcinoma epidermoide (imagen derecha). Obsérvese una de las formas clínicas típicas en forma de cuerno cutáneo del carcinoma epidermoide.

Aunque los hallazgos clínicos puedan sugerir el diagnóstico de carcinoma espinocelular, el estudio histopatológico es necesario para confirmar el diagnóstico.

Como normal general, el tratamiento del carcinoma espinocelular es quirúrgico, sobre todo para establecer el diagnóstico histopatológico definitivo.

Aunque no directamente relacionado con este trabajo sobre el cáncer de piel no melanoma, consideramos interesante dar unas pinceladas sobre el melanoma. El melanoma es la forma más seria de cáncer de piel. La incidencia de melanoma

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

de la piel está incrementándose más rápido que cualquier otro tipo de cáncer en todo el mundo. Es el quinto cáncer más común en hombres y el séptimo en mujeres en los EE.UU. Es un tumor con alta capacidad metastásica. Las tasas de supervivencia disminuyen drásticamente al aumentar el grosor (Índice o profundidad de Breslow¹³) y el estadio del tumor.

Los factores de riesgo para desarrollar un melanoma son tanto medioambientales como genéticos. Se ha demostrado clínica y epidemiológicamente que la exposición solar o a luz ultravioleta está relacionada con mayores tasas de melanoma en personas con repetida exposición solar intensa. Se relaciona sobre todo con exposición intermitente y quemaduras durante la infancia y adolescencia. También se ve aumentado el riesgo de melanoma en aquellos que han usado, sobre todo antes de los 35 años de edad, los centros de bronceado. Aproximadamente un 10% de los melanomas son familiares. Los individuos con nevus atípicos tienen entre tres y veinte veces más posibilidades de desarrollar melanoma maligno en comparación con la población general. También aquellos individuos con gran número de nevus (>25) tienen mayor riesgo de desarrollarlo. Aquellos individuos con rasgos fenotípicos determinados (pigmentación cutánea clara, pelo rubio o pelirrojo, abundantes pecas, ojos claros...) también tienen mayor riesgo de desarrollar melanoma. Otro factor de riesgo menos conocido y frecuente es la historia de cáncer en la infancia tratado

¹³ Medida de la profundidad de invasión (dimensión máxima de infiltración) de un melanoma desde la capa granulosa de la epidermis hasta la célula neoplásica más profunda que se observe. Si el tumor está ulcerado, se mide desde la base de la úlcera hasta las células tumorales más profundas. Este índice se usa para ayudar a determinar el estadio del tumor. A medida que va aumentando el grosor, el pronóstico es peor ya que existen mayores probabilidades de propagarse y las tasas de supervivencias son menores.

con radioterapia e inmunosupresión. Mutaciones autosómicas dominantes heredadas en los genes CDKN2A y CDK4 se han relacionado también con la susceptibilidad de melanoma.

Aunque no los únicos, existen cuatro tipos fundamentales de melanoma: de extensión superficial, léntigo maligno melanoma, lentiginoso acral y nodular (Figura 18).



Figura 18. Cuatro tipos fundamentales de melanoma. De izquierda a derecha: melanoma de extensión superficial, melanoma nodular, léntigo maligno melanoma y melanoma lentiginoso acral.

La mayoría de los melanomas surgen como tumores superficiales indolentes confinados a la epidermis, donde se mantienen durante años. Durante este estadio, conocido como de crecimiento radial, el melanoma es curable con la sola extirpación quirúrgica. Sin embargo, aquellos que infiltran más allá de la epidermis (crecimiento vertical), tienen ya potencial metastásico. El pronóstico está directamente relacionado con la probabilidad de metástasis, que a su vez depende sobre todo de la profundidad de invasión. Otros factores histológicos relacionados con el pronóstico son: ulceración del tumor, índice mitótico,

presencia de invasión linfovascular, microsátelites, regresión, invasión perineural o la presencia de linfocitos infiltrando el tumor.

El manejo quirúrgico adecuado es crítico para el diagnóstico, estadificación y tratamiento adecuado del melanoma cutáneo primario. Los objetivos de la cirugía son realizar la confirmación histológica del diagnóstico, obtener la estadificación precisa del tumor primario, realizar la escisión adecuada de los márgenes de la lesión y obtener buenos resultados funcionales y cosméticos. Pero la cirugía no solo sirve para tratar la lesión primaria, sino también para el manejo de las metástasis linfáticas (realizando biopsia selectiva de ganglio centinela o linfadenectomía en su caso), de las recurrencias locales, de las metástasis en tránsito y de las metástasis a distancia cuando procediera. En algunos casos podría ser de utilidad la radioterapia adyuvante o la inmuno o quimioterapia.

La protección solar, con cremas protectoras o medidas físicas, es el mecanismo más importante de prevención del cáncer de piel. De hecho, aquellos protectores solares con factor de protección solar de 30 absorben hasta un 95-98% de radiación ultravioleta (Holick, Chen, Lu, & Sauter, 2007).

2.3.2 Vitamina D, VDR y cáncer de piel.

Como ya intuimos según lo anteriormente expuesto en el texto, la relación entre la radiación UV y el cáncer de piel es más compleja que para otros tipos de cáncer: Existe evidencia inequívoca de la relación entre la exposición solar

(radiación UV) y el cáncer de piel, pero a su vez existe evidencia científica suficiente del efecto protector de la vitamina D (que se sintetiza en la piel por acción de la radiación UVB) sobre el cáncer.

Podemos resumir: La radiación ultravioleta procedente la exposición solar tiene distintos efectos en la piel: la radiación UVA (y UVB) induce el daño del ADN al aumentar los niveles de especies reactivas de oxígeno, mientras que la UVB cataliza la conversión del 7-deshidrocolesterol a 25(OH)D₃ e induce la expresión del VDR. Por otra parte, varias líneas de evidencia sugieren que la vitamina D y la acción del VDR podrían ser protectores del daño al ADN inducido por el sol (Thorne & Campbell, 2008).

En capítulos anteriores ya describimos las funciones de la vitamina D sobre la piel y en relación con esto podemos también intuir la relación entre la vitamina D y el cáncer de piel.

Múltiples estudios de laboratorio sugieren que la vitamina D y sus metabolitos podrían reducir el cáncer de piel. Sin embargo, estudios epidemiológicos en humanos han mostrado resultados dispares: algunos reportan asociación entre los niveles de vitamina D más elevados y aumento del riesgo de desarrollar cáncer de piel (Asgari et al., 2010; Eide et al., 2011), otros muestran disminución del riesgo (Tang, Fu, et al., 2011; Tang et al., 2010) y otros ni siquiera encuentran asociación (Asgari, Maruti, Kushi, & White, 2009; van Dam et al., 2000; Weinstock, Stampfer, Lew, Willett, & Sober, 1992).

2.3.2.1 *Vitamina D, VDR y melanoma.*

La exposición solar intensa causa daño en el ADN y está relacionada con mayores tasas de melanoma, pero a su vez también induce la producción de vitamina D, cuyo metabolito, el 1,25(OH)₂D₃, tiene efectos antiproliferativos y prodiferenciadores, tanto en células melánicas como en el melanoma cutáneo, mediado a través del VDR. Se ha demostrado que el melanoma expresa el VDR y la 1,25(OH)₂D₃ tiene efectos antiproliferativos y prodiferenciadores en células de melanoma cultivadas (K. Colston, Colston, Fieldsteel, & Feldman, 1982; Sertznig, Seifert, Tilgen, & Reichrath, 2009), en células de melanoma maligno (Reichrath et al., 2004) y en xenoinjertos de melanoma maligno (K. Colston et al., 1981).

Además, la 1,25(OH)₂D₃ ha mostrado ejercer un efecto inhibitorio en la diseminación de las células de melanoma y se ha objetivado que los pacientes con melanoma tienen bajos niveles séricos de 1,25(OH)₂D₃. En estudios *in vitro* e *in vivo*, la adición de vitamina D disminuye el crecimiento de células de melanoma (K. Colston et al., 1981; Seifert, Rech, Meineke, Tilgen, & Reichrath, 2004; Yudoh et al., 1999).

Además de estos hallazgos, algunos polimorfismos del VDR también han demostrado estar relacionados tanto con la ocurrencia como con la evolución del melanoma.

Existen múltiples estudios que analizan la relación entre los niveles de vitamina D séricos y la incidencia y pronóstico de melanoma. Resumen a continuación un estudio publicado muy recientemente (T. Y. Tsai, Kuo, & Huang, 2020) que realiza una revisión sistemática y metaanálisis precisamente sobre este tema. No se encontró diferencia significativa entre los niveles séricos de vitamina

D entre pacientes con melanoma y los controles (Diferencia de medias: -0,185; IC 95%: -0,533 - +0,162). Sin embargo, la prevalencia de déficit de vitamina D era significativamente mayor en pacientes con melanoma que en los controles (*Odds ratio* (OR): 2,115; IC 95%: 1,151-3,885). En cuanto a pronóstico, los niveles séricos de vitamina D eran significativamente mayores en pacientes con melanoma con menor índice de Breslow. (≤ 1 vs. >1 milímetro (mm)) (Diferencia de medias: 0,243; IC 95%: 0,160-0,327). Además, los pacientes con melanoma con menores niveles de vitamina D tenían mayor índice de mortalidad. (Cociente de riesgo: 1,558; IC 95%: 1,258-1,931).

Abundan también en la bibliografía los estudios que analizan la relación entre los polimorfismos del VDR y el melanoma:

Hutchinson *et al.* (Hutchinson et al., 2000) encontraron una asociación del polimorfismo del VDR *FokI* y el riesgo de melanoma. Algunas variantes alélicas podrían además estar relacionadas con un incremento del índice de Breslow, incluyendo el genotipo *ttff* (*TaqI t* y *FokI f*). De hecho, este último genotipo estaba asociado con tumores de un grosor de más de 3,5 mm (OR: 31,5; P=0,001).

En otro estudio, examinando la relación entre el polimorfismo *FokI* y el melanoma cutáneo, el genotipo *Ff* estaba relacionado con un aumento del riesgo de melanoma cutáneo (OR: 1,32; IC 95%: 1,03-1,68) y los genotipos *Ff + ff*, muy en el límite, también con un riesgo mayor comparado con el genotipo *FF* (OR: 1,26; IC 95%: 1,00-1,59) (C. Li et al., 2007).

Parece que el alelo *f* podría ser factor de riesgo del cáncer de piel tipo melanoma (C. Li et al., 2008). La hipótesis de que el alelo *f* pudiera ser un alelo de riesgo para el cáncer de piel no se ha confirmado en otros estudios similares

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

posteriores (Barroso et al., 2008; Gapska et al., 2009; Han et al., 2007; Mandelcorn-Monson et al., 2011; Santonocito et al., 2007). Por ejemplo, Santonocito *et al.* no encontraron asociación entre la frecuencia del genotipo *FokI* y el melanoma maligno o su grosor de Breslow (Santonocito et al., 2007).

Li *et al.* afirmaron que el polimorfismo *FokI* no es un factor de riesgo independiente, sino que interacciona con el color de piel, lunares o pecas y el número de familiares de primer grado con cualquier tipo de cáncer para modificar el riesgo de melanoma (C. Li et al., 2008). Li *et al.* también estudiaron combinaciones haplotípicas entre las que se incluían *FokI*, *TaqI* y *BsmI* con el riesgo de melanoma y su interacción con factores de riesgo ya conocidos (C. Li et al., 2008). Solo los genotipos combinados *TTBb + BBFf + ff* se vieron asociados con un aumento de riesgo cuando se comparaba con genotipos *TTbbFf + ff*. Por otro lado, otras combinaciones haplotípicas demostraron una reducción del riesgo.

En cuanto al polimorfismo *BsmI* y el melanoma encontramos hallazgos interesantes en la literatura: Existe una asociación significativa entre el genotipo *bb* de *BsmI* y el riesgo de melanoma y mayor índice de Breslow y por tanto peor pronóstico (Santonocito et al., 2007). En esta línea, Li *et al.* (C. Li et al., 2008) encontraron un riesgo disminuido para melanoma del alelo *B*, Orlow *et al.* (Orlow et al., 2016) observaron que el alelo *B* es protector en relación a la supervivencia y Orlow *et al.* en 2018 (Orlow et al., 2018) también llegaron a la conclusión de que el alelo *B* disminuía el riesgo de mortalidad si había antecedentes de elevada exposición a radiación UVB.

Anteriormente ya se había expresado la teoría, debido a las observaciones halladas entre los polimorfismos de *BsmI* y el melanoma, de que la exposición

solar podría tener indirectamente un efecto protector sobre el melanoma gracias a la activación del sistema de la vitamina D (Mocellin & Nitti, 2008).

No obstante, existen contradicciones en la literatura. Por ejemplo, Mandelcorn-Monson *et al.* en 2011 (Mandelcorn-Monson *et al.*, 2011) encontraron que el genotipo *BB* unido a una exposición a radiación UV elevada estaba asociado con el riesgo de padecer melanomas múltiples. Asimismo, existen distintos estudios en los que no se objetivó asociación entre este polimorfismo y el melanoma o su pronóstico (Gapska *et al.*, 2009; Han *et al.*, 2007; Randerson-Moor *et al.*, 2009).

Hay pocos datos que relacionen el polimorfismo del VDR *TaqI* y la incidencia y pronóstico del cáncer de piel, con algunos resultados contradictorios. La mayoría de estudios publicados no encontraron correlación entre el polimorfismo *TaqI* y una susceptibilidad alterada para el melanoma maligno (Barroso *et al.*, 2008; Gapska *et al.*, 2009; Hutchinson *et al.*, 2000; Randerson-Moor *et al.*, 2009; Schafer *et al.*, 2012).

Sin embargo, hay estudios que relación el alelo *t* de *TaqI* con una disminución del riesgo de melanoma. El genotipo *Tt* y los genotipos *Tt/tt* estaban asociados con una reducción del riesgo de melanoma de un 30% comparado con el genotipo *TT* (C. Li *et al.*, 2007). Este mismo grupo de investigación demostró en 2008 (C. Li *et al.*, 2008) que el polimorfismo *TaqI* es un factor de riesgo independiente para el melanoma en un análisis multivariante.

En esta línea, Orlow *et al.* en 2016 (Orlow *et al.*, 2016) afirmaban que el alelo *t* era protector en cuanto a la supervivencia y corroboraban su afirmación en 2018 (Orlow *et al.*, 2018) al comprobar que el alelo *t*, cuando se asociaba a una

elevada exposición a radiación UV, disminuía la mortalidad del melanoma. No obstante, existe un estudio serbio en el que se objetivó que el alelo *t* aumentaba el riesgo de padecer melanoma (Zeljic et al., 2014).

Los estudios que conocemos que han investigado la asociación de *Apal* y el riesgo de melanoma no han encontrado asociación significativa entre ellos (Randerson-Moor et al., 2009; Schafer et al., 2012; Zeljic et al., 2014). Sin embargo, Birke *et al.* (Birke, Schope, Wagenpfeil, Vogt, & Reichrath, 2020) concluyen en su metaanálisis que tienen un 20% más de riesgo de melanoma los portadores del raro alelo *a* de *Apal*.

Se ha encontrado una fuerte asociación entre el polimorfismo del VDR *A-1012G* (también conocido como *EcoRV* o *GATA*) y el riesgo de melanoma maligno. Tomando *GG* como referencia, el alelo *A* es dos veces más frecuente en pacientes con melanoma maligno (OR: 2,5; IC95%: 1,1-5,7) y cuando se manifestaba de forma homocigota *AA*, hasta 3 veces más frecuente (OR: 3,3; IC 95%: 1,4-8,1). Adicionalmente el alelo *A* estaba relacionado con un mayor índice de Breslow (P=0,04) y con un mayor desarrollo de metástasis (P=0,008). La probabilidad de metástasis a los cinco años era del 21% para la variante *AA* y del 9% para la *AG* cuando se comparaba con el genotipo *GG*. El efecto sobre las metástasis es independiente del grosor (índice de Breslow), y se considera que el polimorfismo *A-1012G* tiene potencial predictor de forma adicional al índice de Breslow. Finalmente se ha encontrado una interacción entre los polimorfismos *A-1012G* y *FokI* (P=0,025), que aumentaba el efecto del alelo *A* de *A-1012G* sobre las metástasis, de forma que se incrementa la probabilidad de metástasis para el genotipo *AAff* a los cinco años de seguimiento (Halsall et al., 2004). Orlow *et al.* también confirman la asociación del polimorfismo con el aumento de riesgo de melanoma múltiple (Orlow et al., 2012).

Sin embargo, otros estudios no han encontrado asociación entre el polimorfismo *A-1012G* y el melanoma maligno (Barroso et al., 2008; Gapska et al., 2009; Randerson-Moor et al., 2009; Santonocito et al., 2007; Zeljic et al., 2014).

Hasta donde nos es conocido, no se han estudiado muchos otros polimorfismos y los que se han estudiado no han aportado resultados significativos, como es el *Cdx2* (Han et al., 2007; Randerson-Moor et al., 2009).

El pasado año, 2019, se publicó una revisión sistemática en *Oncology Letters* (Vasilovici et al., 2019). Sus autores incluyeron 17 artículos publicados entre el año 2000 y 2018 y exponen y desarrollan todos los resultados encontrados. (Tabla 1).

En este mismo año, 2020, se ha publicado el último de muchos metaanálisis y revisiones sistemáticas (Birke et al., 2020) para investigar la asociación entre varios polimorfismos del VDR y el riesgo de desarrollar melanoma. Los resultados son los siguientes: El modelo dominante *Bb + BB* vs. *bb* mostraba un 15% de reducción de la incidencia de melanoma para los portadores del alelo *B* de *BsmI*. Por su parte, los portadores del alelo *f* de *FokI* tiene un 22% más de posibilidades de desarrollar melanoma. Con respecto a *ApaI*, hay un 20% más de riesgo de melanoma para los portadores del alelo *a*. Los resultados del metaanálisis no revelaron asociación entre el riesgo de melanoma y los otros polimorfismos estudiados (*TaqI*, *A-1012G*, *Cdx2* y *BglI*).

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

En conclusión, puede sugerirse que la importancia de la vitamina D y del VDR para el melanoma aún está poco definida y se puede hipotetizar que el riesgo y el pronóstico de este cáncer podría estar relacionado con otros factores de riesgo adicionales.

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Tabla 1. Polimorfismos del gen del VDR y melanoma. Modificado de Vasilovici *et al.* (Vasilovici *et al.*, 2019)

Referencia bibliográfica	País	Polimorfismos estudiados	Asociación con riesgo de melanoma	Asociación con otros factores clínico-patológicos o progresión de la enfermedad
(Hutchinson <i>et al.</i> , 2000)	Reino Unido	<i>FokI</i>	Genotipo <i>FF</i> : riesgo disminuido	Genotipo <i>ttff</i> : mayor Breslow
		<i>TaqI</i>	No asociado	
(Halsall <i>et al.</i> , 2004)	Reino Unido	<i>EcoRV</i>	Genotipo <i>AA</i> : riesgo aumentado	Genotipo <i>AA</i> : mayor Breslow, más metástasis
(Han <i>et al.</i> , 2007)	EE.UU.	<i>FokI</i> <i>BsmI</i> <i>Cdx2</i>	No asociados	
(Santonocito <i>et al.</i> , 2007)	Italia	<i>BsmI</i>	Genotipo <i>bb</i> – riesgo aumentado	Genotipo <i>bb</i> – mayor Breslow
		<i>FokI</i> <i>EcoRV</i>	No asociado No asociado	No asociado No asociado
(C. Li <i>et al.</i> , 2007)	EE.UU.	<i>TaqI</i>	Genotipo <i>Tt</i> y <i>Tt+tt</i> disminuyen riesgo (Alelo <i>t</i> – riesgo disminuido)	
		<i>FokI</i>	Genotipo <i>Ff</i> y <i>Ff+ff</i> aumentan riesgo. (Alelo <i>f</i> – riesgo aumentado)	
(Barroso <i>et al.</i> , 2008)	España	<i>EcoRV</i> <i>FokI</i> <i>TaqI</i> <i>BglI</i>	No asociados	
		<i>TaqI</i>	Alelo <i>t</i> – riesgo disminuido	
(C. Li <i>et al.</i> , 2008)	EE.UU.	<i>BsmI</i>	Alelo <i>B</i> – riesgo disminuido	<i>FokI</i> interacciona con color de piel, pecas o antecedentes familiares de cáncer
		<i>FokI</i>	Alelo <i>f</i> – riesgo aumentado	

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

(Randerson-Moor et al., 2009)	Reino Unido	<i>FokI</i> <i>TaqI</i> <i>BsmI</i> <i>ApaI</i> <i>EcoRV</i> <i>Cdx2</i>	Alelo <i>F</i> – riesgo aumentado No asociados	
(Gapska et al., 2009)	Polonia	<i>FokI</i> <i>TaqI</i> <i>BsmI</i> <i>EcoRV</i>	No asociados	No asociado con el Breslow
(Halsall, Osborne, Epstein, Pringle, & Hutchinson, 2009)	EE.UU.	<i>EcoRV</i>	Alelo <i>A</i> - riesgo aumentado	Alelo <i>A</i> – mayor Breslow, desarrollo de metástasis
(Schafer et al., 2012)	Alemania	<i>TaqI</i> <i>ApaI</i> rs757343 rs2107301	No asociados	No asociado con el Breslow
(Zeljic et al., 2014)	Serbia	<i>FokI</i> <i>TaqI</i> <i>ApaI</i> <i>EcoRV</i>	Alelo <i>F</i> – mayor riesgo Alelo <i>t</i> – mayor riesgo No asociados	No asociado con características clínico-patológicas.
(Mandelcorn-Monson et al., 2011)	Internacional	<i>FokI</i> <i>BsmI</i>	No asociado Genotipo <i>BB</i> (+exposición UV elevada) – múltiples melanomas	
(Orlow et al., 2012)	Internacional	<i>BsmI</i> <i>EcoRV</i> rs10875712 rs4760674 rs7139166 rs11168287 rs7305032 rs7965281	Riesgo incrementado de melanoma múltiple Riesgo disminuido de melanoma múltiple	

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

(Orlow et al., 2016)	Internacional	<hr/> <i>BsmI</i> <hr/> <i>TaqI</i>	Alelo <i>B</i> – protector en relación a supervivencia Alelo <i>t</i> – protector en relación a supervivencia
(Morgese et al., 2017)	Italia	<hr/> <i>FokI</i> <hr/> <i>TaqI</i> <i>BsmI</i>	Genotipo <i>ff</i> – supervivencia libre de progresión, regresión histológica, BRAF+.
(Orlow et al., 2018)	Internacional	<hr/> <i>BsmI</i> <hr/> <i>TaqI</i>	Alelo <i>B</i> - riesgo disminuido de mortalidad si alta exposición UVB Alelo <i>t</i> – riesgo disminuido de mortalidad si alta exposición UVB.

En los casos de celdas vacías, el parámetro no ha sido estudiado.

BRAF: Hace relación a la mutación del oncogen BRAF (*B-Rapidly Accelerated Fibrosarcoma*), productor de la proteína B-RAF. Cuando está mutado, produce una proteína B-RAF alterada que contribuye a la reproducción celular cancerosa. Existen terapias dirigidas cuando este gen presenta la mutación.

EE.UU., Estados Unidos; UV, ultravioleta, radiación; UVB, ultravioleta B, radiación.

2.3.2.2 *Vitamina D, VDR y cáncer de piel no melanoma.*

En general, en el laboratorio y en la clínica se ha prestado siempre más atención a los cánceres de piel tipo melanoma que a los no melanoma, probablemente debido a la diferencia en el pronóstico, que no en cuanto a su incidencia.

En 2002 Zinser et al. (Zinser, Sundberg, & Welsh, 2002) demostraron *in vivo* que los ratones a los que se les bloqueaba el VDR desarrollaban un mayor número de cánceres de piel no melanoma.

En 2009 se publica uno de los múltiples metaanálisis sobre vitamina D y cáncer de piel (Gandini, Raimondi, et al., 2009). Sus autores realizaron una búsqueda bibliográfica en busca de publicaciones que estudiaran la relación entre melanoma, cáncer de piel no melanoma, polimorfismos del VDR, ingesta de vitamina D y niveles séricos de 25(OH)D₃. Concretamente en este metaanálisis encontraron resultados interesantes en cuando a polimorfismos y cáncer de piel no melanoma (posible rol de los polimorfismos *FokI* y *BsmI* en relación con el riesgo de melanoma y cáncer de piel no melanoma). Sin embargo, concluyeron que la asociación de la ingesta de vitamina D era menos clara y que se precisaban más estudios para clarificar el papel de la dieta en el cáncer de piel.

Como cabría esperar según todos los datos expuestos hasta ahora en nuestro trabajo, deberíamos encontrar en la bibliografía estudios que avalen la protección de la vitamina D en el cáncer de piel, es decir, a mayores niveles de vitamina D, menor cáncer de piel no melanoma. Sin embargo, encontramos durante nuestra búsqueda pocos artículos que centren su investigación en niveles séricos de

vitamina D y cáncer de piel no melanoma y además con resultados muy contradictorios.

Por ejemplo, en un estudio caso-control realizado en varones mayores se encontró una incidencia menor de cáncer de piel no melanoma en aquellos sujetos con mayores concentraciones de previtamina D comparado con los sujetos con menores concentraciones (Tang et al., 2010).

Pero también encontramos resultados totalmente contrapuestos al anterior. Por ejemplo, se ha publicado recientemente un estudio en el que se concluye que los pacientes con cáncer de piel no melanoma tenían en el momento del diagnóstico niveles séricos de 25(OH)D₃ mayores que los controles, aunque incluso teniendo esos mayores niveles en comparación con los controles, seguían teniendo teóricamente déficit de vitamina D (Soares, Szejnfeld, Enokihara, Michalany, & Castro, 2018).

Algo similar publicaron Eide *et al* (Eide et al., 2011): encontraron una relación entre unos niveles séricos de 25(OH)D₃ mayores (no aumentados) y el riesgo de desarrollar cáncer de piel no melanoma. Vojdeman *et al.* también han encontrado niveles más altos de vitamina D en relación con una mayor incidencia de cáncer de piel melanoma y no melanoma (Vojdeman et al., 2019).

Parece que aún queda mucho trabajo por hacer sobre este tema.

Con respecto al cáncer de piel no melanoma y los polimorfismos del VDR sí hay más estudios publicados, aunque aún siguen siendo escasos y con resultados inconsistentes (Tabla 2).

Al examinar la asociación entre los polimorfismos del gen del VDR con las queratosis actínicas (Carless et al., 2008) se encontró que el genotipo *TT/tt* de *TaqI* estaba asociado con un riesgo septuplicado de tener queratosis actínicas, mientras que el grupo *Tt* tenía cuadruplicado el riesgo. En pacientes con piel clara, el genotipo *AA/aa* de *Apal* tenía ocho veces más riesgo de estar afectado por estas lesiones que el *Aa*, que multiplicaba el riesgo por cinco. Este estudio muestra cómo los homocigotos incrementan las probabilidades de padecer queratosis actínicas, de forma que se sugiere que la actividad intermedia del VDR es importante en la protección o que el heterodímero formado por los genotipos heterocigotos podría tener alterado el potencial de unión.

En un estudio alemán (Kostner et al., 2012) los resultados indicaban que *Apal*, *TaqI* y *BgII* podían estar relacionados con el desarrollo de carcinoma basocelular pero no de espinocelular. Al comparar las frecuencias de los distintos genotipos del VDR por edad (menores y mayores o iguales a 60 años), encontraron que no había relación entre los polimorfismos y los cánceres de piel no melanoma evaluados (basocelular y espinocelular). Tampoco hallaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la relación entre los polimorfismos, el tumor y el área fotoexpuesta.

Un metaanálisis sobre los polimorfismos del VDR y el riesgo de cáncer de piel en europeos muestra que *FokI*, *TaqI* y *Apal* podrían ser biomarcadores del riesgo de cáncer de piel en caucásicos. Sin embargo, no encontraron asociación entre los polimorfismos de *BsmI* y la incidencia de cáncer. (Zhao, Yang, Yu, Liu, & Yuan, 2014).

Más tarde, en 2016 y 2017, se publicaron los dos últimos estudios que conocemos sobre este tema (Burns et al., 2017; Von Schuckmann et al., 2016). Se

observó en el estudio de Burns *et al.* que los participantes con polimorfismos de *BsmI* tienen el doble de riesgo de padecer cáncer de piel no melanoma en comparación con los pacientes sin mutaciones (OR: 2,04; IC 95%: 1,02-4,08; P=0,045), mientras que no se objetivó relación en el estudio de VonSchuckmann *et al.* Para el resto de polimorfismos estudiados no se observó relación significativa en los modelos ajustados y tras corrección de comparaciones múltiples.

Ante estos resultados tan dispares, en otros estudios ya se comienza a incluir la evaluación de polimorfismos de otras rutas distintas al VDR. Por ejemplo, existe un estudio que evalúa la ruta de señalización hedgehog¹⁴ en carcinoma basocelular y encontró que hay variaciones génicas relacionadas con estas rutas que contribuyen al desarrollo de nuevos tumores en aquellos con historia de carcinoma basocelular. No obstante, no encontraron asociación significativa entre el fenotipo típico de los pacientes propensos a desarrollar carcinoma basocelular y estos polimorfismos. Tampoco encontraron asociación con los polimorfismos del VDR (Jorgensen *et al.*, 2012).

¹⁴ La ruta *Sonic Hedgehog* es una importante ruta de señalización del desarrollo. La proteína Shh (Sonic Hedgehog) constituye el elemento principal de esta ruta en los mamíferos. Shh juega un papel esencial en la regulación de la organogénesis de los vertebrados, pero además sigue siendo importante en el adulto, ya que controla la división celular de células madre adultas y está implicada en el desarrollo de ciertos cánceres.

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Hasta la fecha solo hemos encontrado dos estudios que analicen en conjunto la vitamina D, los polimorfismos del gen del VDR y el cáncer de piel no melanoma (Han et al., 2007; Lesiak et al., 2011):

- (Han et al., 2007): Se trata de un estudio con amplio tamaño muestral. En él no se evalúan concretamente los niveles séricos de vitamina D, sino la ingesta diaria de vitamina D. Se objetivó que determinados polimorfismos del VDR y de la metilen-tetrahidrofolato-reductasa (MTHFR)¹⁵ estaban asociados con la ingesta diaria de vitamina D y folato en cuanto al desarrollo del cáncer de piel, concretamente el carcinoma espinocelular. El genotipo *BB* de *BsmI* estaba asociado con un aumento del riesgo de carcinoma espinocelular (OR: 1,51; IC 95%: 1,00-2,28). También se observó interacción entre los polimorfismos de *BsmI*, la ingesta total de vitamina D y carcinoma espinocelular, con la objetivación de un mayor riesgo de desarrollar este tumor en mujeres con genotipo *BB* e ingesta elevada de vitamina D (OR: 2,38; IC 95%: 1,22-4,62) (P=0,08). Sin embargo, son los propios autores los que recomiendan cautela al analizar los resultados, ya que han realizado múltiples test y pueden haberse producido sesgos.
- (Lesiak et al., 2011): Sus autores encontraron que la 25(OH)D₃ sérica media era significativamente mayor en el grupo control que en los casos de carcinoma basocelular (29,5 ng / ml vs 24,2 ng / ml; P=0,0031). Al correlacionar el estatus de vitamina D con los polimorfismos que

¹⁵ El folato también está influenciado por la radiación UV: concretamente la UVA puede descomponer el folato del plasma. El metabolito del folato está involucrado en la síntesis y reparación del ADN, por lo que parece estar implicado en la carcinogénesis cutánea.

estudiaban, encontraron que los sujetos con *TaqI TT* tenían significativamente mayores niveles de 25(OH)D₃ comparado con los portadores heterocigóticos (P=0,047). Si los pacientes con carcinoma basocelular los dividían en dos grupos dependiendo de si los niveles estaban por encima o por debajo de 24,2 ng/ml, encontraron que los portadores del alelo heterocigoto tenían más probabilidades de estar bajo esos niveles comparados con los *tt* (OR: 3,42; P=0,034). No encontraron correlación entre otros polimorfismos del VDR y los niveles séricos de 25(OH)D₃.

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Tabla 2. Polimorfismos del gen del VDR y cáncer de piel no melanoma.

Referencia bibliográfica	País	Tipo de tumor	Polimorfismos de VDR evaluados	Descripción de resultados
(Han, Colditz, & Hunter, 2007)	Estados Unidos (EE.UU.)	Carcinoma basocelular (BCC) / Carcinoma espinocelular (SCC)	<i>BsmI</i>	El genotipo <i>BB</i> está asociado con un aumento del riesgo de SCC. Aumenta más el riesgo si se asocia con la ingesta de elevadas cantidades de suplementos de vitamina D.
			<i>FokI</i>	(El genotipo <i>ff</i> está asociado con los dos tipos de cáncer, de forma no significativa).
			<i>Cdx2</i>	-
(Carless et al., 2008)	Australia	Queratosis actínicas	<i>Apal</i>	Los sujetos con piel clara y genotipos homocigotos (<i>AA/aa</i>) tienen ocho veces más riesgo de padecer queratosis actínicas. El genotipo <i>Aa</i> incrementa el riesgo cinco veces.
			<i>TaqI</i>	Los genotipos homocigotos (<i>TT/tt</i>) presentan doble riesgo de padecer queratosis actínica.
				· Si se asocia a piel clara, se multiplica el riesgo hasta por siete. (Si el sujeto tiene piel clara y el genotipo es <i>Tt</i> incrementa el riesgo cuatro veces).
(Lesiak et al., 2011)	Polonia	BCC		· Si se asocia a tendencia a las quemaduras solares en lugar de broncearse, el riesgo aumenta 6 veces.
			<i>FokI</i>	El genotipo <i>FF</i> aumenta el riesgo de desarrollar BCC en más de diez veces.
			<i>BsmI</i>	-
(Kostner et al., 2012)	Alemania	BCC/SCC	<i>TaqI</i>	Los genotipos <i>TT</i> y <i>Tt</i> aumentan el riesgo de BCC.
			<i>Apal</i>	El genotipo <i>Aa</i> aumenta el riesgo de BCC.
			<i>Apal</i>	· El genotipo <i>AaTtBb</i> aumenta el riesgo de BCC. · El genotipo <i>aATtBB</i> solo se encontró en los controles (Hipótesis: Genotipo protector).
(Von Schuckmann et al., 2016)	Australia	BCC/SCC	<i>TaqI</i>	· Genotipo <i>aATtBb</i> : mayor frecuencia en BCC (21%) y SCC (17%) que en controles (8%).
			<i>BglII</i>	· No encuentran diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la relación entre polimorfismos, tumor y área fotoexpuesta. · Tampoco hay variaciones en cuanto a la edad (<60 años vs > 0 = a 60 años).
			<i>Apal</i> (rs7975232)	Los genotipos dominantes <i>GG+GT</i> estaban asociados a una disminución del riesgo de BCC cuando se comparaba con el genotipo <i>T</i> . No significativo en los modelos ajustados y tras corrección de comparaciones múltiples.
(Burns et al., 2017)	EE.UU.	BCC/SCC	<i>BsmI</i> (rs1544410)	Los genotipos recesivos de <i>BglII</i> disminuyen el riesgo de BCC. No significativo en los modelos ajustados y tras corrección de comparaciones múltiples.
			<i>Apal</i>	Los individuos con genotipo dominante <i>A</i> tenían aproximadamente la mitad de riesgo de desarrollar cáncer de piel no melanoma. No significativo al ajustar por edad y sexo.
			<i>TaqI</i>	Los participantes con polimorfismos de <i>BsmI</i> tienen el doble de riesgo de padecer cáncer de piel no melanoma en comparación con los pacientes sin mutaciones.

Con los estudios que se tienen hasta el momento se han realizado múltiples revisiones sistemáticas y metaanálisis, como por ejemplo los de Denzer *et al.*, Gnagnarella *et al.*, Köstner *et al.* y Zhao *et al.* (Denzer, Vogt, & Reichrath, 2011; Gnagnarella *et al.*, 2014; Kostner *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2014), entre otros muchos, sin poder llegar tampoco a conocer resultados que no sean controvertidos.

Se necesita mucha más investigación para ver la influencia del sistema endocrino de la vitamina D, incluyendo los efectos de los polimorfismos del VDR, y ambos en conjunto, en la incidencia y pronóstico del cáncer de piel.

2.4 ¿Por qué la luz solar aumenta el cáncer de piel si la vitamina D lo disminuye? Un acercamiento.

Durante todo el trabajo nos surge esta duda a la que intentamos dar respuesta en este apartado:

Existe evidencia suficiente de que la radiación UV procedente de la luz solar, tanto UVB como UVA, causa cáncer de piel.

Por otra parte, la radiación UVB cataliza la conversión del 7-deshidrocolesterol a 25(OH)D₃ e induce la expresión del VDR. Existe evidencia que relaciona el almacenamiento adecuado de vitamina D con la disminución del riesgo de varios cánceres a través de efectos sobre la proliferación celular, diferenciación, muerte celular, angiogénesis, invasión y metástasis de las células tumorales. Concretamente sobre el cáncer de piel, varias líneas de evidencia sugieren que la vitamina D y la acción del VDR podrían ser protectores del daño

al ADN inducido por el sol (Thorne & Campbell, 2008). La $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ tiene efectos de antiproliferación y prodiferenciación tanto en melanocitos como en células de melanoma, mediado a través de su VDR (Hutchinson et al., 2000). Por ejemplo, varios estudios confirman una influencia potencial de la vitamina D sobre la agresividad del melanoma, la respuesta terapéutica o la supervivencia del paciente (Egan, 2009). Además, la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ y su VDR parece que juegan un papel importante en la diferenciación del queratinocito de la epidermis. De hecho, los ratones a los que se les ha bloqueado el VDR exhiben una diferenciación epidérmica reducida y alopecia (Bikle, Chang, et al., 2004). Asimismo, la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ y sus análogos se han usado de forma satisfactoria para el tratamiento de la psoriasis, una enfermedad cutánea humana caracterizada por la hiperproliferación, diferenciación anormal e inflamación de la epidermis (Fogh & Kragballe, 2004). También se ha demostrado que la vitamina D inhibe la ruta de señalización *hedgehog* y la proliferación en carcinomas basocelulares en roedores (Tang, Xiao, et al., 2011). La vitamina D tópica augura buenos resultados como posible agente anti-carcinoma basocelular, actuando inhibiendo esta ruta *hedgehog* (Tang, Xiao, et al., 2011).

Por tanto, aunque es obvio que la relación entre la radiación UV y el cáncer de piel es más compleja que para otros tipos de cáncer, existe evidencia de un efecto protector de la vitamina D. La identificación de una influencia independiente de la vitamina D en la disminución del riesgo de cáncer de piel está siendo obstaculizada por una frustrante influencia carcinogénica de la radiación ultravioleta sobre la piel (Egan, 2009).

Esta cuestión que nos concierne ya nos la llevamos preguntando muchos años y desde hace años intentamos darle respuesta. Comentábamos en apartados anteriores de este trabajo que ya en 1941 Apperly (Apperly, 1941) concluyó en su

estudio que la incidencia de mortalidad por cáncer era mayor en agricultores que vivían en el noreste de América del Norte comparados con aquellos que vivían en el sur. Sin embargo, también informa que los que vivían en el sur, que estaban más expuestos a la luz solar, tenían mayor riesgo de cáncer cutáneo no melanoma, que él consideró que eran más fáciles de detectar y tratar. Él concluyó que el hecho de que estos agricultores del sur tuvieran más cáncer de piel no melanoma más fácil de tratar se debía a que ellos desarrollaron una inmunidad al cáncer de piel que además resultó en una inmunidad a otros tipos de cáncer, incluyendo a aquellos con una alta tasa de mortalidad.

Sin embargo, parece que la respuesta viene dada por las dosis de radiación implicadas. Las dosis de radiación UVB implicadas en el desarrollo del cáncer de piel (principalmente el carcinoma espinocelular) son mucho mayores que las dosis implicadas en la producción de vitamina D endógena. Las longitudes de onda no parecen ser las responsables, ya que las longitudes de onda responsables de la fotocarcinogénesis se superponen con el espectro de acción para la síntesis de la vitamina D en la piel, creando un dilema para los investigadores y los profesionales de salud pública¹⁶. El espectro de acción de la radiación UVB para la síntesis de vitamina D es muy similar al espectro de acción de la radiación UVB para el eritema cutáneo y el carcinoma espinocelular, lo que implica que la

¹⁶ Los variados efectos biológicos producidos por las diferentes longitudes de onda sobre la piel se conocen como el *espectro de acción*. No es posible determinar a través de estudios observacionales en humanos cuáles son las longitudes de onda responsables del cáncer de piel, ya que la composición solar varía según latitud, estación del año, hora del día, factores atmosféricos, etc., de forma que separar los efectos de cada longitud de onda es complejo. Por ello, la única información sobre el espectro de acción para el cáncer de piel viene de estudios experimentales en animales.

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

radiación UVB automáticamente incrementará tanto la producción endógena de vitamina D como el riesgo de quemadura y cáncer de piel.

La diferencia clave está en que la síntesis de vitamina D en piel no protegida cesa después de 5-10 minutos de exposición a radiación UVB (dependiendo de factores como la cantidad de 7-deshidrocalciferol, pigmentación, estación del año, latitud, polución, etc), mientras que una piel no protegida expuesta durante más tiempo aumenta el riesgo de cáncer de piel. Por tanto, la dosis o duración de la exposición más allá de la capacidad de la piel de formar vitamina D lo que incrementa es el riesgo de cáncer.

La vitamina D puede ser tóxica en dosis altas. Si los trabajadores al aire libre o personas de piel blanca que viven en áreas soleadas no sufren de intoxicación por vitamina D es debido a mecanismos fotoquímicos y de fotodegradación que previenen la producción elevada de vitamina D en la piel (IARC, 2008). Para niños y adultos, la exposición casual diaria a la luz solar ya aporta los requerimientos de vitamina D (Holick, 1995). A aproximadamente 40° de latitud en un día soleado de verano, una persona de piel clara podría conseguir una producción máxima de previtamina D₃ en 5-10 minutos, exponiendo cara y brazos dos o tres veces a la semana al mediodía (Gilchrest, 2008; Holick, 1995, 2001).

Como punto y final a este apartado e intentando aportar soluciones, teniendo en cuenta que la frontera entre producción de vitamina D protectora de cáncer y riesgo de cáncer de piel es tan estrecha, nos planteamos poder ofrecer vitamina D procedente de otras fuentes como alternativa a la exposición solar para la protección del cáncer de piel. Así, surge la pregunta que intentaremos responder en el siguiente apartado: ¿podemos administrar vitamina D exógena para la prevención y tratamiento del cáncer de piel?

2.5 “¿Cuál es el futuro? ¿Hacia dónde nos dirigimos?” Vitamina D para prevención y tratamiento.

La deficiencia de vitamina D pasa desapercibida en ocasiones debido a tres razones fundamentalmente: Primero, por la creencia de que la luz solar e ingesta son adecuadas y que, por tanto, no va a haber déficit de vitamina D. Segundo, porque en ocasiones se asume que los niveles de calcio se correlacionan estrictamente con los niveles de vitamina D. Finalmente, porque muchos médicos incorrectamente solicitan análisis de la forma activa de la vitamina D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) para valorar el estatus de vitamina D de un paciente. Desafortunadamente, la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ no es una medida fiable de los niveles de vitamina D, ya que cuando una persona comienza a tener déficit de vitamina D, se incrementa la PTH que, a su vez, aumenta la producción renal de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ por lo que las concentraciones circulantes pueden convertirse en normales o incluso elevadas. El metabolito de la vitamina D que debería ser medido para determinar el estatus de vitamina D es el $25(\text{OH})\text{D}_3$, que es el principal metabolito circulante de vitamina D (Chapuy et al., 1997; Holick 2007; Malabanan, Veronikis, & Holick, 1998).

Se exponen anteriormente en este trabajo múltiples posibles consecuencias del déficit de vitamina D. Patologías comunes de la carencia de vitamina D son el raquitismo en los niños y la osteomalacia en los adultos. El raquitismo se caracteriza por la formación continua de matriz osteoide y de cartílago, que se mineralizan de forma inadecuada, lo que genera huesos blandos y flexibles. En los adultos tiene lugar la desmineralización de los huesos preexistentes, lo que hace que los huesos sean más blandos y más susceptibles a la fractura. La osteomalacia se puede distinguir fácilmente de la más frecuente osteoporosis por el hecho de

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

que la matriz osteoide permanece intacta en la primera, pero no en la segunda. Pero ya conocemos que no solamente podemos tener manifestaciones clínicas en cuanto al metabolismo óseo, sino que ocurren a nivel de prácticamente todos los órganos y sistemas del organismo (Valdivielso & Fernandez, 2006)

Debido al refuerzo de determinados alimentos con vitamina D, las carencias dietéticas son cada vez menos frecuentes y se observan con mayor frecuencia en grupos de población con ingresos económicos bajos, en las personas de edad (que a menudo, además, toman muy poco el sol), los vegetarianos estrictos y los alcohólicos crónicos. Gran parte de los casos de carencia de vitamina D son resultado de enfermedades que producen malabsorción de grasas o enfermedades hepáticas o renales graves. Algunos fármacos también interfieren con el metabolismo de la vitamina D, como los corticoesteroides, que estimulan la conversión de vitamina D en metabolitos inactivos y dan lugar a desmineralización ósea cuando se utilizan durante largos períodos de tiempo. Curiosamente, está resurgiendo el déficit de vitamina D en recién nacidos y niños pequeños, en parte probablemente por las campañas de concienciación sobre lactancia materna, ya que existe muy poca, si es que existe algo, de vitamina D en la leche humana. (Holick, 2006a; Hollis & Wagner, 2004a, 2004b). Aunque podría parecer razonable fortificar los alimentos con vitamina D para prevenir todas estas enfermedades, existen restricciones para hacerlo¹⁷.

¹⁷ Como curiosidad aportamos aquí unos datos en cuanto a la perspectiva histórica de la cuestión que nos concierne: Ya conocemos que cuando la revolución industrial se inició en Europa en el siglo XVIII, debido a la falta de exposición a la luz solar, apareció en los niños el raquitismo. A comienzos del siglo XX comenzaron los estudios sobre la alimentación, radiación UVB, vitamina D y raquitismo. Esto llevó a suplementar la leche con ergosterol o vitamina D₂. Este proceso fue rápidamente acogido por los productores de leche y a principios de 1930 prácticamente toda la

La vitamina D puede también llegar a ser tóxica en dosis elevadas. Aunque extremadamente rara, la vitamina D puede causar intoxicación por ingesta excesiva. La absorción favorecida de calcio junto con la resorción del hueso da lugar a hipercalcemia, lo que puede conducir a calcificaciones metastásicas. La resorción ósea facilitada también da lugar a una desmineralización ósea parecida a la observada en la carencia de vitamina D. Finalmente, los niveles elevados de calcio sérico conducen directamente a hipercalciuria, que predispone al paciente para la formación de cálculos renales.

Sin embargo, hay que remarcar que aquellos trabajadores que ejercen su labor bajo el sol nunca han sufrido intoxicación por vitamina D como consecuencia de una exposición solar excesiva. La razón es que la previtamina D₃ se convierte en multitud de otros fotoproductos no activos, de forma que la piel nunca generará cantidades de vitamina D₃ suficientes como para causar intoxicación. Por tanto, la intoxicación por vitamina D se produce fundamentalmente por la ingestión intencionada de altas dosis de vitamina D

leche de Estados Unidos y otros países industrializados estaba enriquecida con vitamina D. Estados Unidos también estableció una agencia en 1931 cuyo objetivo era promover una exposición solar sensata de los niños para prevenir el raquitismo y mejorar su salud ósea. En unos pocos años, estas intervenciones prácticamente erradicaron el raquitismo. La vitamina D se hizo tan popular que en los años 30 y 40 una amplia variedad de comidas y bebidas, así como productos de cuidado personal, se enriquecieron con vitamina D. Sin embargo, a principios de los años 50, un brote de hipercalcemia en niños que tenían cara de elfos, problemas cardíacos y retraso mental, condujo a una investigación por el *Royal College of Physicians* de Londres. Los expertos concluyeron que esto era debido a una intoxicación por vitamina D. Así, la legislación rápidamente prohibió la fortificación de cualquier producto alimenticio o de uso personal con vitamina D en Reino Unido, que pronto se expandió hacia toda Europa, y que se mantiene en la actualidad excepto para algunos alimentos, como la margarina o algunos cereales. Parece sin embargo probable que estos niños tuvieran el síndrome de Williams debido a una "hipersensibilidad" a la vitamina D. Algunos países permiten actualmente que la leche (y algunos zumos) también sea fortificada con vitamina D, sin ningún reporte de toxicidad.

Carolina Morgado Águila

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

durante períodos prolongados. Usualmente, la intoxicación por vitamina D no se observa por debajo de 150-200 ng/ml de 25(OH)D₃ (Holick 2007) (Figura 5).

Sin embargo, a pesar de todo lo expuesto, según las guías de práctica clínica de la sociedad americana de endocrinología (*Endocrine Society Practice Guidelines*), no se deben investigar los niveles de vitamina D séricos en pacientes sin factores de riesgo. No hay evidencia científica del beneficio del *screening* de vitamina D en la población general (Tang et al., 2012).

Existen muy variables recomendaciones en cuanto a las necesidades de ingesta de vitamina D diarias en distintos países. Así, por ejemplo, en Estados Unidos recomiendan un consumo de vitamina D de 200 UI para niños y adultos hasta 50 años; 400 UI para adultos entre 51 y 70 años; y 600 UI para adultos por encima de los 71 años de edad. Sin embargo, la mayoría de los expertos consideran que, sin una exposición solar adecuada, tanto niños como adultos requieren aproximadamente de 800 a 1000 UI al día (Bischoff-Ferrari, Giovannucci, Willett, Dietrich, & Dawson-Hughes, 2006; Boonen et al., 2006; Glerup et al., 2000; Heaney, Davies, Chen, Holick, & Barger-Lux, 2003; Holick, 2006a; Holick 2007; Larsen, Mosekilde, & Foldspang, 2004; Tangpricha et al., 2003). Otros autores recomiendan, si existe déficit, administrar 50.000UI de vitamina D una vez a la semana durante 8 semanas para corregir el déficit de vitamina D (Holick 2007). Otras opciones de tratamiento válidas son la exposición a luz solar o incluso acudir a centros de bronceado (Wacker & Holick, 2013).

En el simposio sobre vitamina D y cáncer promovido por el Instituto de Salud de los Estados Unidos (*NIH - National Institutes of Health*) se concluyó que los niveles de vitamina D iguales o mayores a 30 ng/ml son los adecuados para prevenir el cáncer. (Bischoff-Ferrari et al., 2006; Gorham et al., 2005). Parece que una dosis diaria de 2000 UI de vitamina D₃, el límite más alto saludable definido

por la *National Academy of Sciences* de Estados Unidos, podría ser la adecuada para conseguir estos niveles adecuados de 25(OH)D₃ (Bischoff-Ferrari et al., 2006; Calvo, Whiting, & Barton, 2005; Holick & Chen, 2008; Institute-of-Medicine-of-the-National-Academies, 1997).

Ya hemos expuesto en reiteradas ocasiones en este trabajo que los niveles circulantes de 25(OH)D₃ parecen estar relacionados con un incremento de riesgo y peor pronóstico de distintos tipos de cáncer (Giovannucci, 2005; H. S. Lim et al., 2006; Robsahm et al., 2004).

Por ello actualmente se están haciendo esfuerzos por conocer los niveles óptimos de 25(OH)D₃ -y gracias a ensayos clínicos como el de Ng *et al.* (Ng et al., 2014), se estudia cuál es la ingesta de vitamina D que se necesita para conseguirlos- para la prevención de los distintos tipos de cáncer, ya que realmente la modulación farmacológica del sistema endocrino de la vitamina D representa una estrategia prometedora para la prevención y tratamiento del cáncer, y más concretamente del cáncer de piel (Reichrath, Saturnus, & Vogt, 2017).

Por ahora parece que el nivel óptimo no se puede conseguir con las recomendaciones actuales de ingesta de vitamina D.

Entonces, ¿por qué no cambiamos esas recomendaciones? Probablemente por el riesgo de intoxicación por vitamina D que puede producir hipercalcemia e hiperfosfatemia y sus patologías derivadas.

Trivedi *et al.* (Trivedi, Doll, & Khaw, 2003) en su ensayo clínico sobre fracturas y mortalidad no informaron de efectos adversos en pacientes suplementados con vitamina D respecto a controles durante 5 años. El estudio

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Women's Health Initiative (Jackson et al., 2006), sin embargo, reportó un 17% de incremento en el riesgo de tener cálculos renales en mujeres postmenopáusicas suplementadas, pero probablemente este efecto era debido a los suplementos de calcio y no de vitamina D. Otros estudios sobre suplementos de vitamina D no mostraron mayor incidencia de cálculos renales (Cranney et al., 2007).

Además de por estos posibles efectos secundarios, no se han cambiado las recomendaciones por la experiencia acumulada en el último lustro sobre la quimioprevención y sustancias hormonales preventivas del cáncer. A este respecto se indica que debemos ser muy cautos y se ha llegado a la conclusión de que ningún compuesto puede ser recomendado para prevenir el cáncer si su eficacia y efectos secundarios no se han evaluado en ensayos clínicos randomizados con gran tamaño muestral¹⁸. Los datos de laboratorio y los estudios observacionales solo deben ser considerados como un potencial indicador (Gandini, Francesco, Johanson, Bonanni, & Testori, 2009).

La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) que forma parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (*WHO - World Health*

¹⁸ Hasta donde nosotros sabemos, existe un ensayo clínico que se está llevando a cabo actualmente. Se trata de un estudio multicéntrico italiano, randomizado, controlado con placebo, que se encuentra en fase III. Por ahora se ha observado una falta de efecto de la suplementación de vitamina D sobre la incidencia de cáncer, probablemente debido a una insuficiente suplementación. También otros investigadores están llevando a cabo ensayos para determinar qué dosis de vitamina D puede ser útil por ejemplo para la quimioprevención del cáncer de pulmón (Calcitriol in Preventing Lung Cancer in High-Risk Patients, National Cancer Institute (NIH), ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00690924).

Organization) considera que poner un límite inferior de 20 o 30 ng/ml es actualmente inapropiado, ya que no existen estudios randomizados que sugieran que mantener esos niveles de 25(OH)D₃ pueda prevenir ningún tipo de cáncer o cualquier otra patología. Por ello consideran prematuro cambiar las recomendaciones sobre la ingesta de vitamina D, añadido al hecho de la insuficiente evidencia en cuanto a la falta de daño debido a la ingesta prolongada de vitamina D (IARC, 2008).

Pero la siguiente cuestión que nos planteamos es: ya que no podemos aún cambiar las recomendaciones en cuanto a ingesta de vitamina D, ¿y si cambiamos las recomendaciones sobre protección solar?

Se expone en apartados anteriores que los protectores solares con factor de protección solar de 30 absorben hasta un 95-98% de radiación ultravioleta y que reducen en la misma proporción la capacidad de la piel de sintetizar vitamina D metabólicamente activa (M. F. Holick et al., 2007). Por ello cabe pensar que disminuir el uso de protector solar podría aumentar los niveles de vitamina D y así prevenir o tratar estas patologías relacionadas con el déficit de vitamina D.

Lo que ocurre es que los mensajes simplificados sobre el tiempo de exposición solar, duración y uso de protectores solares para actuar potencialmente sobre el estatus de vitamina D deberían evitarse y deberían ser cuestionados a través de un acercamiento basado en la evidencia. Existen implicaciones para la salud tanto en la “sobreexposición” a radiación UV como en la “infraexposición” (M. Kimlin et al., 2007; M. G. Kimlin & Tenkate, 2007). Dependiendo de múltiples factores (genéticos y ambientales), habría personas que deberían aumentar su exposición y otras que deberían reducirla. Podríamos decir que habría que hacer una recomendación individualizada.

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Teniendo en cuenta la relación bien establecida entre cáncer de piel y radiación UV, sobre todo en poblaciones de piel blanca, y dado el aumento en la incidencia del cáncer de piel, dejar de utilizar o disminuir el uso de protectores solares no puede proponerse por ahora.

Igual que ocurría para los suplementos de vitamina D, la IARC (IARC, 2008) propone testar a través de ensayos clínicos controlados la eficacia y ausencia de daño de la exposición solar controlada antes de poder ofrecer una afirmación definitiva.

Finalmente nos planteamos una última duda: ¿y si usamos análogos de vitamina D?

Los análogos de la vitamina D son compuestos químicos con estructuras semejantes a las de la vitamina D que pueden tener funciones semejantes a esta, como su efecto anticarcinogénico, pero no tienen o tienen poca capacidad para aumentar las concentraciones de calcio.

Los análogos de la vitamina D han mostrado efectos antiproliferativos, y antiinflamatorios (A. Slominski, Janjetovic, et al., 2013; A. Slominski, Kim, et al., 2013; A. T. Slominski et al., 2010), por lo que se podrían plantear como potenciales fármacos para intervenciones terapéuticas, pero no hay aún evidencia suficiente como para hacer ninguna afirmación definitiva. El objetivo es optimizar estos compuestos de forma que *in vivo* produzcan un buen balance entre la movilización de calcio (y no se produzca hipercalcemia) y su efecto anticarcinogénico.

Algunos investigadores han comenzado a estudiar estos compuestos en distintos tipos de cáncer, como por ejemplo el cáncer de colon (Pereira, Larriba,

& Munoz, 2012). Se han llevado a cabo ensayos en fase I en distintos tipos de cáncer avanzados (Gulliford et al., 1998; Jain et al., 2011) y en fase II en cáncer de páncreas (T. R. Evans et al., 2002), hígado (Dalhoff et al., 2003), próstata (Chadha et al., 2010; Jarrard et al., 2016) y mama (Amir et al., 2010). En todos los casos los regímenes de tratamiento se toleraron bien, pero las respuestas clínicas fueron muy modestas. Esto podría reflejar que las dosis elegidas eran demasiado conservadoras y además quizá debería medirse en estos ensayos la diferenciación celular (o proliferación reducida o aumento de apoptosis) y esto aún no se ha llevado a cabo en estos estudios (Campbell & Trump, 2017).

No obstante, a pesar de no tener aún resultados concluyentes, ya hay autores (Kechichian & Ezzedine, 2018) que justifican la necesidad de mantener, en la clínica, niveles séricos de vitamina D en rango normal en patologías dermatológicas, como la dermatitis atópica, la psoriasis, el vitíligo, micosis fungoides, alopecia areata, lupus eritematoso sintético y en melanoma. De hecho, incluso mencionan sutilmente que evitar la exposición solar y utilizar fotoprotección puede poner a pacientes con estas patologías en riesgo de déficit de vitamina D, con todas sus implicaciones.

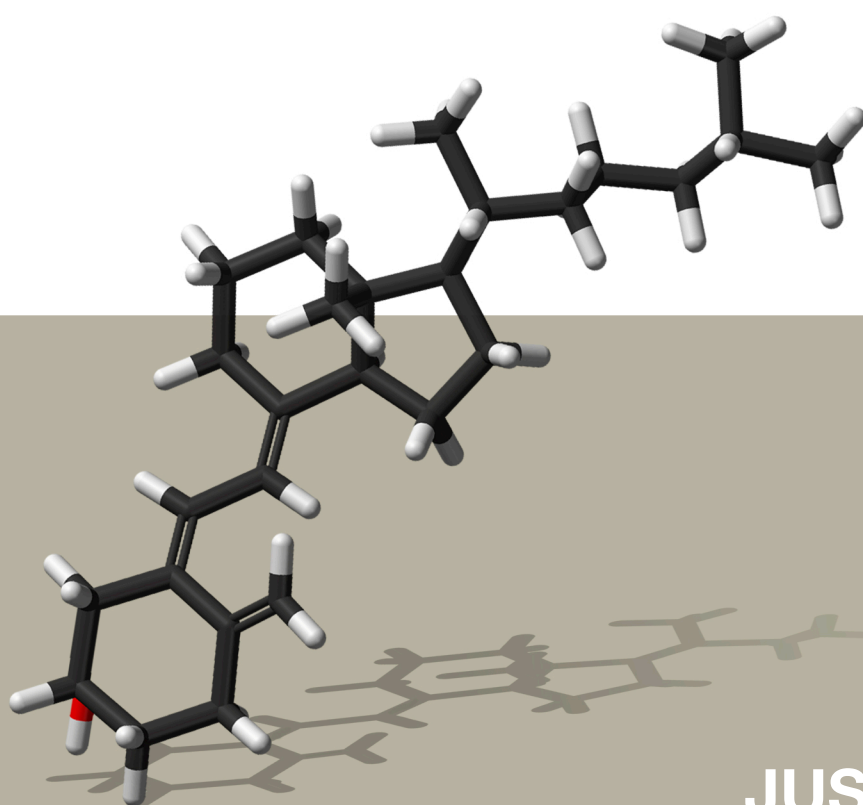
Si no hay cambios en las recomendaciones en relación a los niveles plasmáticos óptimos de vitamina D, podemos intuir que mucho menos está indicado, según los resultados de los distintos estudios expuestos en nuestro texto, cambiar las recomendaciones según el genotipo polimórfico concreto del gen del VDR.

Tras una extensa búsqueda bibliográfica y tras haber meditado respecto al tema que nos concierne en este apartado de nuestro trabajo, entendemos que, debido a las dificultades para traducir los resultados obtenidos a mayor escala,

Carolina Morgado Águila

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

debido al alto número de factores de confusión encontrados en los estudios y teniendo en cuenta la opinión de los expertos, no es posible en el momento actual cambiar las recomendaciones para usar la vitamina D como prevención y tratamiento del cáncer. Se necesitan más estudios epidemiológicos y experimentales para dilucidar la intrincada relación entre los niveles de vitamina D y el desarrollo del cáncer, concretamente el cáncer de piel, en cuanto al uso de protectores solares, los cambios en la dieta o el posible uso de suplementos de vitamina D o sus análogos.



Capítulo III

JUSTIFICACIÓN

El cáncer de piel no melanoma es el cáncer más frecuente de la raza humana y, aunque no es el que más muertes provoca, supone alteraciones cosméticas y funcionales severas y un elevado gasto sanitario a nivel internacional. Se trata de una enfermedad compleja que ocurre como resultado de la interacción de factores ambientales (exposición a luz UV, determinados químicos...) con factores genéticos (mutaciones heredadas, reparación defectuosa del ADN, polimorfismos del VDR...) o genéticamente determinados (pigmentación clara de la piel, inmunocompetencia del individuo...).

No abundan en la bibliografía los estudios que evalúan los diferentes polimorfismos del gen del VDR y el cáncer de piel no melanoma y los que existen han dado lugar a resultados muy dispares (Tabla 2) (Burns et al., 2017; Carless et al., 2008; Kostner et al., 2012; Lesiak et al., 2011; Von Schuckmann et al., 2016). Además, hasta la fecha solo hemos encontrado en nuestra búsqueda bibliográfica dos estudios (Han et al., 2007; Lesiak et al., 2011) que analicen en conjunto la vitamina D, los polimorfismos del gen del VDR y el cáncer de piel no melanoma. Burns et al. (Burns et al., 2017) publicaron parte de su estudio realizado en Alabama, Estados Unidos, con 200 participantes, en 2017. Sin embargo, según la página web de localización de ensayos clínicos ClinicalTrials.gov, el estudio aún no ha concluido, aunque no parece, según la información de la que disponemos, que este grupo vaya a realizar ningún análisis de niveles séricos de vitamina D. (*Vitamin D Receptor Polymorphisms and Non-Melanoma Skin Cancer Risk*, ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03040492).

III. JUSTIFICACIÓN

Los polimorfismos del gen del VDR más estudiados y con mayor número de contradicciones publicadas han sido aquellos localizados en la zona no codificante del extremo 3' de este gen. Los pocos estudios existentes indican que el polimorfismo *BsmI* del gen del VDR tendría una modesta o nula influencia sobre el cáncer de piel no melanoma, aunque en 2017 se publicó el último estudio al respecto (Burns et al., 2017) en el que sus autores sí encontraron que aquellos participantes con polimorfismos de *BsmI* tenían más riesgo de padecer cáncer de piel no melanoma en comparación con los pacientes sin mutaciones. También son muy escasos los estudios de asociación en población caucasiana tomando los alelos del polimorfismo *Apal*. Los resultados indican que determinados polimorfismos de *Apal* podrían ser biomarcadores del riesgo de al menos alguno de los tipos de cáncer de piel no melanoma. En todo caso hay que tener en cuenta el alto desequilibrio de ligamiento existente en esta región.

Además del insuficiente tamaño muestral en varios de estos estudios y las diferentes características de las muestras, hay una gran disparidad de resultados probablemente como consecuencia de otros múltiples factores: falta de homogeneidad de las poblaciones estudiadas, sesgos en la selección, falta de equilibrio Hardy-Weinberg¹⁹, falta de atención a la variabilidad de factores ambientales, etc. De hecho, pocos trabajos muestran interacciones de las variantes alélicas de los genes candidatos con factores ambientales, tales como la ingesta de

¹⁹ En genética de poblaciones, el principio de Hardy-Weinberg o equilibrio de Hardy-Weinberg establece que en una población suficientemente grande en la que los apareamientos se producen al azar y que no se encuentra sometida a mutación, selección o migración, las frecuencias génicas y genotípicas se mantienen constantes de una generación a otra, una vez alcanzado un estado de equilibrio. Se dice que una población está en equilibrio cuando los alelos de los sistemas polimórficos mantienen su frecuencia en la población a través de las generaciones.

calcio y vitamina D u otros factores nutricionales o con factores determinados genéticamente tales como el número de nevos, pecas, color de pelo, tipo de piel, etc.

Los trabajos que presentan el efecto de los diferentes haplotipos son también escasos, existiendo aún menor número de publicaciones que señalen la interacción de estos haplotipos con factores ambientales. Hacer este estudio podría eliminar algunas de las inconsistencias halladas hasta el momento.

Además, existe una falta de comprensión de los mecanismos moleculares y celulares influenciados por estos polimorfismos, de forma que existe una mayor dificultad para su interpretación.

El conocimiento de las bases genéticas del cáncer de piel es de enorme importancia para la prevención, diagnóstico, tratamiento y pronóstico de esta patología.

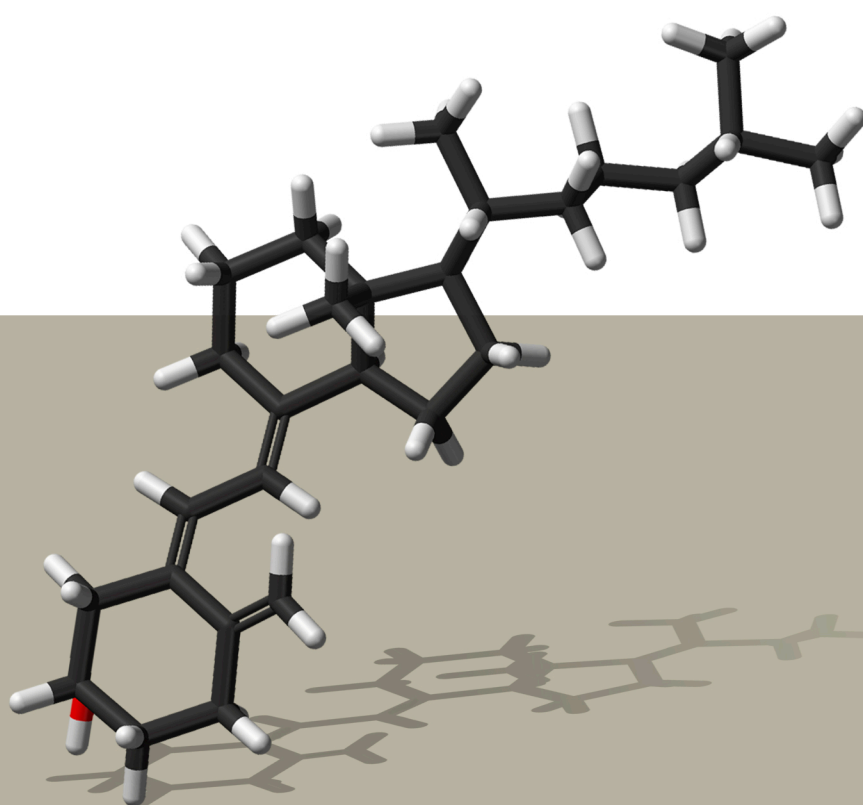
No conocemos que en Extremadura exista actualmente ningún grupo o unidad de investigación que esté evaluando variantes genéticas implicadas en la susceptibilidad a desarrollar cáncer de piel. Aunque sí existe en la bibliografía algún trabajo español que busca encontrar relación entre los polimorfismos del gen del VDR y melanoma (Barroso et al., 2008), tampoco encontramos en España ningún estudio en relación con el cáncer de piel no melanoma.

El aumento de este tipo de estudios, fundamentalmente teniendo en cuenta factores como la raza, sexo, niveles de vitamina D séricos, etc., la corrección de los factores de confusión y la interacción de dichos factores con los diferentes haplotipos, pueden contribuir a mejorar la selección del tratamiento óptimo para

III. JUSTIFICACIÓN

cada paciente y así mejorar el pronóstico de la patología en cuestión, todo sobre la base de una completa evaluación genética.

Son por todos estos motivos por los que nosotros pretendemos en nuestro estudio analizar los polimorfismos del gen del VDR en relación con los niveles séricos de vitamina D, agrupando por sexo y edad, en población caucásica, para analizar la influencia potencial del sistema endocrino y las bases genéticas de la vitamina D sobre el riesgo de desarrollar cáncer de piel no melanoma.

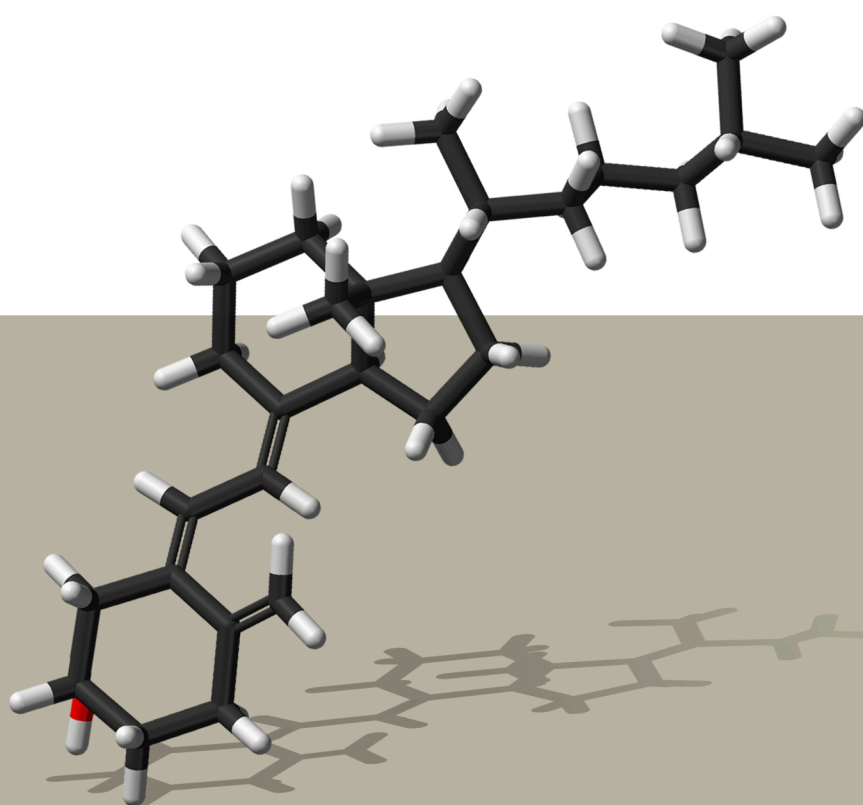


Capítulo IV

OBJETIVOS

Para nuestra población extremeña, los objetivos específicos que se pretenden alcanzar con este trabajo son los siguientes:

1. Determinar los efectos de los polimorfismos *BsmI* y *Apal* del gen del receptor de la vitamina D sobre el cáncer de piel no melanoma en población extremeña.
2. Determinar si los niveles séricos de vitamina D tienen relación con el cáncer de piel no melanoma.
3. Determinar los efectos de los polimorfismos *BsmI* y *Apal* del gen del receptor de la vitamina D sobre el cáncer de piel no melanoma en población extremeña, según edad y género de la población estudiada.
4. Establecer el riesgo de cáncer de piel no melanoma en función de los polimorfismos del gen del receptor de la vitamina D *BsmI* y *Apal* observados en la población estudiada.
5. Proponer, si es posible, en función de los resultados, las medidas preventivas y/o terapéuticas que procedan.



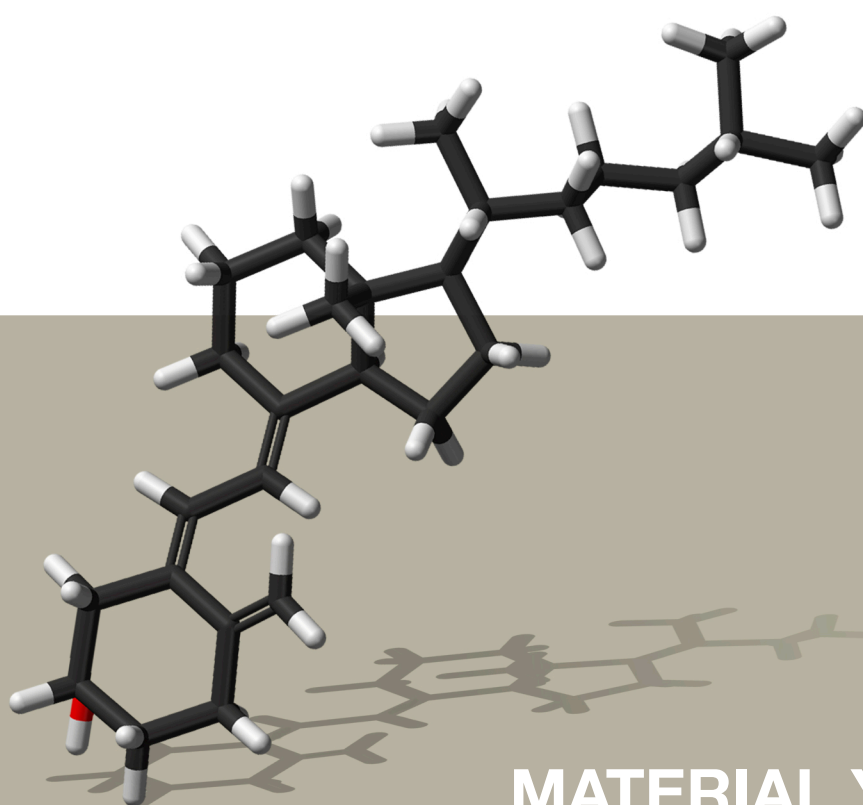
Capítulo V

HIPÓTESIS

Las hipótesis de partida planteadas en este trabajo son las que se detallan a continuación:

1. Los niveles de vitamina D séricas están relacionados con el cáncer de piel no melanoma. Concretamente, dado el efecto protector de la vitamina D sobre el cáncer, los niveles más altos de vitamina D sérica se corresponden con los pacientes control, mientras que los niveles más bajos se corresponden con los pacientes con cáncer.
2. Los niveles de vitamina D séricos son normales o elevados, no deficitarios, en nuestros pacientes debido a la influencia estacional de la extracción muestral.
3. Teniendo en cuenta el carácter poligénico y ambiental del cáncer de piel, los polimorfismos *BsmI* y *Apal* no presentan efecto directo sobre este tipo de cáncer, sino que su contribución está mediada por estos factores externos, como son aquellos que modifican los niveles de vitamina D sérica.
4. El análisis de los haplotipos de los genotipos combinados de los polimorfismos *BsmI* y *Apal* y su interacción con factores externos (como los niveles séricos de vitamina D) puede tener efecto diferencial sobre el cáncer de piel no melanoma, más allá del análisis aislado de sus combinaciones alélicas.

5. El análisis de un genotipo polimórfico concreto (*BsmI* y/o *ApaI*) no puede ser responsable de la totalidad del riesgo de cáncer de piel no melanoma.



Capítulo VI

MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Muestra de estudio.

Se trata de un estudio observacional prospectivo de casos y controles realizado en población extremeña (España).

El grupo de pacientes inicial se constituyó a partir de 99 sujetos caucásicos seleccionados al azar tras un muestreo no probabilístico intencional en las Áreas de Salud de Extremadura, sospechosos de padecer cáncer de piel no melanoma (carcinoma basocelular o carcinoma espinocelular), diagnosticados clínicamente en el servicio de Cirugía Plástica o Dermatología del Complejo Hospitalario Universitario de Cáceres, entre 2016 y 2017.

Se ha partido de un muestreo no probabilístico intencional, ya que los pacientes reclutados fueron los que acudieron a consultas externas por su patología dermatológica en las fechas mencionadas. Posteriormente, de todos los pacientes reclutados, la selección sí se aleatorizó. La aleatorización se llevó a cabo usando el programa SPSS para generar números al azar (SPSS, Chicago, IL, USA).

Adicionalmente, 73 individuos caucásicos sanos se incluyeron como controles, tras el examen físico por un cirujano plástico experimentado que confirmó que no eran sospechosos de padecer en ese momento ningún tipo de cáncer de piel.

6.2 Diseño del estudio.

Los casos se reclutaron en la primera asistencia hospitalaria, cuando se les propuso cirugía según proceder habitual en los servicios clínicos mencionados. Aproximadamente dos semanas tras esa primera visita, en el quirófano, se realizaba la extirpación de la lesión tumoral cutánea sospechosa y se extraían muestras de sangre venosa periférica. Los controles se reclutaron en una primera visita cuando acudían al centro para consultas por otros motivos, como heridas traumáticas, y en ese momento se recolectaban las muestras de sangre.

Solo se incluirían en el estudio pacientes con sospecha de padecer carcinoma basocelular o carcinoma espinocelular. Encontramos 61 pacientes con carcinoma basocelular y 20 con carcinoma espinocelular. Los pacientes con estudio histopatológico en los que se demostraba la presencia de lesiones no malignas u otros tipos de cáncer de piel fueron excluidos del estudio (9 pacientes). Además, se excluyeron 9 pacientes que tenían o habían padecido los dos tipos de cáncer de piel no melanoma mencionados. Ninguno de los sujetos incluidos en el estudio era receptor de órgano trasplantado, estaba siendo tratado con fármacos inmunosupresores, tenía menos de 18 años de edad o estaba tomando complejos vitamínicos.

Finalmente, tras la aplicación de los criterios de exclusión, se incluyeron 81 individuos con cáncer de piel no melanoma (casos) y 73 sujetos sanos (controles), con lo que la muestra final quedó conformada por un total de 154 pacientes.

6.3 Toma de muestras cutáneas.

La escisión quirúrgica se llevó a cabo siempre por el mismo cirujano plástico en las instalaciones del Hospital Universitario de Cáceres, de acuerdo con los protocolos actuales (Brodland & Zitelli, 1992; Gulleth, Goldberg, Silverman, & Gastman, 2010), y las muestras se enviaron en formol al laboratorio del servicio de Anatomía Patológica del mismo hospital para el estudio histopatológico. El personal de laboratorio estudió las muestras como parte de su rutina habitual y no sabía que los pacientes estaban siendo estudiados por ninguna otra razón más que para el manejo clínico.

6.4 Selección de polimorfismos y genotipado.

Los polimorfismos *Apal* y *BsmI* del gen del VDR fueron analizados tanto en los casos como en los controles por un laboratorio independiente (STAB — Servicio de Técnicas Aplicadas a la Biociencia) en Badajoz. El personal del laboratorio no conocía el objetivo del estudio y desconocían si las muestras eran casos o controles.

El genotipado se llevó a cabo con TaqMan™ Genotyping Master Mix (Thermo Fisher Scientific Inc, Applied Biosystems™, Waltham, MA, U.S.A.) y las sondas TaqMan™ SNP Genotyping Assays rs1544410 y rs7975232 (Applied Biosystems) usando la plataforma QuantStudio 6 Flex (Applied Biosystems) y el software QuantStudio Real-Time PCR. Se llevaron a cabo pruebas de calidad para validar el procedimiento de genotipado y la concordancia fue del 100%.

Carolina Morgado Águila

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

Los alelos de *BsmI* (rs1544410) se identificaron usando la secuencia AGCAGAGCCTGAGTATTGGGAATG[C/T]GCAGGCCTGTCTGTGGCCCC AGGAA y los alelos de *ApaI* (rs7975232) usando la secuencia AAGGCACAGGAGCTCTCAGCTGGGC[A/C]CCTCACTGCTCAATCCCAC CACCCC.

Para nuestro trabajo definimos la nomenclatura de los alelos de la siguiente forma:

- Para *BsmI*, *A* corresponde al alelo mutado y *G* corresponde al alelo salvaje;
- Para *ApaI*, *G* corresponde al alelo mutado y *T* corresponde al alelo salvaje.

Determinados estudios en la bibliografía denotan en mayúsculas la existencia del alelo salvaje y en minúsculas la existencia del alelo mutado.

A continuación se desarrolla una pequeña tabla con las correspondencias en la nomenclatura en distintos trabajos (Tabla 3):

Tabla 3. Tabla aclaratoria de la correspondencia de nomenclatura.

	Nomenclatura en nuestro trabajo	Nomenclatura en otras fuentes consultadas
	<i>GG</i>	<i>BB</i>
<i>BsmI</i>	<i>AA</i>	<i>bb</i>
	<i>AG</i>	<i>Bb</i>
	<i>TT</i>	<i>AA</i>
<i>Apal</i>	<i>GG</i>	<i>aa</i>
	<i>GT</i>	<i>Aa</i>

6.5 Determinación de vitamina D.

La sangre se extrajo en todo caso en tubos de bioquímica (tapón rojo), sin anticoagulantes, y se congelaba posteriormente a -25°C . Una vez concluidas todas las extracciones, si se realizaba más de una en un día, se procedía después de la jornada a congelar todas las muestras a -90°C .

Los niveles de vitamina D también se cuantificaron en el STAB de Badajoz. El personal de laboratorio desconocía el objetivo de esta medición, así como la identificación y categorización de las muestras.

La selección de muestras utilizadas para la determinación de vitamina D se realizó entre los meses de mayo a agosto de los años 2016 y 2017 (concretamente una parte de los casos se recolectó en los meses de junio, julio y agosto de 2016 y otra parte en mayo de 2017; las muestras control se obtuvieron en los meses de mayo, junio y julio de 2017), es decir, en los cuatro meses del año con mayor radiación solar en nuestra región, con la intención de evitar potenciales sesgos en

relación con variaciones estacionales en los niveles séricos de vitamina D (Figura 19).

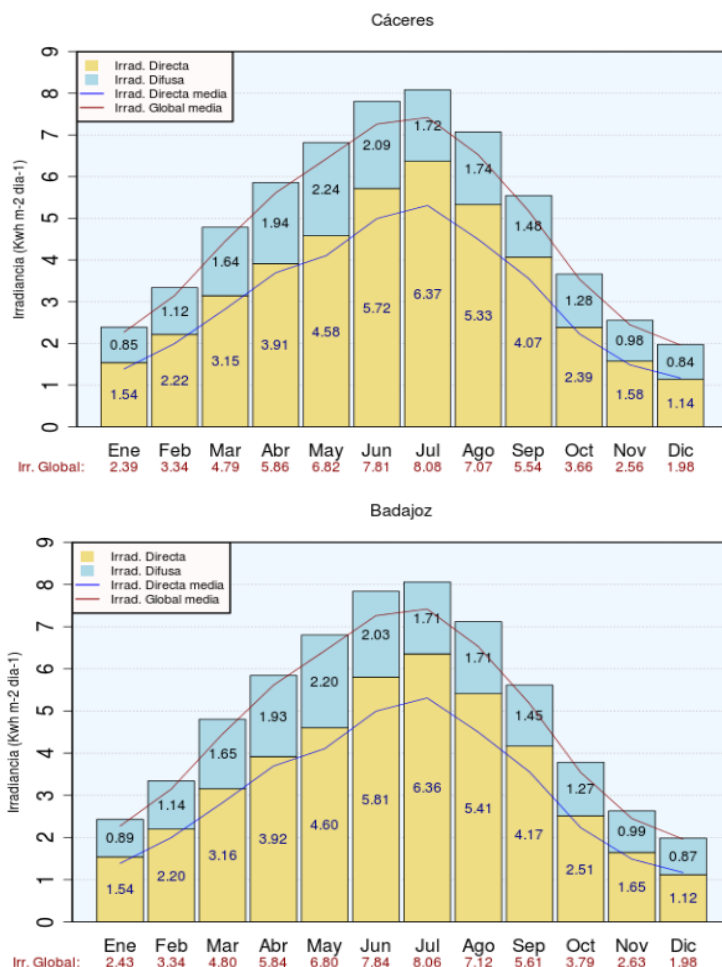


Figura 19. Irradiancias global, directa y difusa en las capitales de provincia de Extremadura (1983-2005). Tomado del “Atlas de Radiación Solar de España utilizando datos del SAF de Clima de EUMETSAT”. Obtenido de la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET)²⁰.

²⁰ A lo largo de este atlas publicado por la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET) se recogen mapas, gráficos y tablas de valores medios mensuales, estacionales y anuales de las variables superficiales de radiación solar global, directa y difusa, en plano horizontal, con una resolución espacial de 3 x 3 km utilizando datos satelitales mensuales del periodo 1983-2005.

Para determinar los niveles plasmáticos de vitamina D (25(OH)D₃) se utilizó el kit *Human 25(OH)Vitamin D ELISA kit*, de *Abbexa Ltd*. Se utilizaron 50 µl de muestra sin diluir para cada punto.

Posteriormente, para nuestro estudio estratificamos los niveles plasmáticos de vitamina D proporcionados por el laboratorio en grupos, según valores habitualmente utilizados: < 20 ng/ml (Déficit), 20-30 ng/ml (Límite Bajo), 30-60 ng/ml (Normal), 60-100 ng/ml (Límite alto), 100-150 ng/ml (Exceso), > 150 ng/ml (Intoxicación) (Figura 5).

6.6 Análisis estadístico.

En la primera parte del trabajo se realizó un exhaustivo estudio sobre los polimorfismos seleccionados y su relación con el cáncer de piel no melanoma. En la segunda parte del proyecto se incorporaron los datos sobre los niveles plasmáticos de vitamina D.

Se usó el test χ^2 test para comprobar si los genotipos de cada uno de los polimorfismos (*BsmI* y *Apal*) cumplían el equilibrio Hardy-Weinberg.

La asociación entre las frecuencias alélicas de los pacientes y controles se estudió mediante un análisis de regresión logarítmica. La razón de verosimilitud se calculó para evaluar la heterogeneidad en los efectos de los genotipos para cada tipo de cáncer de piel no melanoma.

Para calcular la OR con un IC del 95% para evaluar el riesgo de cáncer de piel para cada genotipo, edad y sexo entre los sujetos se empleó el test de regresión logística multivariante.

Para estudiar las diferencias en la distribución de genotipos entre grupos para los genotipos combinados *BsmI/ApaI* se utilizó nuevamente el test χ^2 .

Se compararon las frecuencias de los polimorfismos entre los distintos grupos usando el test de χ^2 o el test exacto de Fisher. El nivel de corte de significación era $p \leq 0,05$.

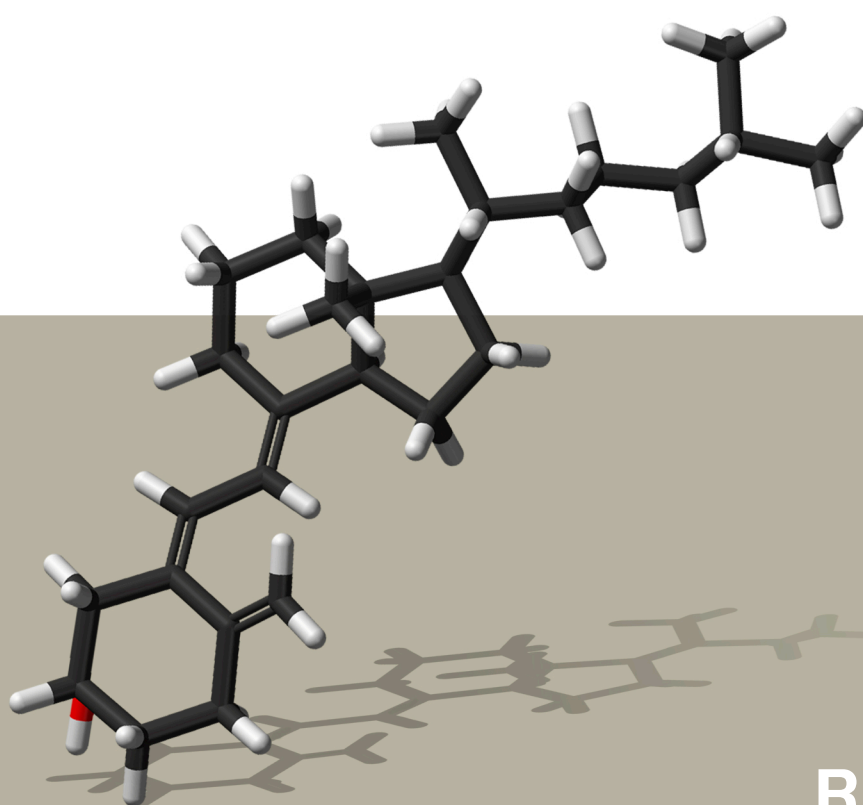
En la segunda parte de nuestro trabajo se amplió el estudio con un análisis descriptivo de los niveles séricos de vitamina D en relación con las variables que ya se estaban estudiando (sexo, edad, tipo de tumor, y polimorfismos del VDR). Así mismo se usó el test χ^2 para estudiar la posible relación entre los polimorfismos *BsmI* y *ApaI* y los niveles de vitamina D y para evaluar la relación entre el tipo de tumor y los niveles de vitamina D. Para corroborar los resultados obtenidos al relacionar vitamina D y la presencia o no de tumor, se utilizó una prueba T.

Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo usando el programa SPSS para Windows, versión 23.0 (SPSS Inc.).

6.7 Consideraciones éticas.

Todos los sujetos entregaron consentimiento informado escrito (Modelo de consentimiento informado en el Anexo 1) antes de entrar a formar parte del

estudio. El proyecto de investigación había sido previamente aprobado por el Comité de Ética del Hospital de Cáceres y por el Comité Ético de la Universidad de Extremadura. El trabajo cumple los requisitos de la Declaración de Helsinki (*World Medical Association Declaration of Helsinki*) (Mundial, 1964). Además, se ha ajustado en todo momento a la normativa vigente en cuanto a protección de datos de carácter personal (Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales) y se han tenido en consideración los requisitos establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica (Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica).



Capítulo VII

RESULTADOS

7.1 Características descriptivas de la muestra de estudio.

Se incluyeron un total de 154 sujetos en nuestro estudio. El grupo de casos estaba conformado por 81 pacientes con cáncer de piel no melanoma y el grupo control estaba constituido por 73 individuos sanos. 72 de los sujetos eran hombres (46.75%) y 82 (53.24%) eran mujeres.

Sus edades estaban comprendidas entre los 38 y 94 años, con una media de edad de 68,22 años. La media de edad de los sujetos control era de 60,58 años y de 74,03 y 78,40 años para carcinoma basocelular y carcinoma espinocelular, respectivamente, en el caso del grupo de pacientes.

Se evidenció una mayor incidencia de carcinoma basocelular (61 sujetos) que carcinoma espinocelular (20 sujetos), con un porcentaje de 75,3% y 24,7% respecto del total de casos para cada uno de ellos respectivamente. Es decir, aproximadamente tres cuartas partes de los casos eran carcinomas basocelulares y una cuarta parte fueron carcinomas espinocelulares (Tabla 4).

Tabla 4. Características descriptivas de la muestra de estudio.

		n (%)	Edad				
			Media	SD	Mín	Máx	
Total		154 (100%)	68,22	14,537	38	94	
Sexo	Hombre	72 (46,75%)	70,69	13,507	40	94	
	Mujer	82 (53,24%)	66,05	15,133	38	93	
Tipo de tumor	Control	No presenta tumor	73 (47,4%)	60,58	12,895	38	93
	Casos		81 (52,59%)				
		Carcinoma basocelular	61 (75,3%)	74,03	12,187	40	94
		Carcinoma espinocelular	20 (24,7%)	78,40	12,663	47	92

n, tamaño muestral; SD, standard deviation (desviación estándar); Mín, mínimo; Máx, máximo.

7.2 Polimorfismos del gen del VDR, edad y sexo y riesgo de cáncer de piel no melanoma.

Las frecuencias alélicas correspondientes a los genotipos *BsmI* y *ApaI* del gen del VDR se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg.

No se encontraron efectos estadísticamente significativos en cuanto a los polimorfismos *BsmI* y *ApaI* del gen del VDR y el riesgo de cáncer de piel en el modelo de regresión logística multivariante (Tabla 5)²¹.

Sin embargo, tras estratificar los polimorfismos *BsmI* y *ApaI* por género y tipo de cáncer de piel, se encontró que los polimorfismos *GG* y *AG* de *BsmI* incrementaban significativamente el riesgo de carcinoma basocelular en hombres (OR: 7,012; IC 95%: 2,350-20,921 y OR: 4,593; IC 95%: 1,601-13,177, respectivamente). Con respecto a *ApaI*, observamos que los tres polimorfismos (*TT*, *GG* and *GT*) incrementaban significativamente el riesgo de carcinoma basocelular en hombres (OR: 3,4; IC 95%: 1,063-10,870, OR: 11,9; IC 95%: 3,192-44,369 y OR: 6,8; IC 95%: 2,341-19,755, respectivamente). Aunque los tres polimorfismos aumentaban el riesgo de carcinoma basocelular en hombres, lo hacían en diferente “cuantía”. Así, los hombres con el polimorfismo *GG* de *ApaI* podrían aumentar su riesgo para desarrollar un carcinoma basocelular hasta

²¹ Para analizar los resultados de este apartado nos vamos a servir de las tablas 5, 6, 7 y 8 que se encuentran al final de este apartado.

aproximadamente 12 veces, con el polimorfismo *GT* podrían aumentarlo hasta aproximadamente 7 veces y con el polimorfismo *TT* hasta 3,5 veces (Tabla 7).

Para el carcinoma espinocelular no se observaron efectos significativos en los análisis de los polimorfismos de *Apal* o *BsmI* al ajustar los estratos por género (Tabla 7).

Además, se usó el test de regresión logística multivariante para evaluar si la edad y el sexo estaban relacionados con el riesgo de cáncer de piel (Tabla 5): el sexo masculino estaba asociado de forma significativa con un aumento del riesgo de carcinoma basocelular (OR: 4,38; IC 95%: 1,93-9,9), pero no con el riesgo de carcinoma espinocelular, comparado con los controles. También se observó que tener 70 años o menos era un factor protector tanto para carcinoma basocelular como para carcinoma espinocelular (OR: 0,12; IC 95%: 0,05-0,28 para carcinoma basocelular y OR: 0,07; IC 95%: 0,02-0,24 para carcinoma espinocelular). No se encontró asociación entre el riesgo de carcinoma basocelular o espinocelular en relación con los polimorfismos del VDR (*BsmI* y *Apal*), edad o sexo (Tabla 5).

Al estratificar casos y controles según el tipo de cáncer de piel, la edad y el sexo, encontramos que el género mujer y la edad de 70 años o menos constituyen un factor protector de carcinoma basocelular (OR: 0,115; IC 95%: 0,036-0,371). (Tabla 6).

La comparación de las frecuencias de los genotipos del VDR en pacientes mayores de 70 años frente a los que tenían 70 años o menos, evidenció la relación entre la edad y el padecer un carcinoma basocelular o espinocelular. Al ajustar por el estrato edad y tipo de cáncer de piel, encontramos que, excepto para el polimorfismo *GT* de *Apal*, todos los otros polimorfismos eran protectores frente

VII. RESULTADOS

al carcinoma basocelular en pacientes de 70 años o menos. Igualmente, los polimorfismos *AG* de *BsmI* y *GT* de *Apal* presentaban protección contra el carcinoma espinocelular en pacientes de 70 años o menos (Tabla 8).

Tabla 5. Genotipo del VDR y riesgo de cáncer de piel.

Genotipo	Controles (%)		Carcinoma basocelular		Carcinoma espinocelular	
	Casos (%)	OR multivariante	p-valor X ²	Casos (%)	OR multivariante	p-valor X ²
Bsm I						
GG	22 (30.1)	a	0.571 ^c	10 (50)	a	0.221 ^d ; 0.609 ^e
AA	11 (15.1)	a		3 (15)	a	
AG	40 (54.8)	a		7 (35)	a	
Bsm I homocigotos vs. heterocigotos						
GG/AA	33 (45.2)	a	0.305 ^c	13 (65)	a	0.117 ^d ; 0.393 ^e
AG	40 (54.8)	a		7 (35)	a	
Apa I						
TT	17 (23.3)	a	0.262 ^c	6 (30)	a	0.761 ^d ; 0.782 ^e
GG	13 (17.8)	a		4 (20)	a	
GT	43 (58.9)	a		10 (50)	a	
Apa I homocigotos vs. heterocigotos						
TT/GG	30 (41.1)	a	0.133 ^c	10 (50)	a	0.476 ^d ; 0.750 ^e
GT	43 (58.9)	a		10 (50)	a	
Sexo						
Hombre	22 (30.1)	4.38 (1.930-9.900)	0.000 ^c	9 (45)	a	0.212 ^d ; 0.076 ^e
Mujer	51 (69.9)	b		11 (55)	a	
Edad (68.22 ± 14.53)						
< 70 años	57 (78.1)	0.12 (0.050-0.280)	0.000 ^c	4 (20)	0.07 (0.020-0.240)	0.000 ^d ; 0.407 ^e
> 70 años	16 (21.9)	b		16 (80)	b	

a. No significativo

b. Este parámetro se pone a cero porque es redundante.

c. El p-valor compara los casos y controles para carcinoma basocelular.

d. El p-valor compara los casos y controles para carcinoma espinocelular.

e. El p-valor compara los casos de carcinoma basocelular y de carcinoma espinocelular.

OR, Odds Ratio; X², chi cuadrado.

Tabla 6. Estratificación por edad y género y riesgo de cáncer de piel.

Estratificación (<70 / >70)	Sexo	Controles (%)	Carcinoma basocelular		Carcinoma espinocelular			
			Casos (%)	OR multivariante	p-valor X ²	Casos (%)	OR multivariante	p-valor X ²
< 70 años	Hombre	15 (26)	11 (61)	a	0,007 ^e	4 (100)	a	0,002 ^e ; 0,131 ^f
	Mujer	42 (73,7)	7 (38,9)	0,115 (0,036-0,371)		0	a	
	Hombre	7 (43,8)	30 (69,8)	a	0,066 ^e	5 (31,3)	a	0,465 ^d ; 0,007 ^f
	Mujer	9 (56,3)	13 (30,2)	a		11 (68,8)	a	

a. No significativo

b. Este parámetro se pone a cero porque es redundante.

c. El p-valor compara los casos y controles para el carcinoma basocelular.

d. El p-valor compara los casos y controles para el carcinoma espinocelular.

e. El p-valor compara los casos y controles para el carcinoma espinocelular. Más del 20% de las celdas de la subtabla tenían recuentos esperados menores de 5. Los resultados de X² podrían no ser válidos.

f. El p-valor compara los casos de carcinoma basocelular con los casos de carcinoma espinocelular.

OR, Odds Ratio; X², chi cuadrado.

Tabla 7. Polimorfismos *BsmI* y *ApaI* ajustados por sexo y riesgo de cáncer de piel.

Genotipo	Controles (%)		Carcinoma basocelular		Carcinoma espinocelular	
	Casos (%)	OR multivariante	Casos (%)	OR multivariante	Casos (%)	OR multivariante
<i>Bsm I</i> * Sexo						
GG						
Hombre	7 (31.8)		19 (82.6)	7.012 (2.350-20.921)	5 (50)	a
Mujer	15 (68.2)		4 (17.4)	a	5 (50)	a
AA						
Hombre	6 (54.4)		6 (60)	a	3 (100)	a
Mujer	5 (45.5)		4 (40)	a	0	a
AG						
Hombre	9 (22.5)		16 (57.1)	4.593 (1.601-13.177)	1 (14.3)	a
Mujer	31 (77.5)		12 (42.9)	a	6 (85.7)	a
<i>Apa I</i> * Sexo						
TT						
Hombre	9 (52.9)		9 (56.3)	3.4 (1.063-10.870)	5 (83.3)	a
Mujer	8 (47.1)		7 (43.8)	a	1 (16.7)	a
GG						
Hombre	4 (30.8)		14 (82.4)	11.9 (3.192-44.369)	2 (50)	a
Mujer	9 (69.2)		3 (17.6)	a	2 (50)	a
GT						
Hombre	9 (20.9)		18 (64.3)	6.8 (2.341-19.755)	2 (20)	a
Mujer	34 (79.1)		10 (35.7)	a	8 (80)	a

a. No significativo
OR, Odds Ratio.

Tabla 8. Polimorfismos *BsmI* y *ApaI* ajustados por edad y riesgo de cáncer de piel.

Genotipo	Controles (%)	Carcinoma basocelular		Carcinoma espinocelular	
		Casos (%)	OR multivariante	Casos (%)	OR multivariante
<i>BsmI</i> * Edad					
GG					
< 70 años	17 (77.3)	7 (30.4)	0.217 (0.067-0.696)	2 (20)	a
> 70 años	5 (22.7)	16 (69.6)	a	8 (80)	a
AA					
< 70 años	10 (90.9)	2 (20)	0.105 (0.019-0.576)	1 (33.3)	a
> 70 años	1 (9.1)	8 (80)	a	2 (66.7)	a
AG					
< 70 años	30 (75)	9 (32.1)	0.158 (0.054-0.460)	1 (14.3)	0.056 (0.006-0.519)
> 70 años	10 (25)	19 (67.9)	a	6 (85.7)	a
<i>ApaI</i> * Edad					
TT					
< 70 años	13 (76.5)	3 (18.8)	0.136 (0.031-0.595)	3 (50)	a
> 70 años	4 (23.5)	13 (81.3)	a	3 (50)	a
GG					
< 70 años	11 (84.6)	4 (23.5)	0.214 (0.054-0.855)	0	a
> 70 años	2 (15.4)	13 (76.5)	a	4 (100)	a
GT					
< 70 años	33 (76.7)	11 (39.3)	a	1 (10)	0.034 (0.004-0.299)
> 70 años	10 (23.3)	17 (60.7)	a	9 (90)	a

a. No significativo.
OR, Odds Ratio.

7.3 Genotipos combinados *BsmI/ApaI* en los pacientes con cáncer de piel no melanoma y controles.

Existe una tendencia hacia una mayor prevalencia de los polimorfismos combinados *AGGT*, *GGGG* y *AATT* en nuestra población (Tabla 9).

Se procedió al estudio de los genotipos combinados de *BsmI* y *ApaI* con el propósito de comprobar si existía asociación entre estos genotipos y el riesgo de cáncer de piel no melanoma (carcinoma basocelular, carcinoma espinocelular y controles), pero no hallamos ningún efecto estadísticamente significativo entre estos polimorfismos combinados y el riesgo de cáncer de piel.

Tabla 9. Genotipos *BsmI/ApaI* combinados en carcinoma basocelular, carcinoma espinocelular y controles.

Genotipo	Controles (%)	Carcinoma basocelular (%)	Carcinoma espinocelular (%)	Total (%)
AAGG	1 (1.4)	0	0	1 (6)
AAGT	2 (2.7)	0	0	2 (1.3)
AATT	8 (11)	10 (16.4)	3 (15)	21 (13.6)
AGGG	1 (1.4)	0	0	1 (0.6)
AGGT	31 (42.5)	22 (36.1)	6 (30)	59 (38.3)
AGTT	8 (11)	6 (9.8)	1 (5)	15 (9.7)
GGGG	11 (15.1)	17 (27.9)	4 (20)	32 (20.8)
GGGT	10 (13.7)	6 (9.8)	4 (20)	20 (13)
GGTT	1 (1.4)	0	2 (10)	3 (1.9)

7.4 Niveles séricos de vitamina D. Análisis descriptivo.

Se han analizado los niveles séricos de vitamina D en 84 muestras, de las cuales 43 (51,19%) correspondían a pacientes control y 41 (48,80%) a casos. En el grupo de casos, 24 eran carcinomas basocelulares (58,53%) y 17 (41,46%) eran carcinomas espinocelulares.

Todos los sujetos analizados presentaron unos niveles de vitamina D normales (30-60 ng/ml), bajos (20-30 ng/ml) o deficitarios (<20 ng/ml). Ningún sujeto poseía niveles elevados. El mayor porcentaje de sujetos (59,5%) estaba en niveles de déficit de vitamina D. En límites normales encontramos un 14,3% de pacientes. El resto de sujetos estaban en el límite bajo de la normalidad. (Tabla 10).

Tabla 10. Niveles séricos de vitamina D. Características descriptivas de la muestra.

	n	%
Total	84	100
Tipo de tumor		
Controles	43	51,19
Casos	41	48,80
Carcinoma basocelular	24	58,54 ^a
Carcinoma espinocelular	17	41,46 ^a
Rango de vitamina D		
< 20 ng/ml (Déficit)	50	59,5
20-30 ng/ml (Límite bajo)	22	26,2
30-60 ng/ml (Normal)	12	14,3
60-100 ng/ml (Límite alto)	0	0
100-150 ng/ml (Exceso)	0	0
>150 ng/ml (Intoxicación)	0	0

^a: respecto del total de casos.

n, tamaño muestral; ng, nanogramos; ml, mililitro.

Tras estratificar por género, observamos que existe una mayor prevalencia de mujeres que hombres en límite bajo o en déficit de vitamina D, mientras que existen más varones con niveles normales. Igual que ocurría con nuestra muestra general, en este subgrupo de sujetos en el que se analiza la vitamina D también existe mayor número de pacientes con carcinoma basocelular que con carcinoma espinocelular, con más hombres con cáncer de piel no melanoma en general y más mujeres en el grupo control (Tabla 11).

Tabla 11. Caracterización de la muestra según género.

	Hombres		Mujeres	
	n	%	n	%
Total	33	39,285	51	60,714
Tipo de tumor				
Controles	9	20,930	34	79,069
Casos	24	58,536	17	41,463
Carcinoma basocelular	17	70,833	7	29,166
Carcinoma espinocelular	7	41,176	10	58,823
Niveles de vitamina D				
<20 ng/ml (Déficit)	17	34	33	66
20-30 ng/ml (Límite bajo)	9	40,909	13	59,09
30-60 ng/ml (Normal)	7	58,333	5	41,666
60-100 ng/ml (Límite alto)	0	0	0	0
100-150 ng/ml (Exceso)	0	0	0	0
>150 ng/ml (Intoxicación)	0	0	0	0

%: porcentajes respecto de género.

n, tamaño muestral; ng, nanogramos; ml, mililitro.

VII. RESULTADOS

Si caracterizamos la muestra según los niveles de vitamina D, en la siguiente tabla cruzada (Tabla 12) observamos que existen en total más pacientes en déficit de vitamina D, pero llama la atención que hay un mayor número o porcentaje de pacientes en déficit que no presenta tumor (33, que representa un 66% del total de pacientes en déficit) frente incluso a la suma de los pacientes en déficit con cualquiera de los dos tipos de cáncer de piel no melanoma (10+7, lo que representa un 34% del total de pacientes en déficit).

Tabla 12. Caracterización de la muestra según niveles de vitamina D y tipo de tumor.

	Tipo de tumor											
	Controles			Carcinoma basocelular			Carcinoma espinocelular			Total		
	n	% ^a	% ^b	n	% ^a	% ^b	n	% ^a	% ^b	n	% ^a	% ^b
Vitamina D												
<20 ng/ml (Déficit)	33	66	76,7	10	20	41,7	7	14	41,2	50	59,5 ^b	
20-30 ng/ml (Límite bajo)	7	31,8	16,3	9	40,9	37,5	6	27,3	35,3	22	26,2 ^b	
30-60 ng/ml (Normal)	3	25	7	5	41,7	20,8	4	33,3	23,5	12	14,3 ^b	
60-100 ng/ml (Límite alto)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
100-150 ng/ml (Exceso)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>150 ng/ml (Intoxicación)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Total	43	51,190 ^a		24	28,571 ^a		17	20,238 ^a		84		

%^a: respecto de niveles de vitamina D.

%^b: respecto de tipo de tumor.

n, tamaño muestral; ng, nanogramos; ml, mililitro.

VII. RESULTADOS

Para intentar relacionar los niveles de vitamina D con el tipo de tumor realizamos la prueba de χ^2 , obteniendo un resultado significativo, con una $p=0,026$. Parece efectivamente que los menores niveles de vitamina D pueden estar relacionados con una menor incidencia de cáncer de piel no melanoma.

Para comprobar el resultado, comparamos los pacientes control con el total de casos, tanto para los niveles de vitamina D según el rango preestablecido, con una tabla cruzada realizando el test de χ^2 , como para los niveles netos en su forma cuantitativa con la prueba T. Efectivamente con ambos test confirmamos que existen diferencias significativas en cuanto a los niveles de vitamina D y el hecho de tener o no un cáncer de piel no melanoma ($P<0,05$ en ambas pruebas). Podemos observar estas diferencias en la siguiente gráfica (Figura 20):

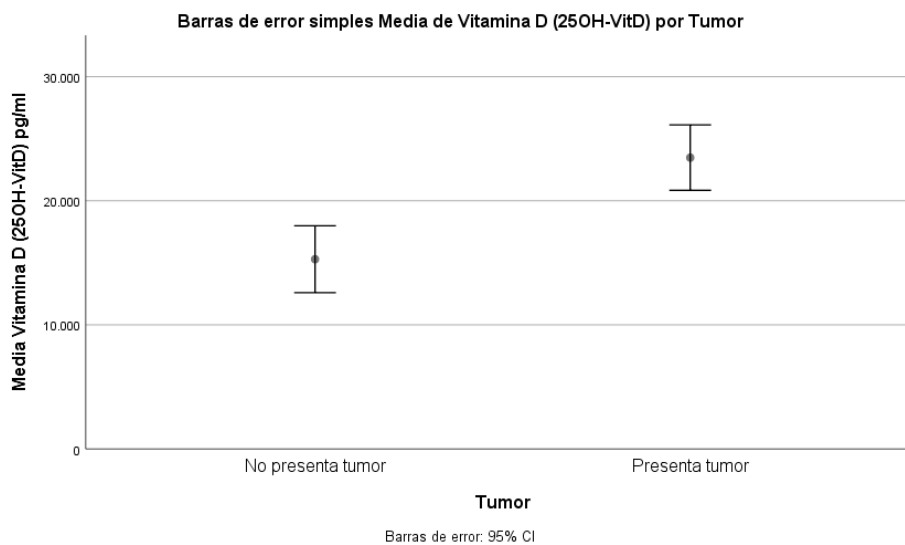


Figura 20. Barras de error simples para comparar los niveles medios de vitamina D (25(OH)D₃) de los controles y los casos, expresados en picogramos por mililitro (pg/ml). El valor medio de vitamina D para los controles (no presenta tumor) fue de 15.284,98, mientras que el valor medio de vitamina D para los casos (presenta tumor) fue de 23.475,66.

En la Tabla 13 podemos observar las frecuencias de sujetos existentes con respecto a los polimorfismos de *BsmI* y los niveles de vitamina D. Al realizar la prueba de χ^2 no obtenemos diferencias estadísticamente significativas, con un resultado de significación de $p=0,393$.

Igual ocurre al relacionar los polimorfismos de *ApaI* y los niveles de vitamina D (Tabla 14). Al realizar la prueba de χ^2 no se observan diferencias estadísticamente significativas, con un resultado de significación de $p=0,784$.

Tabla 13. Tabla cruzada: *BsmI* * Niveles de vitamina D

		Niveles de vitamina D ^a			Total
		<20 ng/ml (Déficit)	20-30 ng/ml (Límite bajo)	30-60 ng/ml (Normal)	
<i>BsmI</i>	<i>GG</i>	17	12	7	36
	<i>AA</i>	8	2	1	11
	<i>AG</i>	25	8	4	37
Total		50	22	12	84

^a: Se obvia en la tabla la descripción de los niveles de vitamina en rangos de 60-100 ng/ml (Límite alto), 100-150 ng/ml (Exceso) y > 150 ng/ml (Intoxicación), ya que en todo caso los valores son cero. ng, nanogramos; ml, mililitros.

Tabla 14. Tabla cruzada: *ApaI* * Niveles de vitamina D

		Niveles de vitamina D ^a			Total
		<20 ng/ml (Déficit)	20-30 ng/ml (Límite bajo)	30-60 ng/ml (Normal)	
<i>ApaI</i>	<i>TT</i>	10	5	3	18
	<i>GG</i>	11	7	4	22
	<i>GT</i>	29	10	5	44
Total		50	22	12	84

^a: Se obvia en la tabla la descripción de los niveles de vitamina en rangos de 60-100 ng/ml (Límite alto), 100-150 ng/ml (Exceso) y > 150 ng/ml (Intoxicación), ya que en todo caso los valores son cero. ng, nanogramos; ml, mililitros.

VII. RESULTADOS

En la Tabla 15 observamos las frecuencias para cada tipo de tumor con respecto a la estratificación de los polimorfismos *BsmI* y *Apal*, según los diferentes niveles de vitamina D.

Queremos advertir que al disminuir el tamaño muestral en esta segunda parte de nuestro estudio, hay polimorfismos de *Apal* y *BsmI* combinados que se quedan con nula (tal es el caso de *GGAA*) o escasa representación (*TTGG*, *GGAG*, *GTAA*).

<i>Apal</i>		<i>BsmI</i>		Tipo de tumor			Total
				Controles	BCC	SCC	
TT	GG	Vit D ^a	<20 ng/ml (Déficit)	1	0	1	2
			20-30 ng/ml (Límite bajo)	0	0	0	0
			30-60 ng/ml (Normal)	0	0	1	1
		Total	1	0	2	3	
	AA	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	4	2	0	6
			20-30 ng/ml (Límite bajo)	0	2	0	2
			30-60 ng/ml (Normal)	0	0	1	1
		Total	4	4	1	9	
	AG	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	2	0	0	2
			20-30 ng/ml (Límite bajo)	2	0	1	3
			30-60 ng/ml (Normal)	0	1	0	1
		Total	4	1	1	6	
Total	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	7	2	1	10	
		20-30 ng/ml (Límite bajo)	2	2	1	5	
		30-60 ng/ml (Normal)	0	1	2	3	
	Total	9	5	4	18		
GG	GG	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	7	3	0	10
			20-30 ng/ml (Límite bajo)	1	5	1	7
			30-60 ng/ml (Normal)	0	2	2	4
		Total	8	10	3	21	
	AA	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	0	0	0	0
			20-30 ng/ml (Límite bajo)	0	0	0	0
			30-60 ng/ml (Normal)	0	0	0	0
		Total	0	0	0	0	
	AG	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	1	0	0	1
			20-30 ng/ml (Límite bajo)	0	0	0	0
			30-60 ng/ml (Normal)	0	0	0	0
		Total	1	0	0	1	

VII. RESULTADOS

	Total	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	8	3	0	11
			20-30 ng/ml (Límite bajo)	1	5	1	7
			30-60 ng/ml (Normal)	0	2	2	4
		Total		9	10	3	22
GT	GG	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	2	0	3	5
			20-30 ng/ml (Límite bajo)	3	1	1	5
			30-60 ng/ml (Normal)	1	1	0	2
		Total		6	2	4	12
	AA	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	2	0	0	2
			20-30 ng/ml (Límite bajo)	0	0	0	0
			30-60 ng/ml (Normal)	0	0	0	0
		Total		2	0	0	2
	AG	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	14	5	3	22
			20-30 ng/ml (Límite bajo)	1	1	3	5
			30-60 ng/ml (Normal)	2	1	0	3
		Total		17	7	6	30
	Total	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	18	5	6	29
			20-30 ng/ml (Límite bajo)	4	2	4	10
			30-60 ng/ml (Normal)	3	2	0	5
		Total		25	9	10	44
Total	GG	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	10	3	4	17
			20-30 ng/ml (Límite bajo)	4	6	2	12
			30-60 ng/ml (Normal)	1	3	3	7
		Total		15	12	9	36
	AA	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	6	2	0	8
			20-30 ng/ml (Límite bajo)	0	2	0	2
			30-60 ng/ml (Normal)	0	0	1	1
		Total		6	4	1	11
	AG	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	17	5	3	25
			20-30 ng/ml (Límite bajo)	3	1	4	8
			30-60 ng/ml (Normal)	2	2	0	4
		Total		22	8	7	37
	Total	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	33	10	7	50
			20-30 ng/ml (Límite bajo)	7	9	6	22
			30-60 ng/ml (Normal)	3	5	4	12
		Total		43	24	17	84

^a: Se obvia en la tabla la descripción de los niveles de vitamina en rangos de 60-100 ng/ml (Límite alto), 100-150 ng/ml (Exceso) y > 150 ng/ml (Intoxicación), ya que en todo caso los valores son cero.

BCC, carcinoma basocelular; SCC, carcinoma espinocelular; Vit D, niveles de vitamina D; ng, nanogramos; ml, mililitros.

VII. RESULTADOS

Al relacionar los niveles de vitamina D y cada uno de los polimorfismos (*BsmI* y *ApaI*) de forma aislada con la presencia o no de tumor y el tipo (Tabla 16 y Tabla 17), los tamaños muestrales se amplían ligeramente, pero no observamos al inspeccionar los datos antes de realizar cualquier prueba de hipótesis ninguno que pudiera ser representativo al hacer un análisis estadístico para valorar significación.

Tabla 16. Tabla cruzada: Niveles de Vitamina D * Tipo de tumor * *BsmI*

<i>BsmI</i>	Vit D ^a		Tipo de tumor			Total
			Controles	BCC	SCC	
GG	Vit D ^a	<20 ng/ml (Déficit)	10	3	4	17
		20-30 ng/ml (Límite bajo)	4	6	2	12
		30-60 ng/ml (Normal)	1	3	3	7
	Total	15	12	9	36	
AA	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	6	2	0	8
		20-30 ng/ml (Límite bajo)	0	2	0	2
		30-60 ng/ml (Normal)	0	0	1	1
	Total	6	4	1	11	
AG	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	17	5	3	25
		20-30 ng/ml (Límite bajo)	3	1	4	8
		30-60 ng/ml (Normal)	2	2	0	4
	Total	22	8	7	37	
Total	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	33	10	7	50
		20-30 ng/ml (Límite bajo)	7	9	6	22
		30-60 ng/ml (Normal)	3	5	4	12
	Total	43	24	17	84	

^a: Se omite en la tabla la descripción de los niveles de vitamina en rangos de 60-100 ng/ml (Límite alto), 100-150 ng/ml (Exceso) y > 150 ng/ml (Intoxicación), ya que en todo caso los valores son cero.

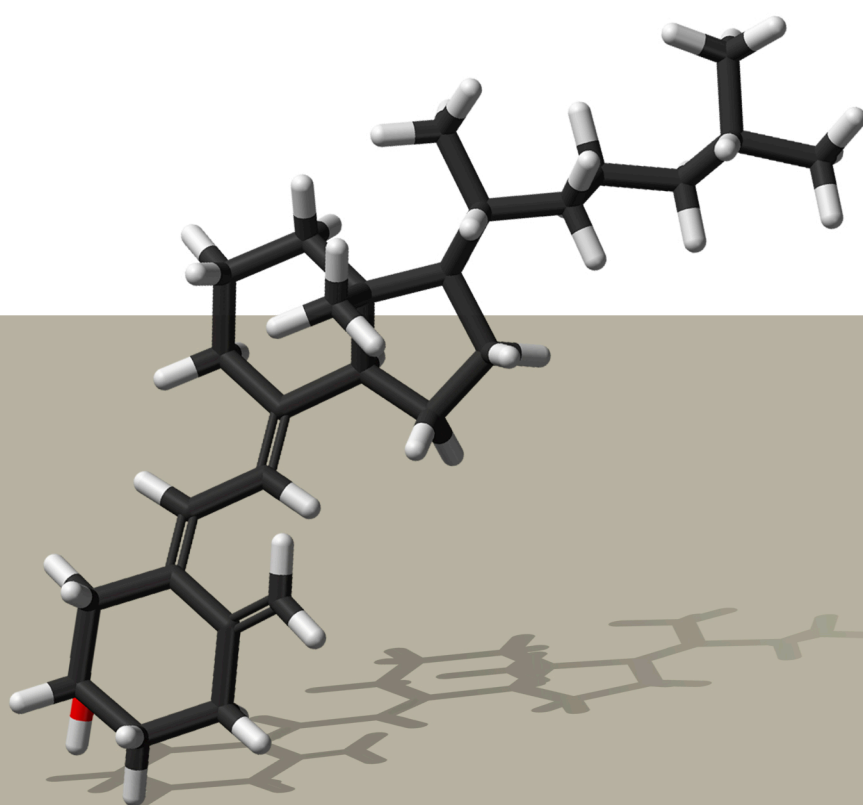
BCC, carcinoma basocelular; SCC, carcinoma espinocelular, Vit D, niveles de vitamina D; ng, nanogramos; ml, mililitros.

Tabla 17. Tabla cruzada: Niveles de Vitamina D * Tipo de tumor * *Apal*

<i>Apal</i>			Tipo de tumor			Total
			Controles	BCC	SCC	
TT	Vit D^a	<20 ng/ml (Déficit)	7	2	1	10
		20-30 ng/ml (Límite bajo)	2	2	1	5
		30-60 ng/ml (Normal)	0	1	2	3
	Total		9	5	4	18
GG	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	8	3	0	11
		20-30 ng/ml (Límite bajo)	1	5	1	7
		30-60 ng/ml (Normal)	0	2	2	4
	Total		9	10	3	22
GT	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	18	5	6	29
		20-30 ng/ml (Límite bajo)	4	2	4	10
		30-60 ng/ml (Normal)	3	2	0	5
	Total		25	9	10	44
Total	Vit D	<20 ng/ml (Déficit)	33	10	7	50
		20-30 ng/ml (Límite bajo)	7	9	6	22
		30-60 ng/ml (Normal)	3	5	4	12
	Total		43	24	17	84

^a: Se obvia en la tabla la descripción de los niveles de vitamina en rangos de 60-100 ng/ml (Límite alto), 100-150 ng/ml (Exceso) y > 150 ng/ml (Intoxicación), ya que en todo caso los valores son cero.

BCC, carcinoma basocelular; SCC, carcinoma espinocelular, Vit D, niveles de vitamina D; ng, nanogramos; ml, mililitros.



Capítulo VIII

DISCUSIÓN

No tenemos constancia de la existencia de datos en la literatura de otros estudios que hayan incluido a población española para evaluar la posible asociación entre polimorfismos del VDR y cáncer de piel no melanoma.

8.1 Edad y género y su relación con el cáncer de piel no melanoma.

Parece que existe consistencia en los estudios al evidenciar que el cáncer de piel no melanoma está relacionado con la edad (Garcovich et al., 2017; Joseph, Mark, & Mueller, 2001; Pascual, Belinchon, Ramos, Blanes, & Betlloch, 2004) y el sexo (Oberyszyn, 2008; Scrivener, Grosshans, & Cribier, 2002) y, de hecho, nuestros resultados ratifican los de la literatura existente.

El sexo masculino estaba asociado de forma significativa con un aumento del riesgo de carcinoma basocelular (OR: 4,38; IC 95%: 1,93-9,9).

También se observó que tener 70 años o menos era un factor protector tanto para carcinoma basocelular como para carcinoma espinocelular (OR: 0,12; IC 95%: 0,05-0,28 para carcinoma basocelular y OR: 0,07; IC 95%: 0,02-0,24 para carcinoma espinocelular).

Al estratificar casos y controles según el tipo de tumor, la edad y el género, se objetivó que el género mujer y la edad de 70 años o menor constituía un factor protector de carcinoma basocelular (OR: 0,115; IC 95%: 0,036-0,371).

8.2 Polimorfismos del gen del VDR y cáncer de piel no melanoma.

No solo hemos corroborado datos ya conocidos en estudios previos, sino que también hemos encontrado resultados nuevos e interesantes en relación con los polimorfismos del VDR y el cáncer de piel no melanoma: No se observaron efectos estadísticamente significativos cuando el *BsmI* o *Apal* se estudiaron individualmente, pero sí se obtuvieron resultados estadísticamente significativos y muy interesantes cuando se ajustaba por los estratos edad y sexo. Por si fuera poco, estos resultados son en ocasiones contradictorios con los pocos estudios similares publicados.

Aunque no tenemos constancia de la existencia de ningún artículo similar al nuestro realizado en población española, sí se ha estudiado la asociación entre los genotipos del gen del VDR *BsmI* y *Apal* y el cáncer de piel no melanoma en otras poblaciones (Burns et al., 2017; Carless et al., 2008; Han et al., 2007; Kostner et al., 2012; Lesiak et al., 2011; Von Schuckmann et al., 2016).

Se ha diseñado una tabla comparativa entre estos estudios y el nuestro para ayudar a visualizar las comparaciones que a continuación se describen (Tabla 18).

En nuestro estudio observacional prospectivo no se encontraron efectos estadísticamente significativos entre los distintos genotipos de los polimorfismos *BsmI* o *Apal* y el riesgo de cáncer de piel.

Tabla 18. Comparativa de resultados: Polimorfismos del gen del VDR y cáncer de piel no melanoma

Polimorfismo del VDR	Referencia bibliográfica	Resultados de la bibliografía	Resultados de nuestro estudio
<i>BsmI</i>	(Han et al., 2007)	El genotipo <i>BB</i> está asociado con un aumento del riesgo de SCC (OR:1.51; IC 95%: 1-2.28). Además, se observa que este genotipo si se une al hecho de tomar elevadas cantidades de suplementos de vitamina D aumenta aún más el riesgo de SCC (OR:2.38; IC 95% 1.22-4.62).	No significativo. Al ajustar por género y tipo de cáncer de piel: Los polimorfismos <i>GG</i> y <i>AG</i> de <i>BsmI</i> incrementaban el riesgo de BCC en hombres. Al ajustar por edad y tipo de cáncer de piel: <ul style="list-style-type: none"> ▫ Todos los polimorfismos de <i>BsmI</i> parecen ser protectores frente al BCC en sujetos de 70 años o menos. ▫ El polimorfismo <i>AG</i> de <i>BsmI</i> es protector contra el SCC en pacientes de 70 años o menos.
	(Lesiak et al., 2011)	No significativo	
	(Von Schuckmann, Law, Montgomery, Green, & JC, 2016)	No significativo	
	(Burns et al., 2017)	Los participantes con polimorfismos de <i>BsmI</i> tienen el doble de riesgo de padecer cáncer de piel no melanoma en comparación con los pacientes sin mutaciones (OR: 2.04; IC 95%: 1.02-4.08; P=0.045).	
(Carless et al., 2008)	Los sujetos con piel clara y genotipos homocigotos (<i>AA/aa</i>) tienen ocho veces más riesgo de padecer queratosis actínicas, mientras que el genotipo <i>Aa</i> incrementa el riesgo en cinco veces.		
(Lesiak et al., 2011)	El genotipo <i>Aa</i> aumenta el riesgo de BCC.		
<i>Apal</i>	(Kostner et al., 2012)	<ul style="list-style-type: none"> · El genotipo <i>AaTtBb</i> estaba asociado con un riesgo aumentado de BCC. · El genotipo <i>aaTTBB</i> solo se encontró en los controles (Hipótesis: Genotipo protector frente al cáncer de piel no melanoma). · El genotipo <i>aaTTbb</i> estaba asociado con el cáncer de piel: mayor frecuencia en BCC (21%) y SCC (17%) que en controles (8%). · No encuentran diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la relación entre polimorfismos, tumor y área fotoexpuesta. · Tampoco hay variaciones en cuanto a la edad (<60 años vs > 60 años). 	No significativo. Al ajustar por género y tipo de cáncer de piel: Los tres polimorfismos aumentan el riesgo de BCC en hombres, pero en distinta "cuantía". Al ajustar por edad y tipo de cáncer de piel: <ul style="list-style-type: none"> ▫ <i>GG</i> y <i>TT</i> son protectores contra el BCC en pacientes de 70 años o menos. ▫ El polimorfismo <i>GT</i> es protector contra el SCC en pacientes de 70 años o menos.
	(Von Schuckmann et al., 2016)	Los genotipos <i>GG+GT</i> estaban asociados a una disminución del riesgo de BCC cuando se comparaba con el genotipo <i>TT</i> (OR: 0.67; IC: 0.46-0.96; P=0,029). No significativo en los modelos ajustados y tras corrección de comparaciones múltiples.	
	(Burns et al., 2017)	Los individuos con genotipo dominante <i>A</i> tenían aproximadamente la mitad de riesgo de desarrollar cáncer de piel no melanoma (OR: 0.45; IC 95%: 0.25-0.84). No significativo al ajustar por edad y sexo.	
		BCC, carcinoma basocelular; SCC, carcinoma espinocelular. Para aclaraciones en cuanto a la nomenclatura de los polimorfismos, remitirse a la Tabla 3.	

8.2.1. *BsmI*

Igual que Lesiak *et al.* (Lesiak et al., 2011) y Von Schuckmann *et al.* (Von Schuckmann et al., 2016), nuestros resultados no mostraron asociaciones estadísticamente significativas entre los genotipos del polimorfismo *BsmI* y el riesgo de este tipo de cáncer.

En 2007, Han *et al.* (Han et al., 2007) observaron que el genotipo *BB*²² de *BsmI* estaba asociado de forma significativa con un aumento de riesgo de carcinoma espinocelular (OR: 1,51; IC 95%: 1,00-2,28), pero no con el riesgo de carcinoma basocelular. Además, este genotipo unido al hecho de tomar elevadas cantidades de suplementos de vitamina D en la dieta aumenta aún más el riesgo de carcinoma espinocelular. Nuestro estudio sin embargo no corrobora sus hallazgos al no obtener resultados significativos, pero además al ajustar por género, los polimorfismos *GG* y *AG* lo que incrementan es el riesgo de carcinoma basocelular en hombres (OR: 7,012; IC 95%: 2,350-20,921 y OR: 4,593; IC 95%: 1,601-13,177, respectivamente).

También observaron una interacción entre los polimorfismos de *BsmI* y el riesgo de carcinoma espinocelular entre mujeres con alta susceptibilidad constitucional, como aquellas con pelo claro, color de piel clara, tendencia a quemaduras y muchos lunares (*BB* versus *bb* OR: 1,85; IC 95%: 1,12-3,06; el *p*-valor para esta tendencia en las tres categorías de genotipos -*BB*, *Bb*, and *bb*-, fue

²² Para mejor comprensión en cuanto a la nomenclatura de los distintos polimorfismos, remítase a la Tabla 3 y a su texto asociado en el apartado “6.4. Selección de polimorfismos y genotipado”.

de 0,03). En nuestro estudio no se consideran estas variables fenotípicas y factores ambientales.

Burns et al. (Burns et al., 2017) también encontraron asociación entre los polimorfismos de *BsmI* y el riesgo de padecer cáncer de piel no melanoma en comparación con los controles con un doble de riesgo para aquellos pacientes con la mutación. Se trata de unos resultados totalmente distintos al nuestro por dos motivos: 1. Porque nosotros no obtuvimos resultados estadísticamente significativos; 2. Porque al ajustar por género son los pacientes portadores del alelo salvaje los que tienen, según nuestro trabajo, mayor riesgo de carcinoma basocelular, con aproximadamente siete veces más riesgo el genotipo *GG* y cuatro veces más riesgo el genotipo *AG*. No obtenemos resultado significativo para el genotipo *AA*.

8.2.2. *Apal*

Si nos ajustamos al concepto actual de afirmar que las queratosis actínicas no solo son precursoras del carcinoma espinocelular y biomarcador del cáncer de piel, sino que son auténticos carcinomas espinocelulares *in situ*, hay que mencionar el artículo que Carless *et al.* (Carless et al., 2008) llevaron a cabo para evaluar la asociación entre las queratosis actínicas y los polimorfismos del gen del VDR.

Ellos, como nosotros, no observaron asociación entre el polimorfismo *Apal* y la prevalencia de estas lesiones cuando los genotipos se analizaban individualmente. Sí encontraron asociación significativa al analizar los polimorfismos en relación con otras variables, como el color de piel y la propensión a las quemaduras o bronceado. Las personas de piel clara con los genotipos *AA/aa* de *Apal* tenían ocho veces más probabilidad de afectarse por las

queratosis actínicas en comparación con un aumento de cinco veces de probabilidad en individuos con el genotipo *Aa* y piel clara. Nuestro estudio no tiene en cuenta estas variables fenotípicas y de exposición a factores de riesgo ambientales. En nuestro trabajo sí se encontró una relación entre el carcinoma espinocelular y el genotipo *GT* de *Apal* al ajustar por edad, pero contrariamente al efecto de este genotipo (*Aa*) en este estudio, objetivamos que *GT* es protector contra este tipo de cáncer de piel en pacientes de 70 años o menos.

Más tarde, en 2011, Lesiak *et al.* (Lesiak et al., 2011) realizaron un estudio en población polaca con la intención de buscar la posible asociación entre carcinoma basocelular y los polimorfismos del gen del VDR. Ellos encontraron que aquellos individuos con el genotipo *Aa* tenían aumentado el riesgo de carcinoma basocelular. Esta afirmación coincide con nuestro trabajo, pero nosotros lo hacemos extensivo a los tres polimorfismos de *Apal*, ya que todos aumentan el riesgo de carcinoma basocelular en hombres: el polimorfismo *TT* parece aumentar el riesgo hasta 3 veces, *GG* hasta 12 veces y *GT* hasta 7 veces. Concretamente en nuestro estudio el polimorfismo *GT* (*Aa* en Lesiak *et al.*) no es el que más aumenta el riesgo.

Köstner *et al.* (Kostner et al., 2012) realizaron un estudio en población alemana para evaluar la posible asociación entre *Apal*, *BglI* y *TaqI* y ambos tipos de cáncer de piel no melanoma, el carcinoma basocelular y el carcinoma espinocelular. Aunque no significativa, existía una tendencia hacia una mayor distribución de los genotipos homocigóticos de estos tres polimorfismos en los controles sanos que en los pacientes aquejados de carcinoma basocelular. Tampoco se encontraron diferencias entre las frecuencias de los genotipos entre controles y casos afectos de carcinoma espinocelular. Cuando se estudiaron los genotipos combinados - *Apal/TaqI/BglI*- se encontró asociación entre el genotipo combinado *AaTtBb* y el riesgo de carcinoma basocelular. También encontraron

que el genotipo *aaTTbb* era más frecuente en pacientes afectados de carcinoma basocelular que en aquellos con carcinoma espinocelular. Se hace imposible comparar los resultados de este estudio con el nuestro, ya que analiza sobre todo genotipos combinados de otros polimorfismos que nosotros no estudiamos, aunque entre ellos se incluya *Apal*. Ellos no encontraron diferencias significativas en cuanto a la edad de los pacientes (menores de 60 años o 60 años o más). En nuestro caso, aunque no directamente comparable, sí observamos resultados significativos al ajustar por edad: *GG* y *TT* son protectores contra el carcinoma basocelular en pacientes de 70 años o menos y *GT* es protector contra el carcinoma espinocelular en pacientes de este mismo grupo de edad.

VonSchuckmann *et al.* (Von Schuckmann et al., 2016) encontraron que los genotipos *GG + GT* de *Apal* estaban asociados con una disminución de la ocurrencia de carcinoma basocelular cuando se comparaba con el genotipo *TT* (OR: 0,67; IC 95%: 0,46-0,96; P=0,029). No obstante, esta asociación encontrada no seguía siendo significativa en el modelo ajustado y después de corrección de comparaciones múltiples. Realmente los resultados difieren completamente de los que nosotros obtuvimos en nuestro trabajo.

Un último estudio realizado en 2017 (Burns et al., 2017) también estudia los polimorfismos de *Apal* para pacientes con cáncer de piel no melanoma en comparación con controles. Observaron que el genotipo dominante *A* tenía aproximadamente la mitad de riesgo de desarrollar un cáncer de piel no melanoma, pero perdían la significación al ajustar por edad y sexo. Justo lo contrario a lo que ocurre en nuestro estudio. Además, según nuestro trabajo, al ajustar por género, los tres polimorfismos aumentan el riesgo de cáncer, no lo disminuyen. Al ajustar por edad sí observamos polimorfismos protectores (Tabla 18).

Teniendo en cuenta el carácter poligénico y ambiental del cáncer de piel, los polimorfismos *BsmI* y *ApaI* no parecen presentar efecto directo sobre este tipo de cáncer, sino que su contribución podría estar mediada por factores externos, como son aquellos que modifican los niveles de vitamina D sérica.

Es objetivable que los estudios son muy heterogéneos y es por ello resulta muy difícil compararlos y, por tanto, sacar conclusiones definitivas. Evidentemente se necesita más investigación al respecto para dilucidar la cuestión, pero en mi opinión no debe dejarse a un lado esta línea de investigación, ya que podría suponer un cambio radical en la prevención, tratamiento y pronóstico de este tipo de lesiones. De hecho, incluso estudios muy recientes siguen tomando esta anticuada a la vez que innovadora línea de investigación, ya que se están encontrando resultados prometedores (Lin et al., 2017).

8.3 Genotipos combinados *BsmI/ApaI* en pacientes con cáncer de piel no melanoma y controles.

Si bien hay una tendencia hacia determinados polimorfismos combinados en nuestra población (*AGGT*, *GGGG* y *AATT*), no hay una asociación entre ningún genotipo combinado y el riesgo de carcinoma basocelular o espinocelular o controles.

Probablemente no encontramos asociación entre los genotipos combinados y el cáncer de piel debido al bajo número relativo de casos.

Köstner *et al.* (Kostner et al., 2012) hacen un estudio extenso de genotipos combinados en su estudio, pero de los polimorfismos *ApaI*, *BglI* y *TaqI*, distintos a los polimorfismos analizados en nuestro estudio (*BsmI* y *ApaI*), con lo que no es posible compararlos y sacar conclusiones.

En cualquier caso, el análisis de los haplotipos de los genotipos combinados de los polimorfismos *BsmI* y *ApaI* y su interacción con factores externos (como los niveles séricos de vitamina D) podría tener efecto diferencial sobre el cáncer de piel no melanoma, más allá del análisis aislado de sus combinaciones alélicas.

8.4 Niveles séricos de vitamina D y cáncer de piel no melanoma.

Para complementar nuestro estudio inicial sobre polimorfismos del gen del VDR y cáncer de piel no melanoma, se decidió estudiar los niveles plasmáticos de vitamina D.

Queremos hacer hincapié en que, tal y como se deriva de los estudios realizados para el cáncer de piel o incluso para otro tipo de tumores o patologías, los polimorfismos individuales del VDR no se pueden considerar factores pronósticos independientes (Denzer et al., 2011). Aunque no se valoren los niveles plasmáticos de vitamina D en su forma de 25(OH)D₃, que sería la variable con menos sesgos, al menos deberían valorarse interacciones que influyan en el estatus de vitamina D, como la dieta o los suplementos dietéticos, la exposición solar (radiación UV) o el índice de masa corporal²³. Es por ello que para la siguiente

²³ La medición hasta ahora aceptada es la medición de 25(OH)D₃, pero se encuentran noticias online (no publicaciones científicas hasta el momento) en las que personalidades médicas afirman que "...determinar solo los valores de vitamina D₃ puede conducir a los facultativos a tomar decisiones equivocadas, ya que si solo se diagnostica y mide los niveles bajos de 25(OH)D₃ da una información errónea...", "...esto suele ocurrir en el caso de las personas que son vegetarianas por ejemplo, que suelen tener unos niveles bajos de D₃ y, sin embargo, niveles altos de D₂. Y, lo mismo puede ocurrir en personas que sufran algún tipo de patología como en los enfermos de cirrosis biliar, problemas intestinales o en casos de enfermedad celiaca..."(Organización-Médica-Colegial-de-España, 2009).

parte de nuestro estudio sí tomamos en cuenta la mejor variable en cuanto a sesgos se refiere, los niveles plasmáticos de 25(OH)D₃, para intentar confirmar las relaciones entre estos polimorfismos y el riesgo de carcinoma basocelular o espinocelular en nuestra población.

Ya expusimos en apartados anteriores que existen trabajos publicados que intentan relacionar los niveles de vitamina D y el cáncer de piel, con resultados inconsistentes.

En contraposición a nuestra hipótesis número 2 (“Los niveles de vitamina D séricos son normales o elevados, no deficitarios, en nuestros pacientes debido a la influencia estacional de la extracción muestral”), llama la atención en nuestro estudio que, a pesar de vivir en un país de alta radiación solar (Latitud 40°), todos los sujetos analizados tuvieron unos niveles de vitamina D normales o bajos. Ningún sujeto poseía niveles elevados. El mayor porcentaje de sujetos (59,5%) estaba llamativamente en niveles de déficit de vitamina D, a pesar de haber sido estudiados en los cuatro meses de mayor radiación solar en nuestra región, Extremadura (AEMET) (Figura 19).

Todas las muestras se obtuvieron entre mayo y agosto de 2016 y 2017.

Efectivamente no esperábamos observar más pacientes en déficit de vitamina D en los tres subgrupos, pero como se desprende de nuestra hipótesis de trabajo número 1 (“Los niveles de vitamina D séricas están relacionados con el cáncer de piel no melanoma. Concretamente, dado el efecto protector de la vitamina D sobre el cáncer, los niveles más altos de vitamina D sérica se corresponderán con los pacientes control, mientras que los niveles más bajos se corresponderán con los pacientes con cáncer”), nos resulta sobre todo llamativo que haya mayor número de pacientes en déficit que no presente tumor que incluso

la suma de los pacientes en déficit con cualquiera de los dos tipos de tumor. (Tabla 12). De hecho, existe claramente una diferencia significativa entre los niveles de vitamina D y el hecho de tener o no tumor: los menores niveles de vitamina D están relacionados con una menor incidencia de cáncer de piel no melanoma en nuestra muestra.

Cabría esperar encontrar, según la información obtenida de la bibliografía recogida en este trabajo, estudios que avalen la protección de la vitamina D en el cáncer de piel, es decir, a mayores niveles de vitamina D, menor cáncer de piel no melanoma. Sin embargo, encontramos durante nuestra búsqueda pocos artículos que centren su investigación en niveles séricos de vitamina D y cáncer de piel no melanoma y además con resultados muy contradictorios:

Por ejemplo, en un estudio caso-control realizado en varones mayores se encontró una incidencia menor de cáncer de piel no melanoma en aquellos sujetos con mayores concentraciones de previtamina D comparado con los sujetos con menores concentraciones (Tang et al., 2012). Lesiak et al. (Lesiak et al., 2011) también encontraron que la 25(OH)D₃ sérica media era significativamente mayor en el grupo control que en los casos de carcinoma basocelular.

Pero, igual que los resultados de nuestro trabajo, también encontramos observaciones totalmente contrapuestas al anterior. Por ejemplo, se ha publicado recientemente un estudio en el que se concluye que los pacientes con cáncer de piel no melanoma tenían en el momento del diagnóstico niveles séricos de 25(OH)D₃ mayores que los controles, aunque incluso teniendo esos mayores niveles en comparación con los controles, seguían teniendo teóricamente déficit de vitamina D (Soares et al., 2018). Algo similar publicaron Eide *et al* (Eide et al., 2011): encontraron una relación entre unos niveles séricos de 25(OH)D₃ mayores

(no aumentados) y el riesgo de desarrollar cáncer de piel no melanoma. Vojdeman *et al.* (Vojdeman *et al.*, 2019) también han encontrado niveles más altos de vitamina D en relación con una mayor incidencia de cáncer de piel melanoma y no melanoma.

8.5 Niveles séricos de vitamina D, VDR y cáncer de piel no melanoma.

Tras extensas búsquedas bibliográficas en la base de datos PubMed, solo encontramos dos estudios de investigación que relacionen polimorfismos del VDR, cáncer de piel no melanoma y niveles séricos de vitamina D en conjunto.

Han *et al.* (Han *et al.*, 2007) observaron en 2007 una interacción entre los polimorfismos de *BsmI* y la ingesta total de vitamina D con el riesgo de carcinoma espinocelular. Se sugirió que el genotipo *BB* y la elevada ingesta de vitamina D tenían el mayor riesgo de carcinoma espinocelular.

Al relacionar el estatus de vitamina D con los polimorfismos que estudiaban, Lesiak *et al.* (Lesiak *et al.*, 2011), encontraron asociación entre los polimorfismos de *TaqI*, los niveles séricos de vitamina D y el carcinoma basocelular. Sin embargo, no encontraron correlación entre otros polimorfismos del VDR y los niveles séricos de 25(OH)D₃.

Por nuestra parte, al intentar relacionar en nuestro estudio los niveles séricos de vitamina D y polimorfismos de *Apal* y *BsmI* combinados con los distintos sujetos (casos y controles), obtuvimos una tabla muy heterogénea con muy escasos tamaños muestrales, incluso con muchas celdas dispersas con 0, 1 o 2 pacientes (Tabla 15), por lo que solo con la inspección de los datos antes de realizar

cualquier prueba de hipótesis ya sabemos que muy probablemente los resultados que obtengamos no van a ser consistentes.

Al relacionar los niveles de vitamina D con cada uno de los polimorfismos por separado con la presencia o no de tumor y el tipo (Tabla 16 y Tabla 17), los tamaños muestrales se amplían ligeramente, pero de todos modos no se observa ningún dato que sobresalga respecto al resto o que pudiera ser representativo al realizar cualquier prueba de hipótesis.

Si inspeccionamos las tablas 13 y 14, para los polimorfismos *BsmI* y *Apal* respecto de los niveles de vitamina D tampoco hay ningún resultado que sobresalga respecto al resto. (Tabla 13 y Tabla 14).

Uno de nuestros objetivos era determinar el efecto diferencial que presentan los polimorfismos del gen del VDR *BsmI* y *Apal* sobre el cáncer de piel no melanoma, aislando el efecto del nivel sérico de vitamina D, pero tras el estudio descriptivo no continuamos la evaluación porque observamos un escaso tamaño muestral al hacer subgrupos, de tal forma que los resultados iban a ser inconsistentes o incluso sesgados de obtener alguna significación debido al elevado número de comparaciones estadísticas y escaso tamaño muestral.

Pretendemos en los próximos meses poder ampliar el tamaño muestral y analizar la vitamina D para todos los sujetos que se incluyeron inicialmente en el estudio e incluso aumentar el tamaño muestral general para corroborar los resultados obtenidos en la primera parte de nuestro trabajo.

Por ahora no podemos proponer, en función de nuestros resultados, ninguna otra medida terapéutica nueva. En cuanto a prevención, en el momento actual, de forma quizá utópica debido a los limitados recursos en algunos centros, se podría proponer derivar con mayor premura desde atención primaria a atención especializada para tratamiento a los pacientes con lesiones sospechosas que

cumplieran determinados criterios: ser varón con polimorfismos *GG* o *AG* de *BsmI*, ya que aumentan el riesgo de padecer carcinoma basocelular por siete y cuatro veces respectivamente; también la prioridad de derivación cambiaría según el polimorfismo de *Apal* que presente. En el sentido contrario, derivaríamos con menor premura a una paciente mujer de 70 años o menos porque tienen menos riesgos de padecer carcinoma basocelular. En cualquier caso, la clínica del paciente es decisiva, siendo el polimorfismo un factor auxiliar.

Con intención de aplicar nuestra investigación a la clínica, a modo de ejemplo, sirva imaginar que estamos en una consulta de atención primaria y acude un paciente varón con una lesión cutánea sospechosa de ser un carcinoma basocelular, pero el facultativo tiene dudas respecto al diagnóstico. Podría entonces analizar los polimorfismos de VDR *BsmI* y *Apal* y si el paciente tuviera por ejemplo un polimorfismo *GG* de *BsmI* (que aumenta el riesgo hasta en siete veces) y *GG* de *Apal* (que aumenta el riesgo hasta en 12 veces), se reafirmaría en su sospecha y derivaría con prioridad preferente para el tratamiento de la lesión por parte de atención especializada.

8.6 Fortalezas

No tenemos constancia de la existencia de otro estudio que haya incluido a población española para evaluar la posible asociación entre polimorfismos del gen del VDR, niveles séricos de vitamina D y cáncer de piel no melanoma.

Aunque es un tema de elevado interés general con una posible implicación clínica muy relevante y con abundante bibliografía en distintos ámbitos sobre el tema “vitamina D”, se trata de un estudio novedoso, ya que es difícil encontrar en

la bibliografía estudios que concretamente relacionen VDR, cáncer de piel no melanoma y vitamina D, como el nuestro.

Además, en nuestra opinión, el diseño y ejecución son correctos: se trata de un estudio con buena recolección de datos y muestras, doble ciego (tanto en laboratorio de estudio histopatológico como en STAB), se ha analizado 25(OH)D₃ en los meses de mayor radiación solar, todos los tumores fueron confirmados histológicamente, los polimorfismos fueron analizados por un laboratorio con alta validez y repetibilidad (de hecho, las muestras de sangre se analizaron por duplicado y se corroboró la correlación entre ellas), etc.

Creemos necesario seguir la línea de investigación en curso, ya que podría suponer un cambio radical en la prevención, tratamiento precoz y pronóstico de este tipo de lesiones. De hecho, estudios muy recientes siguen tomando esta innovadora línea de investigación, ya que se están encontrando resultados prometedores.

8.7 Limitaciones

Nuestro estudio sugiere que los polimorfismos del VDR pueden tener un papel en el desarrollo del cáncer de piel no melanoma, pero es necesario explorar mejor nuestros hallazgos y sus implicaciones clínicas.

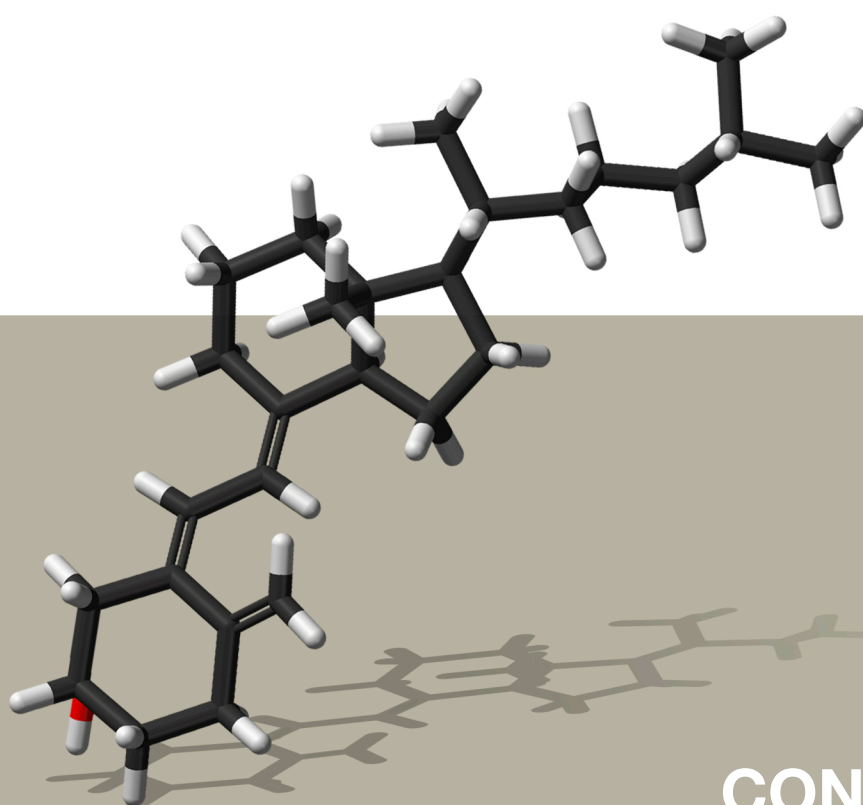
Quizá la mayor limitación que encontramos en nuestro estudio es el pequeño tamaño muestral que conseguimos para hacer los análisis que planteábamos inicialmente. No esperábamos obtener datos tan dispares al hacer subgrupos, de forma que el tamaño nos ha limitado.

Una dificultad añadida ha sido encontrar poca bibliografía con la que poder comparar nuestro trabajo, ya que esto nos ayudaría a sentar las bases para entender el problema que se está investigando. Al existir estas brechas en la literatura, con resultados tan dispares, no podemos definir nuestros resultados corroborando o negando los hallazgos existentes en la literatura actual.

Finalmente, una limitación importante de nuestro trabajo es el hecho de no poder controlar las variables intervinientes en el desarrollo del cáncer de piel no melanoma en el futuro al ser esta una patología de carácter poligénico influida por factores ambientales. No podemos asegurar que los controles no van a desarrollar un cáncer de piel no melanoma en el futuro. Una propuesta futura sería hacer un seguimiento a muy largo plazo de cada uno de los pacientes.

Ya estamos trabajando para corregir las limitaciones que hemos encontrado en este trabajo, de forma que principalmente vamos a aumentar el tamaño muestral. En la medida de lo posible se hará un seguimiento de los pacientes para valorarlos de forma prospectiva. Además, tendremos en cuenta otros factores de riesgo, como el hecho de ser o no fumador o la exposición a radiación UV solar o en centros de bronceado y también tendremos en cuenta otros posibles factores de confusión además de la edad y el sexo. Por ejemplo, entrevistaremos a los sujetos sobre el padecimiento de patología renal, alteraciones en el metabolismo de la vitamina D, obesidad, dieta suplementada o no, etc.

Entendemos que los resultados no son extrapolables a otras poblaciones y que no pueden ser representativos de todas las diferentes formas del mismo fenómeno.

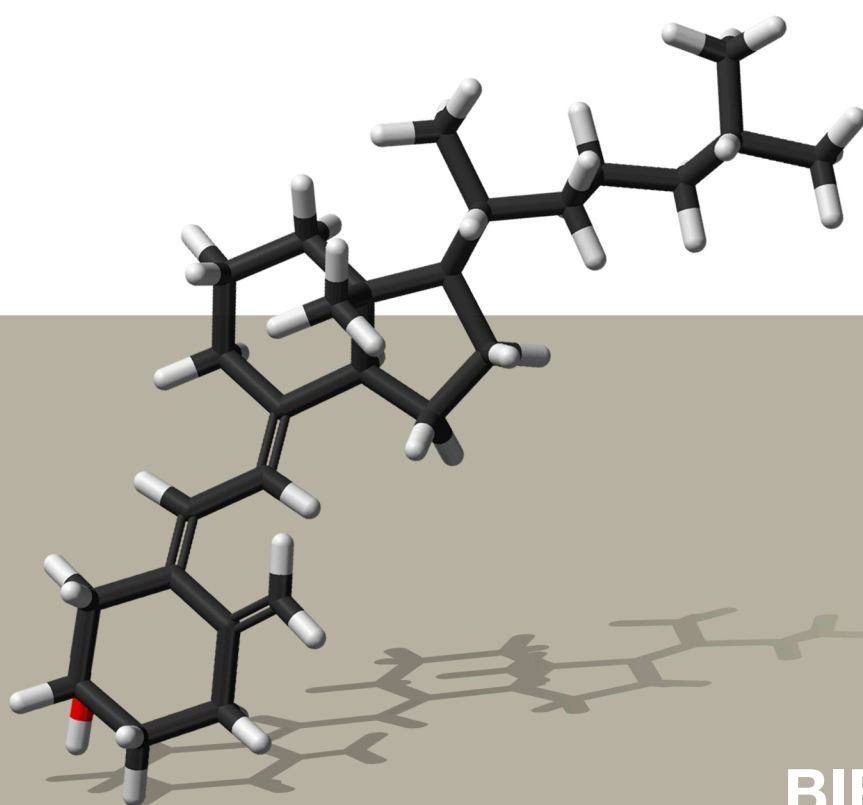


Capítulo IX

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos respecto a los objetivos generales e hipótesis de nuestra investigación nos permiten concluir que:

1. Teniendo en cuenta el carácter poligénico y ambiental del cáncer de piel, los polimorfismos *BsmI* y *Apal* del gen del VDR no presentan efectos directos sobre este tipo de cáncer, sino que su contribución parece estar mediada por factores externos, entre los que se encuentran aquellos que determinan los niveles séricos de vitamina D.
2. No se observa una relación significativa entre el cáncer de piel no melanoma (carcinoma basocelular o carcinoma espinocelular) y la presencia de los polimorfismos *BsmI* o *Apal* del gen del receptor de la vitamina D en la población extremeña estudiada. Sí encontramos efectos significativos al ajustar por edad, género y tipo de cáncer de piel.
3. Los niveles de vitamina D en nuestra muestra son normales o bajos en todo caso, independientemente de la influencia estacional. Los niveles más bajos de vitamina D podrían ser protectores del cáncer de piel no melanoma en nuestra población.
4. No hallamos ninguna interacción significativa entre los polimorfismos combinados de *Apal* y *BsmI* y el riesgo de cáncer de piel no melanoma.



Capítulo X

BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, S., Nieters, A., Linseisen, J., Slinger, T., Kropp, S., Mutschelknauss, E. J., . . . Chang-Claude, J. (2008). Vitamin D receptor gene polymorphisms and haplotypes and postmenopausal breast cancer risk. *Breast Cancer Res*, *10*(2), R31. doi: 10.1186/bcr1994
- abbasaJohn, E. M., Schwartz, G. G., Koo, J., Wang, W., & Ingles, S. A. (2007). Sun exposure, vitamin D receptor gene polymorphisms, and breast cancer risk in a multiethnic population. *Am J Epidemiol*, *166*(12), 1409-1419. doi: 10.1093/aje/kwm259
- Abe, E., Miyaura, C., Sakagami, H., Takeda, M., Konno, K., Yamazaki, T., . . . Suda, T. (1981). Differentiation of mouse myeloid leukemia cells induced by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *78*(8), 4990-4994.
- AEMET (Producer). (2020). Atlas de Radiación Solar en España utilizando datos del SAF de Clima de EUMETSAT. Retrieved from https://www.aemet.es/documentos/es/serviciosclimaticos/datosclimatologicos/atlas_radiacion_solar/atlas_de_radiacion_24042012.pdf
- Aerssens, J., Dequeker, J., Peeters, J., Breemans, S., & Boonen, S. (1998). Lack of association between osteoarthritis of the hip and gene polymorphisms of VDR, COL1A1, and COL2A1 in postmenopausal women. *Arthritis Rheum*, *41*(11), 1946-1950. doi: 10.1002/1529-0131(199811)41:11<1946::aid-art8>3.0.co;2-z
- Albert, D. M., Marcus, D. M., Gallo, J. P., & O'Brien, J. M. (1992). The antineoplastic effect of vitamin D in transgenic mice with retinoblastoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, *33*(8), 2354-2364.
- American-Cancer-Society. (2019). Cancer Facts & Figures for African Americans 2019-2021.
- American-Cancer-Society. (2020). Estadísticas importantes sobre los cánceres de piel de células basales y de células escamosas. Facts & Figures 2020.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Amir, E., Simmons, C. E., Freedman, O. C., Dranitsaris, G., Cole, D. E., Vieth, R., . . . Clemons, M. (2010). A phase 2 trial exploring the effects of high-dose (10,000 IU/day) vitamin D(3) in breast cancer patients with bone metastases. *Cancer*, *116*(2), 284-291. doi: 10.1002/cncr.24749
- Anderson, M. G., Nakane, M., Ruan, X., Kroeger, P. E., & Wu-Wong, J. R. (2006). Expression of VDR and CYP24A1 mRNA in human tumors. *Cancer Chemother Pharmacol*, *57*(2), 234-240. doi: 10.1007/s00280-005-0059-7
- Andersson, P., Varenhorst, E., & Soderkvist, P. (2006). Androgen receptor and vitamin D receptor gene polymorphisms and prostate cancer risk. *Eur J Cancer*, *42*(16), 2833-2837. doi: 10.1016/j.ejca.2006.06.030
- Angel, B., Santos, J. L., Carrasco, E., Albala, C., & Perez-Bravo, F. (2004). Vitamin D receptor polymorphism and susceptibility to type 1 diabetes in Chilean subjects: a case-parent study. *Eur J Epidemiol*, *19*(12), 1085-1087.
- Annweiler, C., Llewellyn, D. J., & Beauchet, O. (2013). Low serum vitamin D concentrations in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *J Alzheimers Dis*, *33*(3), 659-674. doi: 10.3233/jad-2012-121432
- Annweiler, C., Rastmanesh, R., Richard-Devantoy, S., & Beauchet, O. (2013). The role of vitamin D in depression: from a curious idea to a therapeutic option. *J Clin Psychiatry*, *74*(11), 1121-1122. doi: 10.4088/JCP.13ac08783
- Apperly, F. (1941). The relation of solar radiation to cancer mortality in North America. *Cancer Res.*, *1*, 191-195.
- Arai, H., Miyamoto, K., Taketani, Y., Yamamoto, H., Iemori, Y., Morita, K., . . . Takeda, E. (1997). 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*, *12*(6), 915-921. doi: 10.1359/jbmr.1997.12.6.915
- Arai, H., Miyamoto, K. I., Yoshida, M., Yamamoto, H., Taketani, Y., Morita, K., . . . Takeda, E. (2001). The polymorphism in the caudal-related homeodomain protein Cdx-2 binding element in the human vitamin D receptor gene. *J Bone Miner Res*, *16*(7), 1256-1264. doi: 10.1359/jbmr.2001.16.7.1256

- Arnson, Y., Amital, H., & Shoenfeld, Y. (2007). Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. *Ann Rheum Dis*, *66*(9), 1137-1142. doi: 10.1136/ard.2007.069831
- Asgari, M. M., Maruti, S. S., Kushi, L. H., & White, E. (2009). A cohort study of vitamin D intake and melanoma risk. *J Invest Dermatol*, *129*(7), 1675-1680. doi: 10.1038/jid.2008.451
- Asgari, M. M., Tang, J., Warton, M. E., Chren, M. M., Quesenberry, C. P., Jr., Bikle, D., . . . Friedman, G. D. (2010). Association of prediagnostic serum vitamin D levels with the development of basal cell carcinoma. *J Invest Dermatol*, *130*(5), 1438-1443. doi: 10.1038/jid.2009.402
- Asociación-Española-de-Dermatología-y-Venereología (Producer). (2018, Febrero 2020). España tiene un problema con el cáncer de piel. Retrieved from <https://aedv.es/espana-problema-cancer-piel/>
- Autier, P., & Gandini, S. (2007). Vitamin D supplementation and total mortality: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med*, *167*(16), 1730-1737. doi: 10.1001/archinte.167.16.1730
- Baker, A. R., McDonnell, D. P., Hughes, M., Crisp, T. M., Mangelsdorf, D. J., Haussler, M. R., . . . O'Malley, B. W. (1988). Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *85*(10), 3294-3298.
- Baldwin, C. T., Cupples, L. A., Joost, O., Demissie, S., Chaisson, C., McAlindon, T., . . . Felson, D. (2002). Absence of linkage or association for osteoarthritis with the vitamin D receptor/type II collagen locus: the Framingham Osteoarthritis Study. *J Rheumatol*, *29*(1), 161-165.
- Ban, Y., Ban, Y., Taniyama, M., & Katagiri, T. (2000). Vitamin D receptor initiation codon polymorphism in Japanese patients with Graves' disease. *Thyroid*, *10*(6), 475-480. doi: 10.1089/thy.2000.10.475
- Ban, Y., Taniyama, M., & Ban, Y. (2000). Vitamin D receptor gene polymorphism is associated with Graves' disease in the Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab*, *85*(12), 4639-4643. doi: 10.1210/jcem.85.12.7038

X. BIBLIOGRAFÍA

- Baran, D. T. (1994). Nongenomic actions of the steroid hormone 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D₃. *J Cell Biochem*, 56(3), 303-306. doi: 10.1002/jcb.240560305
- Baran, D. T., Sorensen, A. M., Shalhoub, V., Owen, T., Stein, G., & Lian, J. (1992). The rapid nongenomic actions of 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ modulate the hormone-induced increments in osteocalcin gene transcription in osteoblast-like cells. *J Cell Biochem*, 50(2), 124-129. doi: 10.1002/jcb.240500203
- Barreto, A. M., Schwartz, G. G., Woodruff, R., & Cramer, S. D. (2000). 25-Hydroxyvitamin D₃, the prohormone of 1,25-dihydroxyvitamin D₃, inhibits the proliferation of primary prostatic epithelial cells. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 9(3), 265-270.
- Barroga, E. F., Kadosawa, T., Okumura, M., & Fujinaga, T. (2000). Inhibitory effects of 22-oxa-calcitriol and all-trans retinoic acid on the growth of a canine osteosarcoma derived cell-line in vivo and its pulmonary metastasis in vivo. *Res Vet Sci*, 68(1), 79-87. doi: 10.1053/rvsc.1999.0360
- Barroso, E., Fernandez, L. P., Milne, R. L., Pita, G., Sendagorta, E., Floristan, U., . . . Ribas, G. (2008). Genetic analysis of the vitamin D receptor gene in two epithelial cancers: melanoma and breast cancer case-control studies. *BMC Cancer*, 8, 385. doi: 10.1186/1471-2407-8-385
- Beer, T. M. (2003). Development of weekly high-dose calcitriol based therapy for prostate cancer. *Urol Oncol*, 21(5), 399-405. doi: 10.1016/s1078-1439(03)00170-4
- Beno, D. W., Brady, L. M., Bissonnette, M., & Davis, B. H. (1995). Protein kinase C and mitogen-activated protein kinase are required for 1,25-dihydroxyvitamin D₃-stimulated Egr induction. *J Biol Chem*, 270(8), 3642-3647. doi: 10.1074/jbc.270.8.3642
- Bertone-Johnson, E. R., Chen, W. Y., Holick, M. F., Hollis, B. W., Colditz, G. A., Willett, W. C., & Hankinson, S. E. (2005). Plasma 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 14(8), 1991-1997. doi: 10.1158/1055-9965.epi-04-0722

- Bikle, D. D. (2011). The vitamin D receptor: a tumor suppressor in skin. *Discov Med*, 11(56), 7-17.
- Bikle, D. D. (2012). Vitamin D and the skin: Physiology and pathophysiology. *Rev Endocr Metab Disord*, 13(1), 3-19. doi: 10.1007/s11154-011-9194-0
- Bikle, D. D., Chang, S., Crumrine, D., Elalieh, H., Man, M. Q., Dardenne, O., . . . Elias, P. M. (2004). Mice lacking 25OHD 1alpha-hydroxylase demonstrate decreased epidermal differentiation and barrier function. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 89-90(1-5), 347-353. doi: 10.1016/j.jsbmb.2004.03.113
- Bikle, D. D., Elalieh, H., Chang, S., Xie, Z., & Sundberg, J. P. (2006). Development and progression of alopecia in the vitamin D receptor null mouse. *J Cell Physiol*, 207(2), 340-353. doi: 10.1002/jcp.20578
- Bikle, D. D., Oda, Y., & Xie, Z. (2004). Calcium and 1,25(OH)₂D: interacting drivers of epidermal differentiation. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 89-90(1-5), 355-360. doi: 10.1016/j.jsbmb.2004.03.020
- Birke, M., Schope, J., Wagenpfeil, S., Vogt, T., & Reichrath, J. (2020). Association of Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms With Melanoma Risk: A Meta-analysis and Systematic Review. *Anticancer Res*, 40(2), 583-595. doi: 10.21873/anticanres.13988
- Bischoff-Ferrari, H. A., Dawson-Hughes, B., Staehelin, H. B., Orav, J. E., Stuck, A. E., Theiler, R., . . . Henschkowski, J. (2009). Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Bmj*, 339, b3692. doi: 10.1136/bmj.b3692
- Bischoff-Ferrari, H. A., Giovannucci, E., Willett, W. C., Dietrich, T., & Dawson-Hughes, B. (2006). Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr*, 84(1), 18-28.
- Bischoff, H. A., Borchers, M., Gudat, F., Duermueller, U., Theiler, R., Stahelin, H. B., & Dick, W. (2001). In situ detection of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor in human skeletal muscle tissue. *Histochem J*, 33(1), 19-24.
- Blazer, D. G., 3rd, Umbach, D. M., Bostick, R. M., & Taylor, J. A. (2000). Vitamin D receptor polymorphisms and prostate cancer. *Mol Carcinog*, 27(1), 18-23.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Bodiwala, D., Luscombe, C. J., French, M. E., Liu, S., Saxby, M. F., Jones, P. W., . . . Strange, R. C. (2004). Polymorphisms in the vitamin D receptor gene, ultraviolet radiation, and susceptibility to prostate cancer. *Environ Mol Mutagen*, *43*(2), 121-127. doi: 10.1002/em.20000
- Boonen, S., Bischoff-Ferrari, H. A., Cooper, C., Lips, P., Ljunggren, O., Meunier, P. J., & Reginster, J. Y. (2006). Addressing the musculoskeletal components of fracture risk with calcium and vitamin D: a review of the evidence. *Calcif Tissue Int*, *78*(5), 257-270. doi: 10.1007/s00223-005-0009-8
- Brash, D. E., Rudolph, J. A., Simon, J. A., Lin, A., McKenna, G. J., Baden, H. P., . . . Ponten, J. (1991). A role for sunlight in skin cancer: UV-induced p53 mutations in squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *88*(22), 10124-10128. doi: 10.1073/pnas.88.22.10124
- Bretherton-Watt, D., Given-Wilson, R., Mansi, J. L., Thomas, V., Carter, N., & Colston, K. W. (2001). Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with breast cancer risk in a UK Caucasian population. *Br J Cancer*, *85*(2), 171-175. doi: 10.1054/bjoc.2001.1864
- Breuer, J., Schwab, N., Schneider-Hohendorf, T., Marziniak, M., Mohan, H., Bhatia, U., . . . Wiendl, H. (2014). Ultraviolet B light attenuates the systemic immune response in central nervous system autoimmunity. *Ann Neurol*, *75*(5), 739-758. doi: 10.1002/ana.24165
- Brodland, D. G., & Zitelli, J. A. (1992). Surgical margins for excision of primary cutaneous squamous cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*, *27*(2 Pt 1), 241-248. doi: 10.1016/0190-9622(92)70178-i
- Brown, A. J. (1999). Regulation of vitamin D action. *Nephrol Dial Transplant*, *14*(1), 11-16.
- Brown, A. J., Dusso, A., & Slatopolsky, E. (1999). Vitamin D. *Am J Physiol*, *277*(2 Pt 2), F157-175.
- Brumbaugh, P. F., & Haussler, M. R. (1974). 1 Alpha,25-dihydroxycholecalciferol receptors in intestine. I. Association of 1 alpha,25-dihydroxycholecalciferol with intestinal mucosa chromatin. *J Biol Chem*, *249*(4), 1251-1257.

- Brumbaugh, P. F., & Haussler, M. R. (1975). Specific binding of 1 α ,25-dihydroxycholecalciferol to nuclear components of chick intestine. *J Biol Chem*, 250(4), 1588-1594.
- Burmester, J. K., Maeda, N., & DeLuca, H. F. (1988). Isolation and expression of rat 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor cDNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 85(4), 1005-1009.
- Burns, E. M., Guroji, P., Ahmad, I., Nasr, H. M., Wang, Y., Tamimi, I. A., . . . Yusuf, N. (2017). Association of Vitamin D Receptor Polymorphisms With the Risk of Nonmelanoma Skin Cancer in Adults. *JAMA Dermatol*, 153(10), 983-989. doi: 10.1001/jamadermatol.2017.1976
- Buyru, N., Tezol, A., Yosunkaya-Fenerci, E., & Dalay, N. (2003). Vitamin D receptor gene polymorphisms in breast cancer. *Exp Mol Med*, 35(6), 550-555. doi: 10.1038/emm.2003.72
- Cadario, F., Prodam, F., Savastio, S., Monzani, A., Balafrej, A., Bellomo, G., & Bona, G. (2015). Vitamin D status and type 1 diabetes in children: evaluation according to latitude and skin color. *Minerva Pediatr*, 67(3), 263-267.
- Calvo, M. S., Whiting, S. J., & Barton, C. N. (2005). Vitamin D intake: a global perspective of current status. *J Nutr*, 135(2), 310-316. doi: 10.1093/jn/135.2.310
- Calle, E. E., Rodriguez, C., Walker-Thurmond, K., & Thun, M. J. (2003). Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med*, 348(17), 1625-1638. doi: 10.1056/NEJMoa021423
- Campbell, M. J., & Trump, D. L. (2017). Vitamin D Receptor Signaling and Cancer. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 46(4), 1009-1038. doi: 10.1016/j.ecl.2017.07.007
- Cantorna, M. T. (2000). Vitamin D and autoimmunity: is vitamin D status an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence? *Proc Soc Exp Biol Med*, 223(3), 230-233.
- Cantorna, M. T., Hayes, C. E., & DeLuca, H. F. (1996). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 reversibly blocks the progression of relapsing encephalomyelitis, a model of multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 93(15), 7861-7864.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Cantorna, M. T., Hayes, C. E., & DeLuca, H. F. (1998). 1,25-Dihydroxycholecalciferol inhibits the progression of arthritis in murine models of human arthritis. *J Nutr*, *128*(1), 68-72.
- Carless, M. A., Kraska, T., Lintell, N., Neale, R. E., Green, A. C., & Griffiths, L. R. (2008). Polymorphisms of the VDR gene are associated with presence of solar keratoses on the skin. *Br J Dermatol*, *159*(4), 804-810. doi: 10.1111/j.1365-2133.2008.08745.x
- Carling, T., Kindmark, A., Hellman, P., Lundgren, E., Ljunghall, S., Rastad, J., . . . Melhus, H. (1995). Vitamin D receptor genotypes in primary hyperparathyroidism. *Nat Med*, *1*(12), 1309-1311.
- Carmena-Ramón, R. (2017). Queratosis actínica: nuevo concepto y actualización terapéutica. *Atención Primaria*.
- Casado-Diaz, A., Cuenca-Acevedo, R., Navarro-Valverde, C., Diaz-Molina, C., Caballero-Villarraso, J., Santiago-Mora, R., . . . Quesada-Gomez, J. M. (2013). Vitamin D status and the Cdx-2 polymorphism of the vitamin D receptor gene are determining factors of bone mineral density in young healthy postmenopausal women. *J Steroid Biochem Mol Biol*, *136*, 187-189. doi: 10.1016/j.jsbmb.2012.09.026
- Cicek, M. S., Liu, X., Schumacher, F. R., Casey, G., & Witte, J. S. (2006). Vitamin D receptor genotypes/haplotypes and prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, *15*(12), 2549-2552. doi: 10.1158/1055-9965.epi-06-0409
- Clendenen, T. V., Arslan, A. A., Koenig, K. L., Enquist, K., Wirgin, I., Agren, A., . . . Lundin, E. (2008). Vitamin D receptor polymorphisms and risk of epithelial ovarian cancer. *Cancer Lett*, *260*(1-2), 209-215. doi: 10.1016/j.canlet.2007.11.002
- Colston, K., Colston, M. J., & Feldman, D. (1981). 1,25-dihydroxyvitamin D3 and malignant melanoma: the presence of receptors and inhibition of cell growth in culture. *Endocrinology*, *108*(3), 1083-1086. doi: 10.1210/endo-108-3-1083
- Colston, K., Colston, M. J., Fieldsteel, A. H., & Feldman, D. (1982). 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors in human epithelial cancer cell lines. *Cancer Res*, *42*(3), 856-859.

- Colston, K. W., & Feldman, D. (1979). Demonstration of a 1,25-dihydroxycholecalciferol cytoplasmic receptor-like binder in mouse kidney. *J Clin Endocrinol Metab*, *49*(5), 798-800. doi: 10.1210/jcem-49-5-798
- Colston, K. W., Lowe, L. C., Mansi, J. L., & Campbell, M. J. (2006). Vitamin D status and breast cancer risk. *Anticancer Res*, *26*(4a), 2573-2580.
- Collins, J. E., Heward, J. M., Nithiyanthan, R., Nejentsev, S., Todd, J. A., Franklyn, J. A., & Gough, S. C. (2004). Lack of association of the vitamin D receptor gene with Graves' disease in UK Caucasians. *Clin Endocrinol (Oxf)*, *60*(5), 618-624. doi: 10.1111/j.1365-2265.2004.02015.x
- Cooper, G. S., & Umbach, D. M. (1996). Are vitamin D receptor polymorphisms associated with bone mineral density? A meta-analysis. *J Bone Miner Res*, *11*(12), 1841-1849. doi: 10.1002/jbmr.5650111203
- Cordero, J. B., Cozzolino, M., Lu, Y., Vidal, M., Slatopolsky, E., Stahl, P. D., . . . Dusso, A. (2002). 1,25-Dihydroxyvitamin D down-regulates cell membrane growth- and nuclear growth-promoting signals by the epidermal growth factor receptor. *J Biol Chem*, *277*(41), 38965-38971. doi: 10.1074/jbc.M203736200
- Correa-Cerro, L., Berthon, P., Haussler, J., Bochum, S., Drelon, E., Mangin, P., . . . Vogel, W. (1999). Vitamin D receptor polymorphisms as markers in prostate cancer. *Hum Genet*, *105*(3), 281-287.
- Cranney, A., Horsley, T., O'Donnell, S., Weiler, H., Puil, L., Ooi, D., . . . Mamaladze, V. (2007). Effectiveness and safety of vitamin D in relation to bone health. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)*(158), 1-235.
- Curran, J. E., Vaughan, T., Lea, R. A., Weinstein, S. R., Morrison, N. A., & Griffiths, L. R. (1999). Association of A vitamin D receptor polymorphism with sporadic breast cancer development. *Int J Cancer*, *83*(6), 723-726.
- Chadha, M. K., Tian, L., Mashtare, T., Payne, V., Silliman, C., Levine, E., . . . Trump, D. L. (2010). Phase 2 trial of weekly intravenous 1,25 dihydroxy cholecalciferol (calcitriol) in combination with dexamethasone for castration-resistant prostate cancer. *Cancer*, *116*(9), 2132-2139. doi: 10.1002/cncr.24973

X. BIBLIOGRAFÍA

- Chaimuangraj, S., Thammachoti, R., Ongphiphadhanakul, B., & Thammavit, W. (2006). Lack of association of VDR polymorphisms with Thai prostate cancer as compared with benign prostate hyperplasia and controls. *Asian Pac J Cancer Prev*, 7(1), 136-139.
- Chang, T. J., Lei, H. H., Yeh, J. I., Chiu, K. C., Lee, K. C., Chen, M. C., . . . Chuang, L. M. (2000). Vitamin D receptor gene polymorphisms influence susceptibility to type 1 diabetes mellitus in the Taiwanese population. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 52(5), 575-580.
- Chapuy, M. C., Preziosi, P., Maamer, M., Arnaud, S., Galan, P., Hercberg, S., & Meunier, P. J. (1997). Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int*, 7(5), 439-443.
- Charoenngam, N., Shirvani, A., & Holick, M. F. (2019). Vitamin D for skeletal and non-skeletal health: What we should know. *J Clin Orthop Trauma*, 10(6), 1082-1093. doi: 10.1016/j.jcot.2019.07.004
- Chen, W. Y., Bertone-Johnson, E. R., Hunter, D. J., Willett, W. C., & Hankinson, S. E. (2005). Associations between polymorphisms in the vitamin D receptor and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 14(10), 2335-2339. doi: 10.1158/1055-9965.epi-05-0283
- Cheteri, M. B., Stanford, J. L., Friedrichsen, D. M., Peters, M. A., Iwasaki, L., Langlois, M. C., . . . Ostrander, E. A. (2004). Vitamin D receptor gene polymorphisms and prostate cancer risk. *Prostate*, 59(4), 409-418. doi: 10.1002/pros.20001
- Chokkalingam, A. P., McGlynn, K. A., Gao, Y. T., Pollak, M., Deng, J., Sesterhenn, I. A., . . . Hsing, A. W. (2001). Vitamin D receptor gene polymorphisms, insulin-like growth factors, and prostate cancer risk: a population-based case-control study in China. *Cancer Res*, 61(11), 4333-4336.
- Chuang, T. Y., Popescu, A., Su, W. P., & Chute, C. G. (1990). Basal cell carcinoma. A population-based incidence study in Rochester, Minnesota. *J Am Acad Dermatol*, 22(3), 413-417. doi: 10.1016/0190-9622(90)70056-n
- Dalhoff, K., Dancy, J., Astrup, L., Skovsgaard, T., Hamberg, K. J., Lofts, F. J., . . . Evans, T. R. (2003). A phase II study of the vitamin D analogue Seocalcitol in patients with

- inoperable hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer*, 89(2), 252-257. doi: 10.1038/sj.bjc.6601104
- de Gruijl, F. R., van Kranen, H. J., & Mullenders, L. H. (2001). UV-induced DNA damage, repair, mutations and oncogenic pathways in skin cancer. *J Photochem Photobiol B*, 63(1-3), 19-27. doi: 10.1016/s1011-1344(01)00199-3
- Dehghan, M., & Pourahmad-Jaktaji, R. (2016). The Effect of Some Polymorphisms in Vitamin D Receptor Gene in Menopausal Women with Osteoporosis. *J Clin Diagn Res*, 10(6), Rc06-10. doi: 10.7860/jcdr/2016/17147.8006
- Delissalde, F., Hernandez, M. A., Barron, A., Bermejo, L., Arias, J., Halhali, A., & Castro, I. (1998). [Vitamin D induces proliferation in rat endometrium cultured cells]. *Rev Invest Clin*, 50(2), 113-118.
- Deluca, H. F., & Cantorna, M. T. (2001). Vitamin D: its role and uses in immunology. *Faseb j*, 15(14), 2579-2585. doi: 10.1096/fj.01-0433rev
- Denzer, N., Vogt, T., & Reichrath, J. (2011). Vitamin D receptor (VDR) polymorphisms and skin cancer: A systematic review. *Dermatoendocrinol*, 3(3), 205-210. doi: 10.4161/derm.3.3.16519
- Devlin, T. M. (2004). *Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas*. Barcelona: Reverté, S.A.
- Dunning, A. M., McBride, S., Gregory, J., Durocher, F., Foster, N. A., Healey, C. S., . . . Ponder, B. A. (1999). No association between androgen or vitamin D receptor gene polymorphisms and risk of breast cancer. *Carcinogenesis*, 20(11), 2131-2135.
- Durrin, L. K., Haile, R. W., Ingles, S. A., & Coetzee, G. A. (1999). Vitamin D receptor 3'-untranslated region polymorphisms: lack of effect on mRNA stability. *Biochim Biophys Acta*, 1453(3), 311-320.
- Dusso, A. S., & Brown, A. J. (1998). Mechanism of vitamin D action and its regulation. *Am J Kidney Dis*, 32(2 Suppl 2), S13-24.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Dusso, A. S., Brown, A. J., & Slatopolsky, E. (2005). Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol*, 289(1), F8-28. doi: 10.1152/ajprenal.00336.2004
- Eccleshall, T. R., Garnero, P., Gross, C., Delmas, P. D., & Feldman, D. (1998). Lack of correlation between start codon polymorphism of the vitamin D receptor gene and bone mineral density in premenopausal French women: the OFELY study. *J Bone Miner Res*, 13(1), 31-35. doi: 10.1359/jbmr.1998.13.1.31
- Eelen, G., Verlinden, L., De Clercq, P., Vandewalle, M., Bouillon, R., & Verstuyf, A. (2006). Vitamin D analogs and coactivators. *Anticancer Res*, 26(4a), 2717-2721.
- Egan, K. M. (2009). Vitamin D and melanoma. *Ann Epidemiol*, 19(7), 455-461. doi: 10.1016/j.annepidem.2009.01.005
- Eide, M. J., Johnson, D. A., Jacobsen, G. R., Krajenta, R. J., Rao, D. S., Lim, H. W., & Johnson, C. C. (2011). Vitamin D and nonmelanoma skin cancer in a health maintenance organization cohort. *Arch Dermatol*, 147(12), 1379-1384. doi: 10.1001/archdermatol.2011.231
- Elias, J., Marian, B., Edling, C., Lachmann, B., Noe, C. R., Rolf, S. H., & Schuster, I. (2003). Induction of apoptosis by vitamin D metabolites and analogs in a glioma cell line. *Recent Results Cancer Res*, 164, 319-332.
- English, D. R., Armstrong, B. K., Krickler, A., & Fleming, C. (1997). Sunlight and cancer. *Cancer Causes Control*, 8(3), 271-283.
- Erben, R. G., Soegiarto, D. W., Weber, K., Zeitz, U., Lieberherr, M., Gniadecki, R., . . . Balling, R. (2002). Deletion of deoxyribonucleic acid binding domain of the vitamin D receptor abrogates genomic and nongenomic functions of vitamin D. *Mol Endocrinol*, 16(7), 1524-1537. doi: 10.1210/mend.16.7.0866
- Evans, S. R., Shchepotin, E. I., Young, H., Rochon, J., Uskokovic, M., & Shchepotin, I. B. (2000). 1,25-dihydroxyvitamin D₃ synthetic analogs inhibit spontaneous metastases in a 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis model. *Int J Oncol*, 16(6), 1249-1254. doi: 10.3892/ijo.16.6.1249
- Evans, T. R., Colston, K. W., Lofts, F. J., Cunningham, D., Anthoney, D. A., Gogas, H., . . . Mansi, J. L. (2002). A phase II trial of the vitamin D analogue Seocalcitol (EB1089)

in patients with inoperable pancreatic cancer. *Br J Cancer*, 86(5), 680-685. doi: 10.1038/sj.bjc.6600162

Everett, D. (1846). On the Use of Cod-Liver Oil in Tubercular Disease. *Prov Med Surg J*, 10(45), 538-539.

Falkiewicz, K., Bidzinska, B., Demissie, M., Boratynska, M., Zmonarski, S. C., Tworowska, K., . . . Patrzalek, D. (2005). Influence of vitamin D receptor gene polymorphisms on secondary hyperparathyroidism and bone density after kidney transplantation. *Transplant Proc*, 37(2), 1023-1025. doi: 10.1016/j.transproceed.2005.01.048

Fan, L., Tu, X., Zhu, Y., Zhou, L., Pfeiffer, T., Feltens, R., . . . Zhong, R. (2005). Genetic association of vitamin D receptor polymorphisms with autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis in the Chinese. *J Gastroenterol Hepatol*, 20(2), 249-255. doi: 10.1111/j.1440-1746.2005.03532.x

Fang, Y., van Meurs, J. B., d'Alesio, A., Jhamai, M., Zhao, H., Rivadeneira, F., . . . Uitterlinden, A. G. (2005). Promoter and 3'-untranslated-region haplotypes in the vitamin d receptor gene predispose to osteoporotic fracture: the rotterdam study. *Am J Hum Genet*, 77(5), 807-823. doi: 10.1086/497438

Faraco, J. H., Morrison, N. A., Baker, A., Shine, J., & Frossard, P. M. (1989). Apal dimorphism at the human vitamin D receptor gene locus. *Nucleic Acids Res*, 17(5), 2150.

Farach-Carson, M. C., & Davis, P. J. (2003). Steroid hormone interactions with target cells: cross talk between membrane and nuclear pathways. *J Pharmacol Exp Ther*, 307(3), 839-845. doi: 10.1124/jpet.103.055038

Feldman, D., & Malloy, P. J. (1990). Hereditary 1,25-dihydroxyvitamin D resistant rickets: molecular basis and implications for the role of 1,25(OH) 2D3 in normal physiology. *Mol Cell Endocrinol*, 72(3), C57-62.

Ferrari, S., Rizzoli, R., Chevalley, T., Slosman, D., Eisman, J. A., & Bonjour, J. P. (1995). Vitamin-D-receptor-gene polymorphisms and change in lumbar-spine bone mineral density. *Lancet*, 345(8947), 423-424. doi: 10.1016/s0140-6736(95)90404-2

X. BIBLIOGRAFÍA

- Ferrari, S., Rizzoli, R., Manen, D., Slosman, D., & Bonjour, J. P. (1998). Vitamin D receptor gene start codon polymorphisms (FokI) and bone mineral density: interaction with age, dietary calcium, and 3'-end region polymorphisms. *J Bone Miner Res*, *13*(6), 925-930. doi: 10.1359/jbmr.1998.13.6.925
- Fleet, J. C., Harris, S. S., Wood, R. J., & Dawson-Hughes, B. (1995). The BsmI vitamin D receptor restriction fragment length polymorphism (BB) predicts low bone density in premenopausal black and white women. *J Bone Miner Res*, *10*(6), 985-990. doi: 10.1002/jbmr.5650100621
- Fogh, K., & Kragballe, K. (2004). New vitamin D analogs in psoriasis. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, *3*(2), 199-204.
- Fujioka, T., Hasegawa, M., Ishikura, K., Matsushita, Y., Sato, M., & Tanji, S. (1998). Inhibition of tumor growth and angiogenesis by vitamin D3 agents in murine renal cell carcinoma. *J Urol*, *160*(1), 247-251.
- Fukazawa, T., Yabe, I., Kikuchi, S., Sasaki, H., Hamada, T., Miyasaka, K., & Tashiro, K. (1999). Association of vitamin D receptor gene polymorphism with multiple sclerosis in Japanese. *J Neurol Sci*, *166*(1), 47-52. doi: 10.1016/s0022-510x(99)00112-4
- Gandini, S., Franceschi, F., Johanson, H., Bonanni, B., & Testori, A. (2009). Why vitamin D for cancer patients? *Eccancermedicalscience*, *3*, 160. doi: 10.3332/ecancer.2009.160
- Gandini, S., Raimondi, S., Gagnarella, P., Dore, J. F., Maisonneuve, P., & Testori, A. (2009). Vitamin D and skin cancer: a meta-analysis. *Eur J Cancer*, *45*(4), 634-641. doi: 10.1016/j.ejca.2008.10.003
- Gapska, P., Scott, R. J., Serrano-Fernandez, P., Mirecka, A., Rassoud, I., Gorski, B., . . . Debniak, T. (2009). Vitamin D receptor variants and the malignant melanoma risk: a population-based study. *Cancer Epidemiol*, *33*(2), 103-107. doi: 10.1016/j.canep.2009.06.006
- Garcovich, S., Colloca, G., Sollena, P., Andrea, B., Balducci, L., Cho, W. C., . . . Peris, K. (2017). Skin Cancer Epidemics in the Elderly as An Emerging Issue in Geriatric Oncology. *Aging Dis*, *8*(5), 643-661. doi: 10.14336/ad.2017.0503

- Garland, C. F., & Garland, F. C. (1980). Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *Int J Epidemiol*, *9*(3), 227-231.
- Garland, F. C., Garland, C. F., Gorham, E. D., & Young, J. F. (1990). Geographic variation in breast cancer mortality in the United States: a hypothesis involving exposure to solar radiation. *Prev Med*, *19*(6), 614-622.
- Garnero, P., Borel, O., Sornay-Rendu, E., & Delmas, P. D. (1995). Vitamin D receptor gene polymorphisms do not predict bone turnover and bone mass in healthy premenopausal women. *J Bone Miner Res*, *10*(9), 1283-1288. doi: 10.1002/jbmr.5650100902
- Garnero, P., & Delmas, P. D. (1998). Biochemical markers of bone turnover. Applications for osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am*, *27*(2), 303-323.
- Gennari, L., Becherini, L., Mansani, R., Masi, L., Falchetti, A., Morelli, A., . . . Brandi, M. L. (1999). FokI polymorphism at translation initiation site of the vitamin D receptor gene predicts bone mineral density and vertebral fractures in postmenopausal Italian women. *J Bone Miner Res*, *14*(8), 1379-1386. doi: 10.1359/jbmr.1999.14.8.1379
- Giannini, S., D'Angelo, A., Nobile, M., Carraro, G., Rigotti, P., Silva-Netto, F., . . . Crepaldi, G. (2002). The effects of vitamin D receptor polymorphism on secondary hyperparathyroidism and bone density after renal transplantation. *J Bone Miner Res*, *17*(10), 1768-1773. doi: 10.1359/jbmr.2002.17.10.1768
- Gilchrest, B. A. (2008). Sun exposure and vitamin D sufficiency. *Am J Clin Nutr*, *88*(2), 570s-577s. doi: 10.1093/ajcn/88.2.570S
- Giovannucci, E. (2005). The epidemiology of vitamin D and cancer incidence and mortality: a review (United States). *Cancer Causes Control*, *16*(2), 83-95. doi: 10.1007/s10552-004-1661-4
- Glerup, H., Mikkelsen, K., Poulsen, L., Hass, E., Overbeck, S., Thomsen, J., . . . Eriksen, E. F. (2000). Commonly recommended daily intake of vitamin D is not sufficient if sunlight exposure is limited. *J Intern Med*, *247*(2), 260-268.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Gnagnarella, P., Pasquali, E., Serrano, D., Raimondi, S., Disalvatore, D., & Gandini, S. (2014). Vitamin D receptor polymorphism FokI and cancer risk: a comprehensive meta-analysis. *Carcinogenesis*, *35*(9), 1913-1919. doi: 10.1093/carcin/bgu150
- Gomez Alonso, C., Naves Diaz, M. L., Diaz-Corte, C., Fernandez Martin, J. L., & Cannata Andia, J. B. (1998). Vitamin D receptor gene (VDR) polymorphisms: effect on bone mass, bone loss and parathyroid hormone regulation. *Nephrol Dial Transplant*, *13 Suppl 3*, 73-77.
- Gong, G., Stern, H. S., Cheng, S. C., Fong, N., Mordeson, J., Deng, H. W., & Recker, R. R. (1999). The association of bone mineral density with vitamin D receptor gene polymorphisms. *Osteoporos Int*, *9*(1), 55-64. doi: 10.1007/s001980050116
- Gong, Y. L., Xie, D. W., Deng, Z. L., Bostick, R. M., Miao, X. J., Zhang, J. H., & Gong, Z. H. (2005). Vitamin D receptor gene Tru9I polymorphism and risk for incidental sporadic colorectal adenomas. *World J Gastroenterol*, *11*(31), 4794-4799.
- Gorham, E. D., Garland, C. F., Garland, F. C., Grant, W. B., Mohr, S. B., Lipkin, M., . . . Holick, M. F. (2005). Vitamin D and prevention of colorectal cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*, *97*(1-2), 179-194. doi: 10.1016/j.jsbmb.2005.06.018
- Granchi, D., Stea, S., Sudanese, A., Toni, A., Baldini, N., & Giunti, A. (2002). Association of two gene polymorphisms with osteoarthritis secondary to hip dysplasia. *Clin Orthop Relat Res*(403), 108-117. doi: 10.1097/00003086-200210000-00018
- Grant, W. B. (2002). An estimate of premature cancer mortality in the U.S. due to inadequate doses of solar ultraviolet-B radiation. *Cancer*, *94*(6), 1867-1875.
- Green, A., Battistutta, D., Hart, V., Leslie, D., & Weedon, D. (1996). Skin cancer in a subtropical Australian population: incidence and lack of association with occupation. The Nambour Study Group. *Am J Epidemiol*, *144*(11), 1034-1040. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a008875
- Gregori, S., Giarratana, N., Smioldo, S., Uskokovic, M., & Adorini, L. (2002). A 1alpha,25-dihydroxyvitamin D(3) analog enhances regulatory T-cells and arrests autoimmune diabetes in NOD mice. *Diabetes*, *51*(5), 1367-1374.
- Gross, C., Eccleshall, T. R., Malloy, P. J., Villa, M. L., Marcus, R., & Feldman, D. (1996). The presence of a polymorphism at the translation initiation site of the vitamin D

- receptor gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal Mexican-American women. *J Bone Miner Res*, 11(12), 1850-1855. doi: 10.1002/jbmr.5650111204
- Gross, C., Stamey, T., Hancock, S., & Feldman, D. (1998). Treatment of early recurrent prostate cancer with 1,25-dihydroxyvitamin D3 (calcitriol). *J Urol*, 159(6), 2035-2039; discussion 2039-2040.
- Gsur, A., Madersbacher, S., Haidinger, G., Schatzl, G., Marberger, M., Vutuc, C., & Micksche, M. (2002). Vitamin D receptor gene polymorphism and prostate cancer risk. *Prostate*, 51(1), 30-34.
- Guillemant, J., & Guillemant, S. (1980). Early rise in cyclic GMP after 1,25-dihydroxycholecalciferol administration in the chick intestinal mucosa. *Biochem Biophys Res Commun*, 93(3), 906-911. doi: 10.1016/0006-291x(80)91161-4
- Gulleth, Y., Goldberg, N., Silverman, R. P., & Gastman, B. R. (2010). What is the best surgical margin for a Basal cell carcinoma: a meta-analysis of the literature. *Plast Reconstr Surg*, 126(4), 1222-1231. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181ea450d
- Gulliford, T., English, J., Colston, K. W., Munday, P., Moller, S., & Coombes, R. C. (1998). A phase I study of the vitamin D analogue EB 1089 in patients with advanced breast and colorectal cancer. *Br J Cancer*, 78(1), 6-13. doi: 10.1038/bjc.1998.434
- Gutierrez, S., Javed, A., Tennant, D. K., van Rees, M., Montecino, M., Stein, G. S., . . . Lian, J. B. (2002). CCAAT/enhancer-binding proteins (C/EBP) beta and delta activate osteocalcin gene transcription and synergize with Runx2 at the C/EBP element to regulate bone-specific expression. *J Biol Chem*, 277(2), 1316-1323. doi: 10.1074/jbc.M106611200
- Guy, M., Lowe, L. C., Bretherton-Watt, D., Mansi, J. L., & Colston, K. W. (2003). Approaches to evaluating the association of vitamin D receptor gene polymorphisms with breast cancer risk. *Recent Results Cancer Res*, 164, 43-54.
- Guy, M., Lowe, L. C., Bretherton-Watt, D., Mansi, J. L., Peckitt, C., Bliss, J., . . . Colston, K. W. (2004). Vitamin D receptor gene polymorphisms and breast cancer risk. *Clin Cancer Res*, 10(16), 5472-5481. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-04-0206

X. BIBLIOGRAFÍA

- Habuchi, T., Suzuki, T., Sasaki, R., Wang, L., Sato, K., Satoh, S., . . . Kato, T. (2000). Association of vitamin D receptor gene polymorphism with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia in a Japanese population. *Cancer Res*, *60*(2), 305-308.
- Halsall, J. A., Osborne, J. E., Epstein, M. P., Pringle, J. H., & Hutchinson, P. E. (2009). The unfavorable effect of the A allele of the vitamin D receptor promoter polymorphism A-1012G has different mechanisms related to susceptibility and outcome of malignant melanoma. *Dermatoendocrinol*, *1*(1), 54-57. doi: 10.4161/derm.1.1.7674
- Halsall, J. A., Osborne, J. E., Potter, L., Pringle, J. H., & Hutchinson, P. E. (2004). A novel polymorphism in the 1A promoter region of the vitamin D receptor is associated with altered susceptibility and prognosis in malignant melanoma. *Br J Cancer*, *91*(4), 765-770. doi: 10.1038/sj.bjc.6602006
- Halsall, J. A., Osborne, J. E., Pringle, J. H., & Hutchinson, P. E. (2005). Vitamin D receptor gene polymorphisms, particularly the novel A-1012G promoter polymorphism, are associated with vitamin D3 responsiveness and non-familial susceptibility in psoriasis. *Pharmacogenet Genomics*, *15*(5), 349-355.
- Han, J., Colditz, G. A., & Hunter, D. J. (2007). Polymorphisms in the MTHFR and VDR genes and skin cancer risk. *Carcinogenesis*, *28*(2), 390-397. doi: 10.1093/carcin/bgl156
- Hanchette, C. L., & Schwartz, G. G. (1992). Geographic patterns of prostate cancer mortality. Evidence for a protective effect of ultraviolet radiation. *Cancer*, *70*(12), 2861-2869.
- Hannuksela-Svahn, A., Pukkala, E., & Karvonen, J. (1999). Basal cell skin carcinoma and other nonmelanoma skin cancers in Finland from 1956 through 1995. *Arch Dermatol*, *135*(7), 781-786. doi: 10.1001/archderm.135.7.781
- Hausler, M. R., Mangelsdorf, D. J., Komm, B. S., Terpening, C. M., Yamaoka, K., Allegretto, E. A., . . . et al. (1988). Molecular biology of the vitamin D hormone. *Recent Prog Horm Res*, *44*, 263-305.
- Heaney, R. P., Davies, K. M., Chen, T. C., Holick, M. F., & Barger-Lux, M. J. (2003). Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. *Am J Clin Nutr*, *77*(1), 204-210.

- Hewison, M., Zehnder, D., Chakraverty, R., & Adams, J. S. (2004). Vitamin D and barrier function: a novel role for extra-renal 1 alpha-hydroxylase. *Mol Cell Endocrinol*, 215(1-2), 31-38. doi: 10.1016/j.mce.2003.11.017
- Hitman, G. A., Mannan, N., McDermott, M. F., Aganna, E., Ogunkolade, B. W., Hales, C. N., & Boucher, B. J. (1998). Vitamin D receptor gene polymorphisms influence insulin secretion in Bangladeshi Asians. *Diabetes*, 47(4), 688-690.
- Hochberg, Z., Gilhar, A., Haim, S., Friedman-Birnbaum, R., Levy, J., & Benderly, A. (1985). Calcitriol-resistant rickets with alopecia. *Arch Dermatol*, 121(5), 646-647.
- Hoffman, F. (1916). The Mortality of Cancer Throughout the World. *Prudential Press*, 403-405.
- Holick, C. N., Stanford, J. L., Kwon, E. M., Ostrander, E. A., Nejentsev, S., & Peters, U. (2007). Comprehensive association analysis of the vitamin D pathway genes, VDR, CYP27B1, and CYP24A1, in prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 16(10), 1990-1999. doi: 10.1158/1055-9965.epi-07-0487
- Holick, M. F. (1995). Noncalcemic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and clinical applications. *Bone*, 17(2 Suppl), 107s-111s.
- Holick, M. F. (2001). Sunlight "D"ilemma: risk of skin cancer or bone disease and muscle weakness. *Lancet*, 357(9249), 4-6. doi: 10.1016/s0140-6736(00)03560-1
- Holick, M. F. (2006a). Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest*, 116(8), 2062-2072. doi: 10.1172/jci29449
- Holick, M. F. (2006b). The role of vitamin D for bone health and fracture prevention. *Curr Osteoporos Rep*, 4(3), 96-102.
- Holick, M. F. (2007). Vitamin D Deficiency. *New England Journal of Medicine*, 357(3), 266-281. doi: doi:10.1056/NEJMra070553
- Holick, M. F., & Chen, T. C. (2008). Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr*, 87(4), 1080s-1086s. doi: 10.1093/ajcn/87.4.1080S

X. BIBLIOGRAFÍA

- Holick, M. F., Chen, T. C., Lu, Z., & Sauter, E. (2007). Vitamin D and skin physiology: a D-lightful story. *J Bone Miner Res*, 22 Suppl 2, V28-33. doi: 10.1359/jbmr.07s211
- Holick, M. F., Matsuoka, L. Y., & Wortsman, J. (1989). Age, vitamin D, and solar ultraviolet. *Lancet*, 2(8671), 1104-1105.
- Holmes, E. A., Xiang, F., & Lucas, R. M. (2015). Variation in incidence of pediatric Crohn's disease in relation to latitude and ambient ultraviolet radiation: a systematic review and analysis. *Inflamm Bowel Dis*, 21(4), 809-817. doi: 10.1097/mib.0000000000000320
- Hollis, B. W., & Wagner, C. L. (2004a). Assessment of dietary vitamin D requirements during pregnancy and lactation. *Am J Clin Nutr*, 79(5), 717-726.
- Hollis, B. W., & Wagner, C. L. (2004b). Vitamin D requirements during lactation: high-dose maternal supplementation as therapy to prevent hypovitaminosis D for both the mother and the nursing infant. *Am J Clin Nutr*, 80(6 Suppl), 1752s-1758s.
- Hollo, A., Clemens, Z., Kamondi, A., Lakatos, P., & Szucs, A. (2012). Correction of vitamin D deficiency improves seizure control in epilepsy: a pilot study. *Epilepsy Behav*, 24(1), 131-133. doi: 10.1016/j.yebeh.2012.03.011
- Hoogendijk, W. J., Lips, P., Dik, M. G., Deeg, D. J., Beekman, A. T., & Penninx, B. W. (2008). Depression is associated with decreased 25-hydroxyvitamin D and increased parathyroid hormone levels in older adults. *Arch Gen Psychiatry*, 65(5), 508-512. doi: 10.1001/archpsyc.65.5.508
- Hou, M. F., Tien, Y. C., Lin, G. T., Chen, C. J., Liu, C. S., Lin, S. Y., & Huang, T. J. (2002). Association of vitamin D receptor gene polymorphism with sporadic breast cancer in Taiwanese patients. *Breast Cancer Res Treat*, 74(1), 1-7.
- Houston, L. A., Grant, S. F., Reid, D. M., & Ralston, S. H. (1996). Vitamin D receptor polymorphism, bone mineral density, and osteoporotic vertebral fracture: studies in a UK population. *Bone*, 18(3), 249-252. doi: 10.1016/8756-3282(95)00483-1
- Hsieh, J. C., Sisk, J. M., Jurutka, P. W., Haussler, C. A., Slater, S. A., Haussler, M. R., & Thompson, C. C. (2003). Physical and functional interaction between the vitamin

- D receptor and hairless corepressor, two proteins required for hair cycling. *J Biol Chem*, 278(40), 38665-38674. doi: 10.1074/jbc.M304886200
- Huang, C. M., Wu, M. C., Wu, J. Y., & Tsai, F. J. (2002a). Association of vitamin D receptor gene BsmI polymorphisms in Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 11(1), 31-34. doi: 10.1191/0961203302lu143oa
- Huang, C. M., Wu, M. C., Wu, J. Y., & Tsai, F. J. (2002b). No association of vitamin D receptor gene start codon fok 1 polymorphisms in Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*, 29(6), 1211-1213.
- Huang, D. C., Papavasiliou, V., Rhim, J. S., Horst, R. L., & Kremer, R. (2002). Targeted disruption of the 25-hydroxyvitamin D3 1 α -hydroxylase gene in ras-transformed keratinocytes demonstrates that locally produced 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 suppresses growth and induces differentiation in an autocrine fashion. *Mol Cancer Res*, 1(1), 56-67.
- Huang, J., Ushiyama, T., Inoue, K., Kawasaki, T., & Hukuda, S. (2000). Vitamin D receptor gene polymorphisms and osteoarthritis of the hand, hip, and knee: a case-control study in Japan. *Rheumatology (Oxford)*, 39(1), 79-84. doi: 10.1093/rheumatology/39.1.79
- Huang, S. P., Chou, Y. H., Wayne Chang, W. S., Wu, M. T., Chen, Y. Y., Yu, C. C., . . . Huang, C. H. (2004). Association between vitamin D receptor polymorphisms and prostate cancer risk in a Taiwanese population. *Cancer Lett*, 207(1), 69-77. doi: 10.1016/j.canlet.2003.12.006
- Hughes, M. R., & Haussler, M. R. (1978). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 receptors in parathyroid glands. Preliminary characterization of cytoplasmic and nuclear binding components. *J Biol Chem*, 253(4), 1065-1073.
- Hullett, D. A., Cantorna, M. T., Redaelli, C., Humpal-Winter, J., Hayes, C. E., Sollinger, H. W., & Deluca, H. F. (1998). Prolongation of allograft survival by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Transplantation*, 66(7), 824-828. doi: 10.1097/00007890-199810150-00002
- Hustmyer, F. G., Peacock, M., Hui, S., Johnston, C. C., & Christian, J. (1994). Bone mineral density in relation to polymorphism at the vitamin D receptor gene locus. *J Clin Invest*, 94(5), 2130-2134. doi: 10.1172/jci117568

X. BIBLIOGRAFÍA

- Hutchinson, P. E., Osborne, J. E., Lear, J. T., Smith, A. G., Bowers, P. W., Morris, P. N., . . . Fryer, A. A. (2000). Vitamin D receptor polymorphisms are associated with altered prognosis in patients with malignant melanoma. *Clin Cancer Res*, 6(2), 498-504.
- Hypponen, E., Laara, E., Reunanen, A., Jarvelin, M. R., & Virtanen, S. M. (2001). Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet*, 358(9292), 1500-1503. doi: 10.1016/s0140-6736(01)06580-1
- IARC, W. G. (2008). Vitamin D and cancer *IARC Working Group Reports* (Vol. 5). Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- Ikuyama, T., Hamasaki, T., Inatomi, H., Katoh, T., Muratani, T., & Matsumoto, T. (2002). Association of vitamin D receptor gene polymorphism with renal cell carcinoma in Japanese. *Endocr J*, 49(4), 433-438.
- Ingles, S. A., Garcia, D. G., Wang, W., Nieters, A., Henderson, B. E., Kolonel, L. N., . . . Coetzee, G. A. (2000). Vitamin D receptor genotype and breast cancer in Latinas (United States). *Cancer Causes Control*, 11(1), 25-30.
- Ingles, S. A., Ross, R. K., Yu, M. C., Irvine, R. A., La Pera, G., Haile, R. W., & Coetzee, G. A. (1997). Association of prostate cancer risk with genetic polymorphisms in vitamin D receptor and androgen receptor. *J Natl Cancer Inst*, 89(2), 166-170.
- Institute-of-Medicine-of-the-National-Academies. (1997). Dietary reference intakes. *National Academy press Serial (Book, Monograph)*.
- Jackson, R. D., LaCroix, A. Z., Gass, M., Wallace, R. B., Robbins, J., Lewis, C. E., . . . Barad, D. (2006). Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of fractures. *N Engl J Med*, 354(7), 669-683. doi: 10.1056/NEJMoa055218
- Jain, R. K., Trump, D. L., Egorin, M. J., Fernandez, M., Johnson, C. S., & Ramanathan, R. K. (2011). A phase I study of the vitamin D3 analogue ILX23-7553 administered orally to patients with advanced solid tumors. *Invest New Drugs*, 29(6), 1420-1425. doi: 10.1007/s10637-010-9492-5
- Jarrard, D., Konety, B., Huang, W., Downs, T., Kolesar, J., Kim, K. M., . . . Bailey, H. H. (2016). Phase IIa, randomized placebo-controlled trial of single high dose cholecalciferol (vitamin D3) and daily Genistein (G-2535) versus double placebo

in men with early stage prostate cancer undergoing prostatectomy. *Am J Clin Exp Urol*, 4(2), 17-27.

Ji, Y., & Studzinski, G. P. (2004). Retinoblastoma protein and CCAAT/enhancer-binding protein beta are required for 1,25-dihydroxyvitamin D₃-induced monocytic differentiation of HL60 cells. *Cancer Res*, 64(1), 370-377.

Johansson, S., & Melhus, H. (2001). Vitamin A antagonizes calcium response to vitamin D in man. *J Bone Miner Res*, 16(10), 1899-1905. doi: 10.1359/jbmr.2001.16.10.1899

Jorgensen, T. J., Ruczinski, I., Yao Shugart, Y., Wheless, L., Berthier Schaad, Y., Kessing, B., . . . Alberg, A. J. (2012). A population-based study of hedgehog pathway gene variants in relation to the dual risk of basal cell carcinoma plus another cancer. *Cancer Epidemiol*, 36(5), e288-293. doi: 10.1016/j.canep.2012.05.001

Joseph, A. K., Mark, T. L., & Mueller, C. (2001). The period prevalence and costs of treating nonmelanoma skin cancers in patients over 65 years of age covered by medicare. *Dermatol Surg*, 27(11), 955-959.

Kadiyska, T., Yakulov, T., Kaneva, R., Nedin, D., Alexandrova, A., Gegova, A., . . . Kremensky, I. (2007). Vitamin D and estrogen receptor gene polymorphisms and the risk of colorectal cancer in Bulgaria. *Int J Colorectal Dis*, 22(4), 395-400. doi: 10.1007/s00384-006-0163-0

Kamei, Y., Kawada, T., Fukuwatari, T., Ono, T., Kato, S., & Sugimoto, E. (1995). Cloning and sequencing of the gene encoding the mouse vitamin D receptor. *Gene*, 152(2), 281-282.

Kamradt, J., Rafi, L., Mitschele, T., Meineke, V., Gartner, B. C., Wolfgang, T., . . . Reichrath, J. (2003). Analysis of the vitamin D system in cutaneous malignancies. *Recent Results Cancer Res*, 164, 259-269.

Karp, C. M., Pan, H., Zhang, M., Buckley, D. J., Schuler, L. A., & Buckley, A. R. (2004). Identification of HRPAP20: a novel phosphoprotein that enhances growth and survival in hormone-responsive tumor cells. *Cancer Res*, 64(3), 1016-1025.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Katsumata, K., Nishizawa, K., Unno, A., Fujita, Y., & Tokita, A. (2002). Association of gene polymorphisms and bone density in Japanese girls. *J Bone Miner Metab*, *20*(3), 164-169. doi: 10.1007/s007740200023
- Kechichian, E., & Ezzedine, K. (2018). Vitamin D and the Skin: An Update for Dermatologists. *Am J Clin Dermatol*, *19*(2), 223-235. doi: 10.1007/s40257-017-0323-8
- Keen, R. W., Hart, D. J., Lanchbury, J. S., & Spector, T. D. (1997). Association of early osteoarthritis of the knee with a Taq I polymorphism of the vitamin D receptor gene. *Arthritis Rheum*, *40*(8), 1444-1449. doi: 10.1002/art.1780400812
- Keen, R. W., Major, P. J., Lanchbury, J. S., & Spector, T. D. (1995). Vitamin-D-receptor-gene polymorphism and bone loss. *Lancet*, *345*(8955), 990.
- Kibel, A. S., Isaacs, S. D., Isaacs, W. B., & Bova, G. S. (1998). Vitamin D receptor polymorphisms and lethal prostate cancer. *J Urol*, *160*(4), 1405-1409.
- Kiel, D. P., Myers, R. H., Cupples, L. A., Kong, X. F., Zhu, X. H., Ordovas, J., . . . Holick, M. F. (1997). The BsmI vitamin D receptor restriction fragment length polymorphism (bb) influences the effect of calcium intake on bone mineral density. *J Bone Miner Res*, *12*(7), 1049-1057. doi: 10.1359/jbmr.1997.12.7.1049
- Kim, H. S., Newcomb, P. A., Ulrich, C. M., Keener, C. L., Bigler, J., Farin, F. M., . . . Potter, J. D. (2001). Vitamin D receptor polymorphism and the risk of colorectal adenomas: evidence of interaction with dietary vitamin D and calcium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, *10*(8), 869-874.
- Kimlin, M., Harrison, S., Nowak, M., Moore, M., Brodie, A., & Lang, C. (2007). Does a high UV environment ensure adequate vitamin D status? *J Photochem Photobiol B*, *89*(2-3), 139-147. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2007.09.008
- Kimlin, M. G., & Tenkate, T. D. (2007). Occupational exposure to ultraviolet radiation: the duality dilemma. *Rev Environ Health*, *22*(1), 1-37. doi: 10.1515/reveh.2007.22.1.1
- Kinney, D. K., Teixeira, P., Hsu, D., Napoleon, S. C., Crowley, D. J., Miller, A., . . . Huang, E. (2009). Relation of schizophrenia prevalence to latitude, climate, fish consumption, infant mortality, and skin color: a role for prenatal vitamin d

deficiency and infections? *Schizophr Bull*, 35(3), 582-595. doi: 10.1093/schbul/sbp023

Kizaki, M., Norman, A. W., Bishop, J. E., Lin, C. W., Karmakar, A., & Koeffler, H. P. (1991). 1,25-Dihydroxyvitamin D3 receptor RNA: expression in hematopoietic cells. *Blood*, 77(6), 1238-1247.

Kontula, K., Valimaki, S., Kainulainen, K., Viitanen, A. M., & Keski-Oja, J. (1997). Vitamin D receptor polymorphism and treatment of psoriasis with calcipotriol. *Br J Dermatol*, 136(6), 977-978.

Koshiyama, H., Sone, T., & Nakao, K. (1995). Vitamin-D-receptor-gene polymorphism and bone loss. *Lancet*, 345(8955), 990-991.

Kostner, K., Denzer, N., Koreng, M., Reichrath, S., Graber, S., Klein, R., . . . Reichrath, J. (2012). Association of genetic variants of the vitamin D receptor (VDR) with cutaneous squamous cell carcinomas (SCC) and basal cell carcinomas (BCC): a pilot study in a German population. *Anticancer Res*, 32(1), 327-333.

Kostner, K., Denzer, N., Muller, C. S., Klein, R., Tilgen, W., & Reichrath, J. (2009). The relevance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms for cancer: a review of the literature. *Anticancer Res*, 29(9), 3511-3536.

Krall, E. A., Parry, P., Lichter, J. B., & Dawson-Hughes, B. (1995). Vitamin D receptor alleles and rates of bone loss: influences of years since menopause and calcium intake. *J Bone Miner Res*, 10(6), 978-984. doi: 10.1002/jbmr.5650100620

Krause, R., Buhning, M., Hopfenmuller, W., Holick, M. F., & Sharma, A. M. (1998). Ultraviolet B and blood pressure. *Lancet*, 352(9129), 709-710. doi: 10.1016/s0140-6736(05)60827-6

Kream, B. E., Jose, M., Yamada, S., & DeLuca, H. F. (1977). A specific high-affinity binding macromolecule for 1,25-dihydroxyvitamin D3 in fetal bone. *Science*, 197(4308), 1086-1088.

Kroger, H., Mahonen, A., Ryhanen, S., Turunen, A. M., Alhava, E., & Maenpaa, P. (1995). Vitamin D receptor genotypes and bone mineral density. *Lancet*, 345(8959), 1238; author reply 1239.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Krohn, K., Haffner, D., Hugel, U., Himmele, R., Klaus, G., Mehls, O., & Schaefer, F. (2003). 1,25(OH)2D3 and dihydrotestosterone interact to regulate proliferation and differentiation of epiphyseal chondrocytes. *Calcif Tissue Int*, 73(4), 400-410. doi: 10.1007/s00223-002-2160-9
- Lamb, J., Ramaswamy, S., Ford, H. L., Contreras, B., Martinez, R. V., Kittrell, F. S., . . . Ewen, M. E. (2003). A mechanism of cyclin D1 action encoded in the patterns of gene expression in human cancer. *Cell*, 114(3), 323-334.
- Lander, E. S., Linton, L. M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, M. C., Baldwin, J., . . . Szustakowki, J. (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409(6822), 860-921. doi: 10.1038/35057062
- Langdahl, B. L., Gravholt, C. H., Brixen, K., & Eriksen, E. F. (2000). Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and bone mass, bone turnover and osteoporotic fractures. *Eur J Clin Invest*, 30(7), 608-617. doi: 10.1046/j.1365-2362.2000.00686.x
- Larsen, E. R., Mosekilde, L., & Foldspang, A. (2004). Vitamin D and calcium supplementation prevents osteoporotic fractures in elderly community dwelling residents: a pragmatic population-based 3-year intervention study. *J Bone Miner Res*, 19(3), 370-378. doi: 10.1359/jbmr.0301240
- Lau, E. M., Lam, V., Li, M., Ho, K., & Woo, J. (2002). Vitamin D receptor start codon polymorphism (Fok I) and bone mineral density in Chinese men and women. *Osteoporos Int*, 13(3), 218-221. doi: 10.1007/s001980200017
- Lefkowitz, E. S., & Garland, C. F. (1994). Sunlight, vitamin D, and ovarian cancer mortality rates in US women. *Int J Epidemiol*, 23(6), 1133-1136.
- Lesiak, A., Norval, M., Wodz-Naskiewicz, K., Pawliczak, R., Rogowski-Tylman, M., Sysa-Jedrzejowska, A., . . . Narbutt, J. (2011). An enhanced risk of basal cell carcinoma is associated with particular polymorphisms in the VDR and MTHFR genes. *Exp Dermatol*, 20(10), 800-804. doi: 10.1111/j.1600-0625.2011.01328.x
- Levy, S., Sutton, G., Ng, P. C., Feuk, L., Halpern, A. L., Walenz, B. P., . . . Venter, J. C. (2007). The diploid genome sequence of an individual human. *PLoS Biol*, 5(10), e254. doi: 10.1371/journal.pbio.0050254

- Lewis, S. J., Baker, I., & Davey Smith, G. (2005). Meta-analysis of vitamin D receptor polymorphisms and pulmonary tuberculosis risk. *Int J Tuberc Lung Dis*, *9*(10), 1174-1177.
- Li, C., Liu, Z., Wang, L. E., Gershenwald, J. E., Lee, J. E., Prieto, V. G., . . . Wei, Q. (2008). Haplotype and genotypes of the VDR gene and cutaneous melanoma risk in non-Hispanic whites in Texas: a case-control study. *Int J Cancer*, *122*(9), 2077-2084. doi: 10.1002/ijc.23357
- Li, C., Liu, Z., Zhang, Z., Strom, S. S., Gershenwald, J. E., Prieto, V. G., . . . Wei, Q. (2007). Genetic variants of the vitamin D receptor gene alter risk of cutaneous melanoma. *J Invest Dermatol*, *127*(2), 276-280. doi: 10.1038/sj.jid.5700544
- Li, H., Stampfer, M. J., Hollis, J. B., Mucci, L. A., Gaziano, J. M., Hunter, D., . . . Ma, J. (2007). A prospective study of plasma vitamin D metabolites, vitamin D receptor polymorphisms, and prostate cancer. *PLoS Med*, *4*(3), e103. doi: 10.1371/journal.pmed.0040103
- Li, P., Li, C., Zhao, X., Zhang, X., Nicosia, S. V., & Bai, W. (2004). p27(Kip1) stabilization and G(1) arrest by 1,25-dihydroxyvitamin D(3) in ovarian cancer cells mediated through down-regulation of cyclin E/cyclin-dependent kinase 2 and Skp1-Cullin-F-box protein/Skp2 ubiquitin ligase. *J Biol Chem*, *279*(24), 25260-25267. doi: 10.1074/jbc.M311052200
- Li, Y. C., Amling, M., Pirro, A. E., Priemel, M., Meuse, J., Baron, R., . . . Demay, M. B. (1998). Normalization of mineral ion homeostasis by dietary means prevents hyperparathyroidism, rickets, and osteomalacia, but not alopecia in vitamin D receptor-ablated mice. *Endocrinology*, *139*(10), 4391-4396. doi: 10.1210/endo.139.10.6262
- Lim, H. S., Roychoudhuri, R., Peto, J., Schwartz, G., Baade, P., & Moller, H. (2006). Cancer survival is dependent on season of diagnosis and sunlight exposure. *Int J Cancer*, *119*(7), 1530-1536. doi: 10.1002/ijc.22052
- Lim, S. K., Park, Y. S., Park, J. M., Song, Y. D., Lee, E. J., Kim, K. R., . . . Huh, K. B. (1995). Lack of association between vitamin D receptor genotypes and osteoporosis in Koreans. *J Clin Endocrinol Metab*, *80*(12), 3677-3681. doi: 10.1210/jcem.80.12.8530619

X. BIBLIOGRAFÍA

- Lin, Y., Chahal, H. S., Wu, W., Cho, H. G., Ransohoff, K. J., Dai, H., . . . Han, J. (2017). Association between genetic variation within vitamin D receptor-DNA binding sites and risk of basal cell carcinoma. *140(9)*, 2085-2091. doi: 10.1002/ijc.30634
- Lindelof, B., Sigurgeirsson, B., Tegner, E., Larko, O., Johannesson, A., Berne, B., . . . Emtestam, L. (1999). PUVA and cancer risk: the Swedish follow-up study. *Br J Dermatol*, *141(1)*, 108-112. doi: 10.1046/j.1365-2133.1999.02928.x
- Liu, G., Wilding, G., Staab, M. J., Horvath, D., Miller, K., Dresen, A., . . . Bailey, H. H. (2003). Phase II study of 1alpha-hydroxyvitamin D(2) in the treatment of advanced androgen-independent prostate cancer. *Clin Cancer Res*, *9(11)*, 4077-4083.
- Liu, J. H., Li, H. W., Wang, J. Q., Li, M., Xin, D. Q., Na, X., . . . Na, Y. Q. (2003). [Vitamin D receptor gene Bsm I polymorphism and the susceptibility to prostate cancer in northern Chinese Han population]. *Zhonghua Nan Ke Xue*, *9(6)*, 413-416.
- Liu, M., Lee, M. H., Cohen, M., Bommakanti, M., & Freedman, L. P. (1996). Transcriptional activation of the Cdk inhibitor p21 by vitamin D3 leads to the induced differentiation of the myelomonocytic cell line U937. *Genes Dev*, *10(2)*, 142-153.
- Lokeshwar, B. L. (1999). MMP inhibition in prostate cancer. *Ann N Y Acad Sci*, *878*, 271-289. doi: 10.1111/j.1749-6632.1999.tb07690.x
- Looney, J. E., Yoon, H. K., Fischer, M., Farley, S. M., Farley, J. R., Wergedal, J. E., & Baylink, D. J. (1995). Lack of a high prevalence of the BB vitamin D receptor genotype in severely osteoporotic women. *J Clin Endocrinol Metab*, *80(7)*, 2158-2162. doi: 10.1210/jcem.80.7.7608271
- Loughlin, J., Sinsheimer, J. S., Mustafa, Z., Carr, A. J., Clipsham, K., Bloomfield, V. A., . . . Chapman, K. (2000). Association analysis of the vitamin D receptor gene, the type I collagen gene COL1A1, and the estrogen receptor gene in idiopathic osteoarthritis. *J Rheumatol*, *27(3)*, 779-784.
- Lowe, L. C., Guy, M., Mansi, J. L., Peckitt, C., Bliss, J., Wilson, R. G., & Colston, K. W. (2005). Plasma 25-hydroxy vitamin D concentrations, vitamin D receptor genotype and breast cancer risk in a UK Caucasian population. *Eur J Cancer*, *41(8)*, 1164-1169. doi: 10.1016/j.ejca.2005.01.017

- Lucia, M. S., Anzano, M. A., Slayter, M. V., Anver, M. R., Green, D. M., Shrader, M. W., . . . et al. (1995). Chemopreventive activity of tamoxifen, N-(4-hydroxyphenyl)retinamide, and the vitamin D analogue Ro24-5531 for androgen-promoted carcinomas of the rat seminal vesicle and prostate. *Cancer Res*, *55*(23), 5621-5627.
- Lundin, A. C., Soderkvist, P., Eriksson, B., Bergman-Jungstrom, M., & Wingren, S. (1999). Association of breast cancer progression with a vitamin D receptor gene polymorphism. South-East Sweden Breast Cancer Group. *Cancer Res*, *59*(10), 2332-2334.
- Lurie, G., Wilkens, L. R., Thompson, P. J., McDuffie, K. E., Carney, M. E., Terada, K. Y., & Goodman, M. T. (2007). Vitamin D receptor gene polymorphisms and epithelial ovarian cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, *16*(12), 2566-2571. doi: 10.1158/1055-9965.epi-07-0753
- Luscombe, C. J., French, M. E., Liu, S., Saxby, M. F., Jones, P. W., Fryer, A. A., & Strange, R. C. (2001). Prostate cancer risk: associations with ultraviolet radiation, tyrosinase and melanocortin-1 receptor genotypes. *Br J Cancer*, *85*(10), 1504-1509. doi: 10.1054/bjoc.2001.2097
- Ma, J., Stampfer, M. J., Gann, P. H., Hough, H. L., Giovannucci, E., Kelsey, K. T., . . . Hunter, D. J. (1998). Vitamin D receptor polymorphisms, circulating vitamin D metabolites, and risk of prostate cancer in United States physicians. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, *7*(5), 385-390.
- MacLaughlin, J., & Holick, M. F. (1985). Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. *J Clin Invest*, *76*(4), 1536-1538. doi: 10.1172/jci112134
- Maistro, S., Snitcovsky, I., Sarkis, A. S., da Silva, I. A., & Brentani, M. M. (2004). Vitamin D receptor polymorphisms and prostate cancer risk in Brazilian men. *Int J Biol Markers*, *19*(3), 245-249.
- Malabanan, A., Veronikis, I. E., & Holick, M. F. (1998). Redefining vitamin D insufficiency. *Lancet*, *351*(9105), 805-806.
- Malecki, M. T., Frey, J., Moczulski, D., Klupa, T., Kozek, E., & Sieradzki, J. (2003). Vitamin D receptor gene polymorphisms and association with type 2 diabetes mellitus in

X. BIBLIOGRAFÍA

- a Polish population. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 111(8), 505-509. doi: 10.1055/s-2003-44711
- Mandelcorn-Monson, R., Marrett, L., Krickler, A., Armstrong, B. K., Orlow, I., Goumas, C., . . . Berwick, M. (2011). Sun exposure, vitamin D receptor polymorphisms FokI and BsmI and risk of multiple primary melanoma. *Cancer Epidemiol*, 35(6), e105-110. doi: 10.1016/j.canep.2011.03.003
- Marks, R., Staples, M., & Giles, G. G. (1993). Trends in non-melanocytic skin cancer treated in Australia: the second national survey. *Int J Cancer*, 53(4), 585-590. doi: 10.1002/ijc.2910530410
- Martinez, M. E., & Willett, W. C. (1998). Calcium, vitamin D, and colorectal cancer: a review of the epidemiologic evidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 7(2), 163-168.
- Marx, S. J., Blizotes, M. M., & Nanes, M. (1986). Analysis of the relation between alopecia and resistance to 1,25-dihydroxyvitamin D. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 25(4), 373-381. doi: 10.1111/j.1365-2265.1986.tb01703.x
- Mathiasen, I. S., Sergeev, I. N., Bastholm, L., Elling, F., Norman, A. W., & Jaattela, M. (2002). Calcium and calpain as key mediators of apoptosis-like death induced by vitamin D compounds in breast cancer cells. *J Biol Chem*, 277(34), 30738-30745. doi: 10.1074/jbc.M201558200
- Mathieu, C., & Badenhoop, K. (2005). Vitamin D and type 1 diabetes mellitus: state of the art. *Trends Endocrinol Metab*, 16(6), 261-266. doi: 10.1016/j.tem.2005.06.004
- Mathieu, C., Gysemans, C., Giuliatti, A., & Bouillon, R. (2005). Vitamin D and diabetes. *Diabetologia*, 48(7), 1247-1257. doi: 10.1007/s00125-005-1802-7
- Mathieu, C., Waer, M., Laureys, J., Rutgeerts, O., & Bouillon, R. (1994). Prevention of autoimmune diabetes in NOD mice by 1,25 dihydroxyvitamin D3. *Diabetologia*, 37(6), 552-558.
- Matsuyama, T., Ishii, S., Tokita, A., Yabuta, K., Yamamori, S., Morrison, N. A., & Eisman, J. A. (1995). Vitamin D receptor genotypes and bone mineral density. *Lancet*, 345(8959), 1238-1239.

- McCullough, M. L., Stevens, V. L., Diver, W. R., Feigelson, H. S., Rodriguez, C., Bostick, R. M., . . . Calle, E. E. (2007). Vitamin D pathway gene polymorphisms, diet, and risk of postmenopausal breast cancer: a nested case-control study. *Breast Cancer Res, 9*(1), R9. doi: 10.1186/bcr1642
- McDonnell, D. P., Mangelsdorf, D. J., Pike, J. W., Haussler, M. R., & O'Malley, B. W. (1987). Molecular cloning of complementary DNA encoding the avian receptor for vitamin D. *Science, 235*(4793), 1214-1217.
- Medeiros, R., Morais, A., Vasconcelos, A., Costa, S., Pinto, D., Oliveira, J., & Lopes, C. (2002). The role of vitamin D receptor gene polymorphisms in the susceptibility to prostate cancer of a southern European population. *J Hum Genet, 47*(8), 413-418. doi: 10.1007/s100380200060
- Melamed, M. L., Michos, E. D., Post, W., & Astor, B. (2008). 25-hydroxyvitamin D levels and the risk of mortality in the general population. *Arch Intern Med, 168*(15), 1629-1637. doi: 10.1001/archinte.168.15.1629
- Melhus, H., Kindmark, A., Amer, S., Wilen, B., Lindh, E., & Ljunghall, S. (1994). Vitamin D receptor genotypes in osteoporosis. *Lancet, 344*(8927), 949-950. doi: 10.1016/s0140-6736(94)92297-7
- Mellon, W. S., & DeLuca, H. F. (1979). An equilibrium and kinetic study of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ binding to chicken intestinal cytosol employing high specific activity 1,25-dehydroxy[³H-26, 27] vitamin D₃. *Arch Biochem Biophys, 197*(1), 90-95.
- Mikhak, B., Hunter, D. J., Spiegelman, D., Platz, E. A., Hollis, B. W., & Giovannucci, E. (2007). Vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms and haplotypes, interactions with plasma 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D, and prostate cancer risk. *Prostate, 67*(9), 911-923. doi: 10.1002/pros.20570
- Milazzo, V., De Metrio, M., Cosentino, N., Marenzi, G., & Tremoli, E. (2017). Vitamin D and acute myocardial infarction. *World J Cardiol, 9*(1), 14-20. doi: 10.4330/wjc.v9.i1.14
- Mitschele, T., Diesel, B., Friedrich, M., Meineke, V., Maas, R. M., Gartner, B. C., . . . Reichrath, J. (2004). Analysis of the vitamin D system in basal cell carcinomas (BCCs). *Lab Invest, 84*(6), 693-702. doi: 10.1038/labinvest.3700096

X. BIBLIOGRAFÍA

- Miyamoto, K., Kesterson, R. A., Yamamoto, H., Taketani, Y., Nishiwaki, E., Tatsumi, S., . . . Pike, J. W. (1997). Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. *Mol Endocrinol*, *11*(8), 1165-1179. doi: 10.1210/mend.11.8.9951
- Mocellin, S., & Nitti, D. (2008). Vitamin D receptor polymorphisms and the risk of cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis. *Cancer*, *113*(9), 2398-2407. doi: 10.1002/cncr.23867
- Morgese, F., Soldato, D., Pagliaretta, S., Giampieri, R., Brancorsini, D., Torniai, M., . . . Berardi, R. (2017). Impact of phosphoinositide-3-kinase and vitamin D3 nuclear receptor single-nucleotide polymorphisms on the outcome of malignant melanoma patients. *Oncotarget*, *8*(44), 75914-75923. doi: 10.18632/oncotarget.18304
- Morimoto, S., & Kumahara, Y. (1985). A patient with psoriasis cured by 1 alpha-hydroxyvitamin D3. *Med J Osaka Univ*, *35*(3-4), 51-54.
- Morrison, N. A., Qi, J. C., Tokita, A., Kelly, P. J., Crofts, L., Nguyen, T. V., . . . Eisman, J. A. (1994). Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature*, *367*(6460), 284-287. doi: 10.1038/367284a0
- Morrison, N. A., Yeoman, R., Kelly, P. J., & Eisman, J. A. (1992). Contribution of transacting factor alleles to normal physiological variability: vitamin D receptor gene polymorphism and circulating osteocalcin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *89*(15), 6665-6669.
- Mossetti, G., Vuotto, P., Rendina, D., Numis, F. G., Viceconti, R., Giordano, F., . . . Nunziata, V. (2003). Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and tubular citrate handling in calcium nephrolithiasis. *J Intern Med*, *253*(2), 194-200.
- Motohashi, Y., Yamada, S., Yanagawa, T., Maruyama, T., Suzuki, R., Niino, M., . . . Saruta, T. (2003). Vitamin D receptor gene polymorphism affects onset pattern of type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, *88*(7), 3137-3140. doi: 10.1210/jc.2002-021881
- Muir, S. W., & Montero-Odasso, M. (2011). Effect of vitamin D supplementation on muscle strength, gait and balance in older adults: a systematic review and meta-

analysis. *J Am Geriatr Soc*, 59(12), 2291-2300. doi: 10.1111/j.1532-5415.2011.03733.x

Mundial, A. M. (Producer). (1964, 2020). Declaración de Helsinki de la AMM. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Retrieved from <https://www.wma.net/es/policias-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>

Murray, S., Parisi, E., Cardus, A., Craver, L., & Fernandez, E. (2003). Influence of vitamin D receptor gene polymorphisms and 25-hydroxyvitamin D on blood pressure in apparently healthy subjects. *J Hypertens*, 21(11), 2069-2075. doi: 10.1097/01.hjh.0000098139.70956.21

Muscogiuri, G., Annweiler, C., Duval, G., Karras, S., Tirabassi, G., Salvio, G., . . . Colao, A. (2017). Vitamin D and cardiovascular disease: From atherosclerosis to myocardial infarction and stroke. *Int J Cardiol*, 230, 577-584. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.12.053

Nakagawa, K., Kawaura, A., Kato, S., Takeda, E., & Okano, T. (2004). Metastatic growth of lung cancer cells is extremely reduced in Vitamin D receptor knockout mice. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 89-90(1-5), 545-547. doi: 10.1016/j.jsbmb.2004.03.066

Nejentsev, S., Godfrey, L., Snook, H., Rance, H., Nutland, S., Walker, N. M., . . . Todd, J. A. (2004). Comparative high-resolution analysis of linkage disequilibrium and tag single nucleotide polymorphisms between populations in the vitamin D receptor gene. *Hum Mol Genet*, 13(15), 1633-1639. doi: 10.1093/hmg/ddh169

Ng, K., Scott, J. B., Drake, B. F., Chan, A. T., Hollis, B. W., Chandler, P. D., . . . Fuchs, C. S. (2014). Dose response to vitamin D supplementation in African Americans: results of a 4-arm, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr*, 99(3), 587-598. doi: 10.3945/ajcn.113.067777

Niino, M., Fukazawa, T., Yabe, I., Kikuchi, S., Sasaki, H., & Tashiro, K. (2000). Vitamin D receptor gene polymorphism in multiple sclerosis and the association with HLA class II alleles. *J Neurol Sci*, 177(1), 65-71. doi: 10.1016/s0022-510x(00)00336-1

X. BIBLIOGRAFÍA

- Nishijima, S., Sugaya, K., Naito, A., Morozumi, M., Hatano, T., & Ogawa, Y. (2002). Association of vitamin D receptor gene polymorphism with urolithiasis. *J Urol*, *167*(5), 2188-2191.
- Norman, A. W., Song, X., Zanello, L., Bula, C., & Okamura, W. H. (1999). Rapid and genomic biological responses are mediated by different shapes of the agonist steroid hormone, 1 α ,25(OH) $_2$ vitamin D $_3$. *Steroids*, *64*(1-2), 120-128. doi: 10.1016/s0039-128x(98)00091-9
- Ntais, C., Polycarpou, A., & Ioannidis, J. P. (2003). Vitamin D receptor gene polymorphisms and risk of prostate cancer: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, *12*(12), 1395-1402.
- Oakley-Girvan, I., Feldman, D., Eccleshall, T. R., Gallagher, R. P., Wu, A. H., Kolonel, L. N., . . . Whittemore, A. S. (2004). Risk of early-onset prostate cancer in relation to germ line polymorphisms of the vitamin D receptor. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, *13*(8), 1325-1330.
- Obara, W., Suzuki, Y., Kato, K., Tanji, S., Konda, R., & Fujioka, T. (2007). Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with increased risk and progression of renal cell carcinoma in a Japanese population. *Int J Urol*, *14*(6), 483-487. doi: 10.1111/j.1442-2042.2007.01771.x
- Oberyszyn, T. M. (2008). Non-melanoma skin cancer: importance of gender, immunosuppressive status and vitamin D. *Cancer Lett*, *261*(2), 127-136. doi: 10.1016/j.canlet.2008.01.009
- Okano, T. (2005). [Vitamin D, K and bone mineral density]. *Clin Calcium*, *15*(9), 1489-1494. doi: CliCa14891500
- Onsory, K., Sobti, R. C., Al-Badran, A. I., Watanabe, M., Shiraishi, T., Krishan, A., . . . Kaur, P. (2008). Hormone receptor-related gene polymorphisms and prostate cancer risk in North Indian population. *Mol Cell Biochem*, *314*(1-2), 25-35. doi: 10.1007/s11010-008-9761-1
- Organización-Médica-Colegial-de-España. (2009). Los niveles de Vitamina D Total, un nuevo marcador para indicar si una persona sufrirá un cáncer, una enfermedad inflamatoria o inmunológica. Retrieved from

<http://www.medicospacientes.com/articulo/los-niveles-de-vitamina-d-total-un-nuevo-marcador-para-indicar-si-una-persona-sufrir%C3%A1-un>

- Orlow, I., Reiner, A. S., Thomas, N. E., Roy, P., Kanetsky, P. A., Luo, L., . . . Berwick, M. (2016). Vitamin D receptor polymorphisms and survival in patients with cutaneous melanoma: a population-based study. *Carcinogenesis*, 37(1), 30-38. doi: 10.1093/carcin/bgv157
- Orlow, I., Roy, P., Reiner, A. S., Yoo, S., Patel, H., Paine, S., . . . Berwick, M. (2012). Vitamin D receptor polymorphisms in patients with cutaneous melanoma. *Int J Cancer*, 130(2), 405-418. doi: 10.1002/ijc.26023
- Orlow, I., Shi, Y., Kanetsky, P. A., Thomas, N. E., Luo, L., Corrales-Guerrero, S., & Cust, A. E. (2018). The interaction between vitamin D receptor polymorphisms and sun exposure around time of diagnosis influences melanoma survival. *31(2)*, 287-296. doi: 10.1111/pcmr.12653
- Ortlepp, J. R., Krantz, C., Kimmel, M., von Korff, A., Vesper, K., Schmitz, F., . . . Hoffmann, R. (2005). Additive effects of the chemokine receptor 2, vitamin D receptor, interleukin-6 polymorphisms and cardiovascular risk factors on the prevalence of myocardial infarction in patients below 65 years. *Int J Cardiol*, 105(1), 90-95. doi: 10.1016/j.ijcard.2005.03.004
- Ortlepp, J. R., Lauscher, J., Hoffmann, R., Hanrath, P., & Joost, H. G. (2001). The vitamin D receptor gene variant is associated with the prevalence of type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *Diabet Med*, 18(10), 842-845.
- Ortlepp, J. R., von Korff, A., Hanrath, P., Zerres, K., & Hoffmann, R. (2003). Vitamin D receptor gene polymorphism BsmI is not associated with the prevalence and severity of CAD in a large-scale angiographic cohort of 3441 patients. *Eur J Clin Invest*, 33(2), 106-109. doi: 10.1046/j.1365-2362.2003.01124.x
- Ozaki, Y., Nomura, S., Nagahama, M., Yoshimura, C., Kagawa, H., & Fukuhara, S. (2000). Vitamin-D receptor genotype and renal disorder in Japanese patients with systemic lupus erythematosus. *Nephron*, 85(1), 86-91. doi: 10.1159/000045635
- Ozkaya, O., Soylemezoglu, O., Misirlioglu, M., Gonen, S., Buyan, N., & Hasanoglu, E. (2003). Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and the risk of calcium nephrolithiasis in children. *Eur Urol*, 44(1), 150-154.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Partridge, J. M., Weatherby, S. J., Woolmore, J. A., Highland, D. J., Fryer, A. A., Mann, C. L., . . . Hawkins, C. P. (2004). Susceptibility and outcome in MS: associations with polymorphisms in pigmentation-related genes. *Neurology*, *62*(12), 2323-2325. doi: 10.1212/wnl.62.12.2323
- Pascual, J. C., Belinchon, I., Ramos, J. M., Blanes, M., & Betlloch, I. (2004). Skin tumors in patients aged 90 years and older. *Dermatol Surg*, *30*(7), 1017-1019; discussion 1019-1020. doi: 10.1111/j.1524-4725.2004.30307.x
- Peacock, M. (1995). Vitamin D receptor gene alleles and osteoporosis: a contrasting view. *J Bone Miner Res*, *10*(9), 1294-1297. doi: 10.1002/jbmr.5650100904
- Pereira, F., Larriba, M. J., & Munoz, A. (2012). Vitamin D and colon cancer. *Endocr Relat Cancer*, *19*(3), R51-71. doi: 10.1530/erc-11-0388
- Pike, J. W. (1982). Receptors for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in chick pancreas: a partial physical and functional characterization. *J Steroid Biochem*, *16*(3), 385-395.
- Pike, J. W., & Meyer, M. B. (2012). The vitamin D receptor: new paradigms for the regulation of gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Rheum Dis Clin North Am*, *38*(1), 13-27. doi: 10.1016/j.rdc.2012.03.004
- Pollock, P. M., Pearson, J. V., & Hayward, N. K. (1996). Compilation of somatic mutations of the CDKN2 gene in human cancers: non-random distribution of base substitutions. *Genes Chromosomes Cancer*, *15*(2), 77-88. doi: 10.1002/(sici)1098-2264(199602)15:2<77::aid-gcc1>3.0.co;2-0
- Ramos-Lopez, E., Kurylowicz, A., Bednarczuk, T., Paunkovic, J., Seidl, C., & Badenhoop, K. (2005). Vitamin D receptor polymorphisms are associated with Graves' disease in German and Polish but not in Serbian patients. *Thyroid*, *15*(10), 1125-1130. doi: 10.1089/thy.2005.15.1125
- Randerson-Moor, J. A., Taylor, J. C., Elliott, F., Chang, Y. M., Beswick, S., Kukulizch, K., . . . Bishop, J. A. (2009). Vitamin D receptor gene polymorphisms, serum 25-hydroxyvitamin D levels, and melanoma: UK case-control comparisons and a meta-analysis of published VDR data. *Eur J Cancer*, *45*(18), 3271-3281. doi: 10.1016/j.ejca.2009.06.011

- Reich, D. E., Cargill, M., Bolk, S., Ireland, J., Sabeti, P. C., Richter, D. J., . . . Lander, E. S. (2001). Linkage disequilibrium in the human genome. *Nature*, *411*(6834), 199-204. doi: 10.1038/35075590
- Reichrath, J., Rafi, L., Rech, M., Meineke, V., Tilgen, W., & Seifert, M. (2004). No evidence for amplification of 25-hydroxyvitamin D-1alpha-OHase (1alpha-OHase) or 1,25-dihydroxyvitamin D-24-OHase (24-OHase) genes in malignant melanoma (MM). *J Steroid Biochem Mol Biol*, *89-90*(1-5), 163-166. doi: 10.1016/j.jsbmb.2004.03.096
- Reichrath, J., Saternus, R., & Vogt, T. (2017). Endocrine actions of vitamin D in skin: Relevance for photocarcinogenesis of non-melanoma skin cancer, and beyond. *Mol Cell Endocrinol*, *453*, 96-102. doi: 10.1016/j.mce.2017.05.001
- Reizner, G. T., Chuang, T. Y., Elpern, D. J., Stone, J. L., & Farmer, E. R. (1993). Basal cell carcinoma in Kauai, Hawaii: the highest documented incidence in the United States. *J Am Acad Dermatol*, *29*(2 Pt 1), 184-189. doi: 10.1016/0190-9622(93)70165-p
- Riggs, B. L., Nguyen, T. V., Melton, L. J., 3rd, Morrison, N. A., O'Fallon, W. M., Kelly, P. J., . . . Eisman, J. A. (1995). The contribution of vitamin D receptor gene alleles to the determination of bone mineral density in normal and osteoporotic women. *J Bone Miner Res*, *10*(6), 991-996. doi: 10.1002/jbmr.5650100622
- Robsahm, T. E., Tretli, S., Dahlback, A., & Moan, J. (2004). Vitamin D3 from sunlight may improve the prognosis of breast-, colon- and prostate cancer (Norway). *Cancer Causes Control*, *15*(2), 149-158. doi: 10.1023/b:caco.0000019494.34403.09
- Rohde, C. M., Manatt, M., Clagett-Dame, M., & DeLuca, H. F. (1999). Vitamin A antagonizes the action of vitamin D in rats. *J Nutr*, *129*(12), 2246-2250.
- Rostand, S. G. (1997). Ultraviolet light may contribute to geographic and racial blood pressure differences. *Hypertension*, *30*(2 Pt 1), 150-156.
- Rubin, L. A., Hawker, G. A., Peltekova, V. D., Fielding, L. J., Ridout, R., & Cole, D. E. (1999). Determinants of peak bone mass: clinical and genetic analyses in a young female Canadian cohort. *J Bone Miner Res*, *14*(4), 633-643. doi: 10.1359/jbmr.1999.14.4.633

X. BIBLIOGRAFÍA

- Ruggiero, M., Pacini, S., Amato, M., Aterini, S., & Chiarugi, V. (1999). Association between vitamin D receptor gene polymorphism and nephrolithiasis. *Miner Electrolyte Metab*, 25(3), 185-190. doi: 57443
- Ruggiero, M., Pacini, S., Aterini, S., Fallai, C., Ruggiero, C., & Pacini, P. (1998). Vitamin D receptor gene polymorphism is associated with metastatic breast cancer. *Oncol Res*, 10(1), 43-46.
- Sachidanandam, R., Weissman, D., Schmidt, S. C., Kakol, J. M., Stein, L. D., Marth, G., . . . Altshuler, D. (2001). A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature*, 409(6822), 928-933. doi: 10.1038/35057149
- Sainz, J., Van Tornout, J. M., Loro, M. L., Sayre, J., Roe, T. F., & Gilsanz, V. (1997). Vitamin D-receptor gene polymorphisms and bone density in prepubertal American girls of Mexican descent. *N Engl J Med*, 337(2), 77-82. doi: 10.1056/nejm199707103370202
- Sandgren, M. E., Bronnegard, M., & DeLuca, H. F. (1991). Tissue distribution of the 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor in the male rat. *Biochem Biophys Res Commun*, 181(2), 611-616.
- Santonocito, C., Capizzi, R., Concolino, P., Lavieri, M. M., Paradisi, A., Gentileschi, S., . . . Capoluongo, E. (2007). Association between cutaneous melanoma, Breslow thickness and vitamin D receptor Bsm1 polymorphism. *Br J Dermatol*, 156(2), 277-282. doi: 10.1111/j.1365-2133.2006.07620.x
- Sauer, B., Ruwisch, L., & Kleuser, B. (2003). Antiapoptotic action of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 in primary human melanocytes. *Melanoma Res*, 13(4), 339-347. doi: 10.1097/01.cmr.0000056248.56735.17
- Scrivener, Y., Grosshans, E., & Cribier, B. (2002). Variations of basal cell carcinomas according to gender, age, location and histopathological subtype. *Br J Dermatol*, 147(1), 41-47.
- Schafer, A., Emmert, S., Kruppa, J., Schubert, S., Tzvetkov, M., Mossner, R., . . . Reichrath, J. (2012). No association of vitamin D metabolism-related polymorphisms and melanoma risk as well as melanoma prognosis: a case-control study. *Arch Dermatol Res*, 304(5), 353-361. doi: 10.1007/s00403-012-1243-3

- Schottker, B., Jorde, R., Peasey, A., Thorand, B., Jansen, E. H., Groot, L., . . . Brenner, H. (2014). Vitamin D and mortality: meta-analysis of individual participant data from a large consortium of cohort studies from Europe and the United States. *Bmj*, *348*, g3656. doi: 10.1136/bmj.g3656
- Schwartz, G. G., Hill, C. C., Oeler, T. A., Becich, M. J., & Bahnson, R. R. (1995). 1,25-Dihydroxy-16-ene-23-yne-vitamin D3 and prostate cancer cell proliferation in vivo. *Urology*, *46*(3), 365-369. doi: 10.1016/s0090-4295(99)80221-0
- Schwartz, G. G., & Hulka, B. S. (1990). Is vitamin D deficiency a risk factor for prostate cancer? (Hypothesis). *Anticancer Res*, *10*(5a), 1307-1311.
- Schwartz, G. G., Whitlatch, L. W., Chen, T. C., Lokeshwar, B. L., & Holick, M. F. (1998). Human prostate cells synthesize 1,25-dihydroxyvitamin D3 from 25-hydroxyvitamin D3. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, *7*(5), 391-395.
- Seifert, M., Rech, M., Meineke, V., Tilgen, W., & Reichrath, J. (2004). Differential biological effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on melanoma cell lines in vitro. *J Steroid Biochem Mol Biol*, *89-90*(1-5), 375-379. doi: 10.1016/j.jsbmb.2004.03.002
- Sertznig, P., Seifert, M., Tilgen, W., & Reichrath, J. (2009). Activation of vitamin D receptor (VDR)- and peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)-signaling pathways through 1,25(OH)(2)D(3) in melanoma cell lines and other skin-derived cell lines. *Dermatoendocrinol*, *1*(4), 232-238. doi: 10.4161/derm.1.4.9629
- Shin, M. H., Holmes, M. D., Hankinson, S. E., Wu, K., Colditz, G. A., & Willett, W. C. (2002). Intake of dairy products, calcium, and vitamin d and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst*, *94*(17), 1301-1311.
- Sillanpaa, P., Hirvonen, A., Kataja, V., Eskelinen, M., Kosma, V. M., Uusitupa, M., . . . Mitrunen, K. (2004). Vitamin D receptor gene polymorphism as an important modifier of positive family history related breast cancer risk. *Pharmacogenetics*, *14*(4), 239-245.
- Simmons, J. D., Mullighan, C., Welsh, K. I., & Jewell, D. P. (2000). Vitamin D receptor gene polymorphism: association with Crohn's disease susceptibility. *Gut*, *47*(2), 211-214. doi: 10.1136/gut.47.2.211

X. BIBLIOGRAFÍA

- Simpson, R. U., & DeLuca, H. F. (1980). Characterization of a receptor-like protein for 1,25-dihydroxyvitamin D3 in rat skin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 77(10), 5822-5826.
- Skrabic, V., Zemunik, T., Situm, M., & Terzic, J. (2003). Vitamin D receptor polymorphism and susceptibility to type 1 diabetes in the Dalmatian population. *Diabetes Res Clin Pract*, 59(1), 31-35.
- Slatter, M. L., Yakumo, K., Hoffman, M., & Neuhausen, S. (2001). Variants of the VDR gene and risk of colon cancer (United States). *Cancer Causes Control*, 12(4), 359-364.
- Slattery, M. L., Murtaugh, M., Caan, B., Ma, K. N., Wolff, R., & Samowitz, W. (2004). Associations between BMI, energy intake, energy expenditure, VDR genotype and colon and rectal cancers (United States). *Cancer Causes Control*, 15(9), 863-872. doi: 10.1007/s10552-004-1048-6
- Slattery, M. L., Neuhausen, S. L., Hoffman, M., Caan, B., Curtin, K., Ma, K. N., & Samowitz, W. (2004). Dietary calcium, vitamin D, VDR genotypes and colorectal cancer. *Int J Cancer*, 111(5), 750-756. doi: 10.1002/ijc.20330
- Slominski, A., Janjetovic, Z., Tuckey, R. C., Nguyen, M. N., Bhattacharya, K. G., Wang, J., . . . Postlethwaite, A. E. (2013). 20S-hydroxyvitamin D3, noncalcemic product of CYP11A1 action on vitamin D3, exhibits potent antifibrogenic activity in vivo. *J Clin Endocrinol Metab*, 98(2), E298-303. doi: 10.1210/jc.2012-3074
- Slominski, A., Kim, T. K., Zmijewski, M. A., Janjetovic, Z., Li, W., Chen, J., . . . Tuckey, R. C. (2013). Novel vitamin D photoproducts and their precursors in the skin. *Dermatoendocrinol*, 5(1), 7-19. doi: 10.4161/derm.23938
- Slominski, A. T., Janjetovic, Z., Fuller, B. E., Zmijewski, M. A., Tuckey, R. C., Nguyen, M. N., . . . Holick, M. F. (2010). Products of vitamin D3 or 7-dehydrocholesterol metabolism by cytochrome P450scc show anti-leukemia effects, having low or absent calcemic activity. *PLoS One*, 5(3), e9907. doi: 10.1371/journal.pone.0009907
- Sniadecki, M. W. J. (1939). Mozołowski W. Jędrzej Sniadecki (1768-1838) on the Cure of Rickets. *Nature*, 143(121). doi: <http://dx.doi.org/10.1038/143121a0>

- Soares, A. M., Szejnfeld, V. L., Enokihara, M. Y., Michalany, N., & Castro, C. H. (2018). High serum 25-hydroxyvitamin D concentration in patients with a recent diagnosis of non-melanoma skin cancer: a case-control study. *Eur J Dermatol*, *28*(5), 649-653. doi: 10.1684/ejd.2018.3401
- Speer, G., Cseh, K., Winkler, G., Vargha, P., Braun, E., Takacs, I., & Lakatos, P. (2001). Vitamin D and estrogen receptor gene polymorphisms in type 2 diabetes mellitus and in android type obesity. *Eur J Endocrinol*, *144*(4), 385-389.
- Steckley, J. L., Dyment, D. A., Sadovnick, A. D., Risch, N., Hayes, C., & Ebers, G. C. (2000). Genetic analysis of vitamin D related genes in Canadian multiple sclerosis patients. Canadian Collaborative Study Group. *Neurology*, *54*(3), 729-732. doi: 10.1212/wnl.54.3.729
- Stefanic, M., Karner, I., Glavas-Obrovac, L., Papic, S., Vrdoljak, D., Levak, G., & Krstonosic, B. (2005). Association of vitamin D receptor gene polymorphism with susceptibility to Graves' disease in Eastern Croatian population: case-control study. *Croat Med J*, *46*(4), 639-646.
- Stumpf, W. E., & Denny, M. E. (1989). Vitamin D (solatriol), light, and reproduction. *Am J Obstet Gynecol*, *161*(5), 1375-1384.
- Stumpf, W. E., Sar, M., Clark, S. A., & DeLuca, H. F. (1982). Brain target sites for 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Science*, *215*(4538), 1403-1405.
- Sundaram, S., Sea, A., Feldman, S., Strawbridge, R., Hoopes, P. J., Demidenko, E., . . . Gewirtz, D. A. (2003). The combination of a potent vitamin D3 analog, EB 1089, with ionizing radiation reduces tumor growth and induces apoptosis of MCF-7 breast tumor xenografts in nude mice. *Clin Cancer Res*, *9*(6), 2350-2356.
- Sweeney, C., Curtin, K., Murtaugh, M. A., Caan, B. J., Potter, J. D., & Slattery, M. L. (2006). Haplotype analysis of common vitamin D receptor variants and colon and rectal cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, *15*(4), 744-749. doi: 10.1158/1055-9965.epi-05-0814
- Sylvia, V. L., Schwartz, Z., Ellis, E. B., Helm, S. H., Gomez, R., Dean, D. D., & Boyan, B. D. (1996). Nongenomic regulation of protein kinase C isoforms by the vitamin D metabolites 1 alpha,25-(OH)2D3 and 24R,25-(OH)2D3. *J Cell Physiol*, *167*(3), 380-393. doi: 10.1002/(sici)1097-4652(199606)167:3<380::aid-jcp2>3.0.co;2-l

X. BIBLIOGRAFÍA

- Tajouri, L., Ovcarić, M., Curtain, R., Johnson, M. P., Griffiths, L. R., Csurhes, P., . . . Lea, R. A. (2005). Variation in the vitamin D receptor gene is associated with multiple sclerosis in an Australian population. *J Neurogenet*, *19*(1), 25-38. doi: 10.1080/01677060590949692
- Tang, J. Y., Fu, T., Lau, C., Oh, D. H., Bikle, D. D., & Asgari, M. M. (2012). Vitamin D in cutaneous carcinogenesis: part II. *J Am Acad Dermatol*, *67*(5), 817.e811-811; quiz 827-818. doi: 10.1016/j.jaad.2012.07.022
- Tang, J. Y., Fu, T., Leblanc, E., Manson, J. E., Feldman, D., Linos, E., . . . Stefanick, M. L. (2011). Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of nonmelanoma and melanoma skin cancer: post hoc analyses of the women's health initiative randomized controlled trial. *J Clin Oncol*, *29*(22), 3078-3084. doi: 10.1200/jco.2011.34.5967
- Tang, J. Y., Parimi, N., Wu, A., Boscardin, W. J., Shikany, J. M., Chren, M. M., . . . Bauer, D. C. (2010). Inverse association between serum 25(OH) vitamin D levels and non-melanoma skin cancer in elderly men. *Cancer Causes Control*, *21*(3), 387-391. doi: 10.1007/s10552-009-9470-4
- Tang, J. Y., Xiao, T. Z., Oda, Y., Chang, K. S., Shpall, E., Wu, A., . . . Epstein, E. H., Jr. (2011). Vitamin D3 inhibits hedgehog signaling and proliferation in murine Basal cell carcinomas. *Cancer Prev Res (Phila)*, *4*(5), 744-751. doi: 10.1158/1940-6207.capr-10-0285
- Tangpricha, V., Koutkia, P., Rieke, S. M., Chen, T. C., Perez, A. A., & Holick, M. F. (2003). Fortification of orange juice with vitamin D: a novel approach for enhancing vitamin D nutritional health. *Am J Clin Nutr*, *77*(6), 1478-1483.
- Tayeb, M. T., Clark, C., Haites, N. E., Sharp, L., Murray, G. I., & McLeod, H. L. (2003). CYP3A4 and VDR gene polymorphisms and the risk of prostate cancer in men with benign prostate hyperplasia. *Br J Cancer*, *88*(6), 928-932. doi: 10.1038/sj.bjc.6600825
- Tayeb, M. T., Clark, C., Haites, N. E., Sharp, L., Murray, G. I., & McLeod, H. L. (2004). Vitamin D receptor, HER-2 polymorphisms and risk of prostate cancer in men with benign prostate hyperplasia. *Saudi Med J*, *25*(4), 447-451.

- Taylor, J. A., Hirvonen, A., Watson, M., Pittman, G., Mohler, J. L., & Bell, D. A. (1996). Association of prostate cancer with vitamin D receptor gene polymorphism. *Cancer Res*, *56*(18), 4108-4110.
- Thakkinstian, A., D'Este, C., & Attia, J. (2004). Haplotype analysis of VDR gene polymorphisms: a meta-analysis. *Osteoporos Int*, *15*(9), 729-734. doi: 10.1007/s00198-004-1601-x
- Thakkinstian, A., D'Este, C., Eisman, J., Nguyen, T., & Attia, J. (2004). Meta-analysis of molecular association studies: vitamin D receptor gene polymorphisms and BMD as a case study. *J Bone Miner Res*, *19*(3), 419-428. doi: 10.1359/jbmr.0301265
- Thorne, J., & Campbell, M. J. (2008). The vitamin D receptor in cancer. *Proc Nutr Soc*, *67*(2), 115-127. doi: 10.1017/s0029665108006964
- Torres, A., Machado, M., Concepcion, M. T., Martin, N., Lorenzo, V., Hernandez, D., . . . Salido, E. (1996). Influence of vitamin D receptor genotype on bone mass changes after renal transplantation. *Kidney Int*, *50*(5), 1726-1733.
- Touma, Z., Eder, L., Zisman, D., Feld, J., Chandran, V., Rosen, C. F., . . . Gladman, D. D. (2011). Seasonal variation in vitamin D levels in psoriatic arthritis patients from different latitudes and its association with clinical outcomes. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, *63*(10), 1440-1447.
- Trabert, B., Malone, K. E., Daling, J. R., Doody, D. R., Bernstein, L., Ursin, G., . . . Ostrander, E. A. (2007). Vitamin D receptor polymorphisms and breast cancer risk in a large population-based case-control study of Caucasian and African-American women. *Breast Cancer Res*, *9*(6), R84. doi: 10.1186/bcr1833
- Trivedi, D. P., Doll, R., & Khaw, K. T. (2003). Effect of four monthly oral vitamin D3 (cholecalciferol) supplementation on fractures and mortality in men and women living in the community: randomised double blind controlled trial. *Bmj*, *326*(7387), 469. doi: 10.1136/bmj.326.7387.469
- Tsai, K. Y., & Tsao, H. (2004). The genetics of skin cancer. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, *131c*(1), 82-92. doi: 10.1002/ajmg.c.30037

X. BIBLIOGRAFÍA

- Tsai, T. Y., Kuo, C. Y., & Huang, Y. C. (2020). The association between serum vitamin D level and risk and prognosis of melanoma: a systematic review and meta-analysis. doi: 10.1111/jdv.16189
- Tsukamoto, Y., Heishi, M., Nagaba, Y., Kobayashi, N., Nomura, Y., Takahashi, K., & Tazawa, H. (1996). More on hyperparathyroidism and the vitamin D receptor. *Nat Med*, 2(11), 1162.
- Turpeinen, H., Hermann, R., Vaara, S., Laine, A. P., Simell, O., Knip, M., . . . Ilonen, J. (2003). Vitamin D receptor polymorphisms: no association with type 1 diabetes in the Finnish population. *Eur J Endocrinol*, 149(6), 591-596.
- Uitterlinden, A. G., Burger, H., Huang, Q., Odding, E., Duijn, C. M., Hofman, A., . . . Pols, H. A. (1997). Vitamin D receptor genotype is associated with radiographic osteoarthritis at the knee. *J Clin Invest*, 100(2), 259-263. doi: 10.1172/jci119530
- Uitterlinden, A. G., Fang, Y., Van Meurs, J. B., Pols, H. A., & Van Leeuwen, J. P. (2004). Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene*, 338(2), 143-156. doi: 10.1016/j.gene.2004.05.014
- Uitterlinden, A. G., Pols, H. A., Burger, H., Huang, Q., Van Daele, P. L., Van Duijn, C. M., . . . Van Leeuwen, J. P. (1996). A large-scale population-based study of the association of vitamin D receptor gene polymorphisms with bone mineral density. *J Bone Miner Res*, 11(9), 1241-1248. doi: 10.1002/jbmr.5650110908
- Valdivielso, J. M., & Fernandez, E. (2006). Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clin Chim Acta*, 371(1-2), 1-12. doi: 10.1016/j.cca.2006.02.016
- Valrance, M. E., & Welsh, J. (2004). Breast cancer cell regulation by high-dose Vitamin D compounds in the absence of nuclear vitamin D receptor. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 89-90(1-5), 221-225. doi: 10.1016/j.jsbmb.2004.03.082
- van Dam, R. M., Huang, Z., Giovannucci, E., Rimm, E. B., Hunter, D. J., Colditz, G. A., . . . Willett, W. C. (2000). Diet and basal cell carcinoma of the skin in a prospective cohort of men. *Am J Clin Nutr*, 71(1), 135-141. doi: 10.1093/ajcn/71.1.135
- Vasilovici, A. F., Grigore, L. E., Ungureanu, L., Fechete, O., Candrea, E., Trifa, A. P., . . . Cosgarea, R. (2019). Vitamin D receptor polymorphisms and melanoma. *Oncol Lett*, 17(5), 4162-4169. doi: 10.3892/ol.2018.9733

- Veloudi, P., Jones, G., & Sharman, J. E. (2017). Effectiveness of Vitamin D Supplementation for Cardiovascular Health Outcomes. *Pulse (Basel)*, 4(4), 193-207. doi: 10.1159/000452742
- Venter, J. C. (2003). A part of the human genome sequence. *Science*, 299(5610), 1183-1184. doi: 10.1126/science.299.5610.1183
- Venter, J. C., Adams, M. D., Myers, E. W., Li, P. W., Mural, R. J., Sutton, G. G., . . . Zhu, X. (2001). The sequence of the human genome. *Science*, 291(5507), 1304-1351. doi: 10.1126/science.1058040
- Vesely, D. L., & Juan, D. (1984). Cation-dependent vitamin D activation of human renal cortical guanylate cyclase. *Am J Physiol*, 246(1 Pt 1), E115-120.
- Vigo Gago, E., Cadarso-Suarez, C., Perez-Fernandez, R., Romero Burgos, R., Devesa Mugica, J., & Segura Iglesias, C. (2005). Association between vitamin D receptor FokI. Polymorphism and serum parathyroid hormone level in patients with chronic renal failure. *J Endocrinol Invest*, 28(2), 117-121.
- Vogel, A., Strassburg, C. P., & Manns, M. P. (2002). Genetic association of vitamin D receptor polymorphisms with primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis. *Hepatology*, 35(1), 126-131. doi: 10.1053/jhep.2002.30084
- Vojdeman, F. J., Madsen, C. M., Frederiksen, K., Durup, D., Olsen, A., Hansen, L., . . . Schwarz, P. (2019). Vitamin D levels and cancer incidence in 217,244 individuals from primary health care in Denmark. *Int J Cancer*, 145(2), 338-346. doi: 10.1002/ijc.32105
- Von Schuckmann, L., Law, M. H., Montgomery, G. W., Green, A. C., & JC, V. D. P. (2016). Vitamin D Pathway Gene Polymorphisms and Keratinocyte Cancers: A Nested Case-Control Study and Meta-Analysis. *Anticancer Res*, 36(5), 2145-2152.
- Wacker, M., & Holick, M. F. (2013). Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. *Dermatoendocrinol*, 5(1), 51-108. doi: 10.4161/derm.24494
- Wagner, N., Wagner, K. D., Schley, G., Badiali, L., Theres, H., & Scholz, H. (2003). 1,25-dihydroxyvitamin D₃-induced apoptosis of retinoblastoma cells is associated with reciprocal changes of Bcl-2 and bax. *Exp Eye Res*, 77(1), 1-9.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Wang, Y., Zhu, J., & DeLuca, H. F. (2012). Where is the vitamin D receptor? *Arch Biochem Biophys*, *523*(1), 123-133. doi: 10.1016/j.abb.2012.04.001
- Watanabe, M., Fukutome, K., Murata, M., Uemura, H., Kubota, Y., Kawamura, J., & Yatani, R. (1999). Significance of vitamin D receptor gene polymorphism for prostate cancer risk in Japanese. *Anticancer Res*, *19*(5c), 4511-4514.
- Wedren, S., Magnusson, C., Humphreys, K., Melhus, H., Kindmark, A., Stiger, F., . . . Weiderpass, E. (2007). Associations between androgen and Vitamin D receptor microsatellites and postmenopausal breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, *16*(9), 1775-1783. doi: 10.1158/1055-9965.epi-06-1096
- Weinstock, M. A., Stampfer, M. J., Lew, R. A., Willett, W. C., & Sober, A. J. (1992). Case-control study of melanoma and dietary vitamin D: implications for advocacy of sun protection and sunscreen use. *J Invest Dermatol*, *98*(5), 809-811. doi: 10.1111/1523-1747.ep12499962
- Wortsman, J., Matsuoka, L. Y., Chen, T. C., Lu, Z., & Holick, M. F. (2000). Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr*, *72*(3), 690-693.
- Xu, Y., Shibata, A., McNeal, J. E., Stamey, T. A., Feldman, D., & Peehl, D. M. (2003). Vitamin D receptor start codon polymorphism (FokI) and prostate cancer progression. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, *12*(1), 23-27.
- Yamagata, Z., Miyamura, T., Iijima, S., Asaka, A., Sasaki, M., Kato, J., & Koizumi, K. (1994). Vitamin D receptor gene polymorphism and bone mineral density in healthy Japanese women. *Lancet*, *344*(8928), 1027.
- Yang, Y., Wang, S., Ye, Z., & Yang, W. (2004). [Association of single nucleotide polymorphism of vitamin D receptor gene start codon and the susceptibility to prostate cancer in the Han nationality in Hubei area]. *Zhonghua Nan Ke Xue*, *10*(6), 411-414.
- Yaylim-Eraltan, I., Arzu Ergen, H., Arikan, S., Okay, E., Ozturk, O., Bayrak, S., & Isbir, T. (2007). Investigation of the VDR gene polymorphisms association with susceptibility to colorectal cancer. *Cell Biochem Funct*, *25*(6), 731-737. doi: 10.1002/cbf.1386

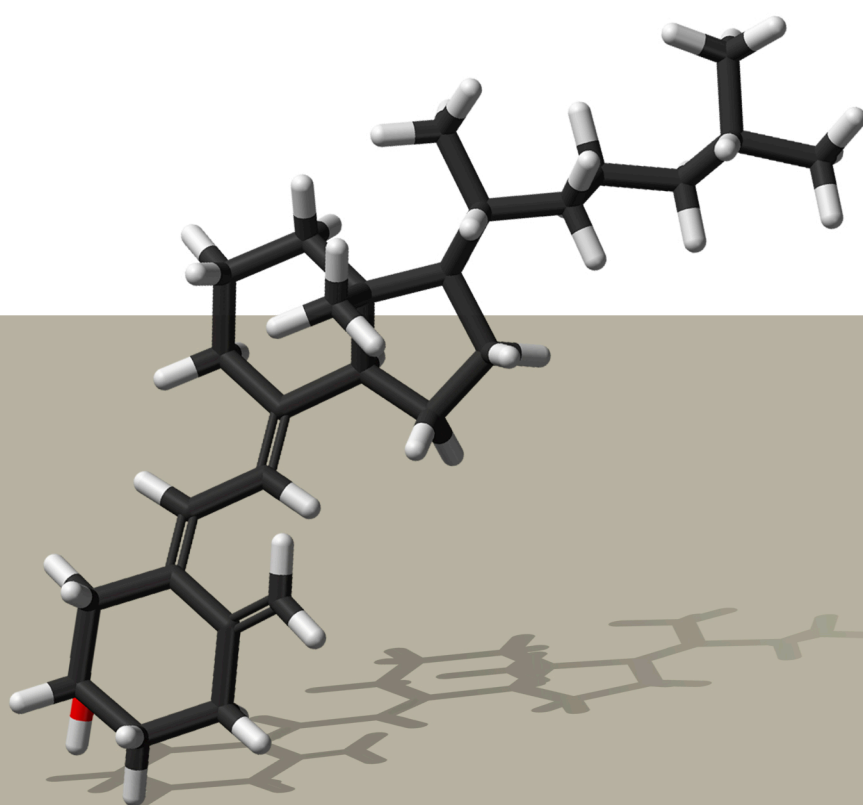
- Ye, W. Z., Reis, A. F., Dubois-Laforgue, D., Bellanne-Chantelot, C., Timsit, J., & Velho, G. (2001). Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with obesity in type 2 diabetic subjects with early age of onset. *Eur J Endocrinol*, *145*(2), 181-186.
- Ye, W. Z., Reis, A. F., & Velho, G. (2000). Identification of a novel Tru9 I polymorphism in the human vitamin D receptor gene. *J Hum Genet*, *45*(1), 56-57. doi: 10.1007/s100380050011
- Yokoyama, K., Shigematsu, T., Tsukada, T., Ogura, Y., Takemoto, F., Hara, S., . . . Hosoya, T. (1998). Apa I polymorphism in the vitamin D receptor gene may affect the parathyroid response in Japanese with end-stage renal disease. *Kidney Int*, *53*(2), 454-458. doi: 10.1046/j.1523-1755.1998.00781.x
- Yudoh, K., Matsuno, H., & Kimura, T. (1999). 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits in vitro invasiveness through the extracellular matrix and in vivo pulmonary metastasis of B16 mouse melanoma. *J Lab Clin Med*, *133*(2), 120-128. doi: 10.1016/s0022-2143(99)90004-5
- Zanello, L. P., & Norman, A. W. (1996). 1 alpha,25(OH)2 vitamin D3-mediated stimulation of outward anionic currents in osteoblast-like ROS 17/2.8 cells. *Biochem Biophys Res Commun*, *225*(2), 551-556. doi: 10.1006/bbrc.1996.1210
- Zanello, L. P., & Norman, A. W. (2004). Rapid modulation of osteoblast ion channel responses by 1alpha,25(OH)2-vitamin D3 requires the presence of a functional vitamin D nuclear receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *101*(6), 1589-1594. doi: 10.1073/pnas.0305802101
- Zeljic, K., Kandolf-Sekulovic, L., Supic, G., Pejovic, J., Novakovic, M., Mijuskovic, Z., & Magic, Z. (2014). Melanoma risk is associated with vitamin D receptor gene polymorphisms. *Melanoma Res*, *24*(3), 273-279. doi: 10.1097/cmr.000000000000065
- Zhao, X. Z., Yang, B. H., Yu, G. H., Liu, S. Z., & Yuan, Z. Y. (2014). Polymorphisms in the vitamin D receptor (VDR) genes and skin cancer risk in European population: a meta-analysis. *Arch Dermatol Res*, *306*(6), 545-553. doi: 10.1007/s00403-014-1464-8

X. BIBLIOGRAFÍA

Zinser, G. M., Sundberg, J. P., & Welsh, J. (2002). Vitamin D(3) receptor ablation sensitizes skin to chemically induced tumorigenesis. *Carcinogenesis*, *23*(12), 2103-2109. doi: 10.1093/carcin/23.12.2103

Zinser, G. M., & Welsh, J. (2004). Accelerated mammary gland development during pregnancy and delayed postlactational involution in vitamin D3 receptor null mice. *Mol Endocrinol*, *18*(9), 2208-2223. doi: 10.1210/me.2003-0469

Zittermann, A. (2003). Vitamin D in preventive medicine: are we ignoring the evidence? *Br J Nutr*, *89*(5), 552-572. doi: 10.1079/bjn2003837



Capítulo XI

ANEXOS

11.1 Anexo 1. Consentimiento informado.

**CONSENTIMIENTO INFORMADO
ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN**

“Vitamina D, polimorfismos del gen VDR y riesgo de cáncer de piel no melanoma en población extremeña”

Paciente:

Paciente ID#:

Centro:

Centro ID#:

Investigador:

LEA DETENIDAMENTE LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE DOCUMENTO Y ASEGÚRESE QUE ENTIENDE ESTE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN. POR FAVOR SI ESTA DE ACUERDO EN PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO, FIRME ESTE DOCUMENTO. POR SU FIRMA RECONOCE QUE HA SIDO INFORMADO DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL PROYECTO, DE SUS REQUISITOS Y SUS RIESGOS Y QUE ACEPTA LIBREMENTE PARTICIPAR EN ÉL. UNA COPIA DEL PRESENTE DOCUMENTO LE SERÁ ENTREGADA.

OBJETO DEL ESTUDIO.

Ha sido invitado/a a participar en un estudio de investigación dirigido a estudiar los polimorfismos del gen del VDR, niveles de Vitamina D y riesgo de cáncer de piel no melanoma en población extremeña.

PROCEDIMIENTOS Y DURACIÓN DEL ESTUDIO.

El único procedimiento al que será sometido/a será a la extracción de una muestra sanguínea para valorar algunos polimorfismos del gen del VDR y niveles de vitamina D. La duración del proyecto será de 17-20 meses, durante los cuales usted nos autoriza a estudiar los parámetros indicados. La muestra que cede será utilizada exclusivamente con finalidad de investigación sin ánimo de lucro.

RESULTADOS DEL ESTUDIO.

Al finalizar el estudio se le informará del resultado global del mismo si usted lo desea, pero NO de su resultado personal, que se tratará con total confidencialidad de acuerdo con la Declaración de Helsinki y la Ley 14/2007, de Investigación biomédica.

RIESGOS DERIVADOS DE LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO.

Los riesgos asociados a la toma de muestras son mínimos. Se empleará material estéril individual y desechable a fin de eliminar los riesgos de infección y de contagio y las muestras de obtendrán por personal cualificado.

BENEFICIOS.

La participación en el proyecto no será recompensada económicamente. Aparte de lo comentado anteriormente, se estima que el desarrollo del estudio en el que participará comportará beneficios a medio-largo plazo en el tratamiento del cáncer de piel no-melanoma y en el conocimiento de la patogenia de este tipo de cáncer.

COSTES.

El coste de la extracción y procesamiento de la muestra así como los análisis posteriores serán cubiertos por el proyecto. Su participación no le supondrá ningún coste.

La investigadora principal, D^a Carolina Morgado Águila, puede ser contactada en cualquier momento, a fin de recabar información acerca del proyecto, en la siguiente dirección:

Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas Óseas (Grupo GIEMO)
Departamento de Enfermería
Facultad de Enfermería y Terapia Ocupacional.
Av. De la Universidad
10004 Cáceres

En ningún caso su decisión de no participar en el proyecto le supondrá una rebaja en la calidad asistencial por parte de su médico.

CONFIDENCIALIDAD DE SU MUESTRA.

De acuerdo con la normativa legal vigente, los resultados de las muestras se tratarán con total confidencialidad. El protocolo de recogida de datos será archivado, y a cada participante se le asignará una clave de tal modo que no pueda relacionarse la muestra e información obtenida con la identidad del sujeto. Las muestras serán anonimizadas, asegurando la imposibilidad de inferir su identidad, para su estudio y potencial análisis ulterior.

El investigador principal del proyecto se compromete a que la confidencialidad de los datos que se puedan obtener en dicho proyecto será escrupulosamente observada, y que los datos personales de los sujetos participantes no serán conocidos por los investigadores del proyecto. En los casos que corresponda, estos informarán al responsable médico o a los afectados si creen que algún resultado del proyecto podría ser de su interés.

El investigador principal del proyecto se compromete a no utilizar las muestras para otros estudios diferentes a los de este proyecto y a no traspasar las muestras a otros posibles proyectos o equipos de investigación.

Para todo lo no previsto en este documento, se aplicará la legislación vigente sobre protección de datos de carácter personal (Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, BOE 274 de 15 de noviembre de 2002; Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal; BOE 298 de 14 de diciembre de 1999; Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal, BOE 17 de 19 de enero de 2008), sobre investigación biomédica (Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica; BOE 159 de 4 de julio de 2007) y cualquier otra que resultara aplicable. Si fuese necesario el almacenamiento de las muestras para análisis ulteriores, tal como recoge la Ley 41/2007, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica (art. 9.3), el consentimiento escrito del paciente será necesario para cada una de las actuaciones que se lleven a cabo. Acción que podrá ser ejercitada por el paciente, por sus representantes, o por sus herederos si este hubiera fallecido.

Los resultados del estudio pueden ser publicados en revistas científicas o publicaciones de carácter general.

XI. ANEXOS

No obstante, la información concerniente a su participación será mantenida como confidencial.

Recibirá una copia de esta hoja de información y del consentimiento informado firmado por usted.

DECLARACIÓN DEL DONANTE.

He sido informado por el personal relacionado con el proyecto mencionado:

- De las ventajas e inconvenientes de este procedimiento.
- Del fin para el que se utilizarán mis muestras.
- He sido informado de que los tejidos que cedo serán utilizados exclusivamente con finalidad de investigación sin ánimo de lucro.
- Que mis muestras serán proporcionadas de forma anónima a los investigadores del proyecto.
- Que en cualquier momento puedo solicitar información genérica sobre los estudios para los que se han utilizado mis muestras.
- Que he comprendido la información recibida y he podido formular todas las preguntas que he creído oportunas.

Usted tiene derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento. Como se menciona anteriormente, en ningún caso su decisión de no participar en el proyecto le supondrá una rebaja en la calidad asistencial por parte de su médico.

SE ME HA PROPORCIONADO COPIA DEL PRESENTE DOCUMENTO.
ACEPTO PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO.

Nombre:.....

Firma:

Declaración del profesional de salud médica de que ha informado debidamente al donante.

Nombre:

Firma:

