

VNIVERSITAT D VALÈNCIA

FACULTAT DE MEDICINA I ODONTOLOGÍA

DEPARTAMENT DE MEDICINA



ESTUDIO DE SEGUIMIENTO DE LOS NIVELES DE VITAMINA D EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO CUTÁNEO Y CORRELACIÓN CON LA SEVERIDAD DE LA ENFERMEDAD

TESIS DOCTORAL presentada para la obtención del grado de Doctora en
Medicina por la Universidad de Valencia

Eugenia Cutillas Marco

Directores: Prof. Dra. Amparo Marquina Vila
Prof. Dra. María Morales Suárez Varela
Prof. Dr. Juan José Vilata Corell

2014

Prof. Dra. AMPARO MARQUINA VILA, Profesora Asociada de Dermatología y Venereología de la Universidad de Valencia,

Prof. Dra. MARÍA MANUELA DEL MAR MORALES SUÁREZ-VARELA, Catedrática de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Universidad de Valencia y

Prof. Dr. JUAN JOSÉ VILATA CORELL, Catedrático de Dermatología y Venereología de la Universidad de Valencia

CERTIFICAMOS

Que la presente Tesis Doctoral titulada **“Estudio de Seguimiento de los Niveles de Vitamina D en Pacientes con Lupus Eritematoso Cutáneo y Correlación con la Severidad de la Enfermedad”**, que presenta Doña Eugenia Cutillas Marco para optar al Grado de Doctora por la Universidad de Valencia ha sido realizada bajo nuestra dirección y que se encuentra finalizada y lista para su presentación a fin de que pueda ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Y para que conste, firmamos la presente en Valencia, a 24 de enero de 2014.

Fdo: Amparo Marquina Vila
Profesora Asociada de Dermatología

Fdo: María M. Morales Suárez Varela
Catedrática de Medicina Preventiva y
Salud Pública

Fdo: Juan José Vilata Corell
Catedrático de Dermatología y Venereología

UNIVERSIDAD DE VALENCIA

A Sofía,

A Juan Antonio,

A mis padres.

*“Quien no haya experimentado la irresistible atracción de la ciencia
no podrá comprender su tiranía”.*

Frankenstein. Mary Shelley

AGRADECIMIENTOS:

Este trabajo no habría sido posible sin el apoyo de muchas personas, a las que aprovecho para transmitirle mi agradecimiento:

A María Morales, directora de la tesis, porque me motivó para empezar y ha tenido la suficiente paciencia como para verme acabar, por escucharme en todo momento, por poner siempre su mejor cara (o su mejor voz) ante mis idas y venidas, por su apoyo incondicional, por su asesoramiento, por su entusiasmo, por su ayuda en cada fase de este proyecto, por lo que me ha enseñado como directora y como persona.

A Juan José Vilata, director de la tesis, por su asesoramiento, su colaboración y su buena disposición en todo momento.

A Amparo Marquina, directora de la tesis, y jefa del Servicio de Dermatología del Hospital Doctor Peset, donde se llevaron a cabo los trabajos que dieron pie a los artículos. Me enseñó mucho durante la residencia, pero todavía más después de acabarla. Le agradezco especialmente la confianza que siempre ha tenido en mí y lo que ha luchado y discutido para eliminar las barreras que se han ido levantando durante todo este proceso.

A Amparo Fuertes, por su inestimable ayuda para captar potenciales controles para el estudio y por su apoyo incondicional.

Al resto de compañeros del Servicio de Dermatología del Hospital Doctor Peset, además de por lo que me enseñaron durante mi residencia, por su colaboración en la captación de participantes para el estudio y su paciencia cuando ocupaba la consulta para pasar la encuesta.

A William B. Grant, por su asesoramiento en el diseño de los estudios, su colaboración en los artículos y por todo lo que me has enseñado sobre la vitamina D desde el otro lado del Atlántico.

A Antonio Carrión, dietista responsable de la Unidad de Dietética del Hospital Doctor Peset, por su asesoramiento para evaluar la cantidad de vitamina D ingerida en la dieta de los participantes.

Al personal del laboratorio y al Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Doctor Peset, por las extracciones de sangre y las mediciones pertinentes.

A todos los participantes, tanto sanos como con lupus, porque son el ingrediente fundamental de este proyecto, por confiar en mí y dar su consentimiento.

A todas mis amigas que, afortunadamente, son muchas y sería imposible enumerarlas a todas, por entender mis ausencias y seguir estando ahí cuando las necesito.

A mis padres, porque ellos sí que han estado ahí desde el principio, por su apoyo, por su esfuerzo desmedido para permitirme llegar hasta donde he llegado.

A mi marido, por su apoyo y por aportar soluciones a los contratiempos.

Y sobre todo, a Sofía, por ser tan maravillosa, por esperarme.

RELACIÓN DE ARTÍCULOS

Esta tesis se basa en los siguientes artículos:

1. Cutillas-Marco E, Morales-Suárez-Varela M, Marquina-Vila A, Grant W. Serum 25-hydroxyvitamin D levels in patients with cutaneous lupus erythematosus in a Mediterranean region. *Lupus* 2010; 19:810-4. doi: 10.1177/0961203309360807.
2. Cutillas-Marco E, Fuertes-Prosper A, Grant WB, Morales-Suárez-Varela M. Vitamin D deficiency in South Europe: effect of smoking and aging. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2012 Jun; 28(3):159-61. doi: 10.1111/j.1600-0781.2012.00649.x.
3. Cutillas-Marco E, Prosper AF, Grant WB, Morales-Suárez-Varela MM. Vitamin D status and hypercholesterolemia in Spanish general population. *Dermato-Endocrinology* 2013; en prensa; doi: 10.4161/derm.27497.
4. Cutillas-Marco E, Marquina-Vila A, Grant WB, Vilata-Corell JJ, Morales-Suárez-Varela M. Vitamin D and Cutaneous Lupus Erythematosus: Effect of Vitamin D Replacement on Severity of Disease. *Lupus* 2014; en prensa.

ABREVIATURAS

1,25(OH)D	1,25-dihidroxi-vitamina D []
25(OH)D	25-hidroxi-vitamina D
7DHC	7 dehidrocolesterol
ACR	American College of Rheumatology
AM	Antes del mediodía
ANA	Anticuerpos antinucleares
ANOVA	Análisis de varianza
CLASI	Cutaneous Lupus Erythematosus Disease Area and Severity Index
CPA	Células presentadoras de antígenos
DE	Desviación estándar
FCT-β1	Factor de crecimiento transformante beta-1 ()
FPS	Factor de protección solar
HMBG1	High mobility group box chromosomal protein 1
HMG-CoA	Hidroxi-metil-glutaril-coenzima A
IC	Intervalo de confianza
IFN	Interferón
Ig	Inmunoglobulinas
IL	Interleuquina
IMC	Índice de masa corporal
IOM	Institute of Medicine
LE	Lupus eritematoso
LEC	Lupus eritematoso cutáneo
LED	Lupus eritematoso discoide
LES	lupus eritematosos sistémico
mcg	Microgramos
OR	Odds ratio
OR	Odds ratio
PM	Después del mediodía
PTH	Parathormona
PTVD	Proteína transportadora de la vitamina D
SLOS	Síndrome de Smith-Lemli-Opitz
SPSS	Statistical Package for Social Science
Th	T helper

TNF	Factor de necrosis tumoral
T-reg	Linfocitos T reguladores
UI	Unidades internacionales
UV	Ultravioleta
UVB	Ultravioleta B
VDR	Receptor de vitamina D

ÍNDICE

1. Introducción	19
1.1. Lupus eritematoso.....	20
1.1.1. Aspectos históricos.....	20
1.1.2. Concepto y clasificación.....	20
1.1.3. Etiopatogenia.....	24
1.1.4. Tratamiento.....	28
1.1.4.1. Tratamiento tópico.....	28
1.1.4.2. Tratamiento sistémico.....	29
1.2. Vitamina D.....	30
1.2.1. Concepto de vitamina.....	30
1.2.2. La vitamina D.....	30
1.2.3. El descubrimiento de la vitamina D.....	31
1.2.4. Origen de la vitamina D: síntesis y fuentes.....	34
1.2.5. Factores que influyen en la síntesis.....	36
1.2.5.1. Factores externos.....	36
1.2.5.2. Factores personales.....	37
1.2.6. Niveles de 7DHC y vitamina D.....	39
1.2.7. Recomendaciones dietéticas generales de vitamina D.....	40
1.2.8. Relación entre PTH y vitamina D.....	41
1.2.9. Definición de valores normales de vitamina D.....	41
1.2.10. Ubicuidad del receptor de vitamina D.....	42
1.2.11. Acciones de la vitamina D.....	44
1.2.11.1. Acción a nivel intestinal y renal.....	45
1.2.11.2. Acción sobre el metabolismo óseo.....	45
1.2.11.3. Otras acciones de la vitamina D.....	46
1.2.11.3.1. Vitamina D y sistema cardiovascular.....	46

1.2.11.3.2. Vitamina D y función muscular.....	46
1.2.11.3.3. Vitamina D y cáncer.....	47
1.2.11.3.4. Vitamina D y sistema inmune.....	48
1.2.11.3.4.1. Vit. D e inmunidad innata.....	48
1.2.11.3.4.2. Vit. D e inmunidad adaptativa.....	49
1.3. Radiación ultravioleta.....	51
1.4. Vitamina D y lupus.....	52
2. Objetivos.....	55
2.1. Objetivos generales.....	56
2.2. Objetivos específicos.....	56
3. Material y Métodos.....	59
3.1. Participantes.....	60
3.2. Diseño del estudio.....	62
3.3. Evaluación clínica basal.....	62
3.4. Tratamiento y criterio de selección de pacientes tratados.	63
3.5. Determinaciones analíticas.....	64
3.6. Efecto de la intervención.....	65
3.7. Análisis estadístico.....	66
4. Resultados.....	71
4.1. Artículo 1.....	72
4.2. Artículo 2.....	76
4.3. Artículo 3.....	80
4.4. Artículo 4.....	83
5. Discusión.....	95
5.1. Niveles de vitamina D en población sana.....	96
5.2. Relación entre los niveles de vitamina D y colesterol.....	98
5.3. Niveles de vitamina D en pacientes con LEC.....	100
5.4. Efecto de la repleción de vitamina D en pacientes con LEC.....	101
6. Conclusiones.....	105

7. Bibliografía.....	109
8. Anexo	129

1.INTRODUCCIÓN

1.1. LUPUS ERITEMATOSO

El lupus eritematoso es una enfermedad autoinmune con un amplio espectro de manifestaciones que van desde la afectación exclusivamente cutánea en el lupus eritematoso cutáneo (LEC) hasta otras potencialmente más graves que pueden comprometer la vida del paciente.

1.1.1. ASPECTOS HISTÓRICOS

El término “lupus” fue utilizado por primera vez para designar lo que hoy conocemos como lupus eritematoso en la Edad Media. Este término, que en latín significa “lobo”, hace referencia a los cambios cutáneos, en ocasiones mutilantes, que aparecen a lo largo de la enfermedad, que en ocasiones recordaban a heridas por ataques de lobo. Sin embargo, algunos de los pacientes que se diagnosticaban de “lupus” padecían en realidad otras enfermedades como lepra, tuberculosis (lupus vulgar) o tumores cutáneos. En 1851 Alphée Cazenave introduce el término “lupus érythémateux” para diferenciar a estos pacientes de aquellos con tuberculosis cutánea¹. A finales del siglo XIX comenzó a conocerse algunas ideas acerca de la patogenia de la enfermedad y se sugirió la influencia de factores ambientales como la exposición solar.

1.1.2. CONCEPTO Y CLASIFICACIÓN

El lupus eritematoso (LE) es una enfermedad inflamatoria crónica autoinmune con manifestaciones clínicas y curso muy variable. La epidemiología y el impacto socioeconómico del lupus eritematoso cutáneo (LEC) ha sido ampliamente revisado^{2,3}. La piel se afecta en el 70-85% de todos los casos de lupus eritematoso sistémico⁴ (LES) y es el segundo órgano en frecuencia de afectación por detrás de las articulaciones; no obstante sólo un pequeño porcentaje de los pacientes con

LEC acaban desarrollando LES⁵. La incidencia estimada del LEC es dos o tres veces mayor que la del LES.

Diversos estudios indican que el eritema malar está presente en los pacientes con LES con una frecuencia que varía desde el 20 al 60%⁶. Esta forma de LEC agudo se da por igual en todas las razas, aunque en fototipos altos puede pasar desapercibido el componente eritematoso. Al igual que el LES, el LEC agudo se da con más frecuencia en mujeres que en hombres, con una relación 8:1.

El LE subagudo está presente en el 7-27% de los pacientes con LES⁶. Afecta predominantemente a mujeres de raza blanca y suele debutar en la quinta década de la vida.

El LEC crónico tipo discoide clásico, la forma más frecuente de LEC, afecta al 15-30% de los pacientes con LES. Se estima que un 5% de los pacientes con lupus eritematoso discoide (LED) localizado como única manifestación de LE desarrollará LES. El LED afecta con más frecuencia a individuos entre 20 y 40 años y a mujeres con un ratio mujer: hombre de 3:2 a 3:1, que es significativamente menor que en el LES. El LED afecta a todas las razas, aunque podría ser más prevalente en la raza negra.

Las manifestaciones cutáneas pueden clasificarse en específicas y no específicas de lupus, basándonos en una evaluación cuidadosa de la morfología de las lesiones cutáneas y los hallazgos histológicos (Tabla 1 y 2).

Tabla 1. Manifestaciones específicas y diagnósticas de LE, según Fabbri et al.⁴.

MANIFESTACIONES ESPECÍFICAS DEL LEC		
LE CUTÁNEO CRÓNICO	LE CUTÁNEO SUBAGUDO	LE CUTÁNEO AGUDO
LE discoide clásico	Tipo anular policíclico	Eritema malar
LE discoide hipertrófico o verrucoso	Tipo papuloescamoso o psoriasiforme	Eritema maculo-papuloso diseminado
LE discoide liquenoide	Variantes raras: Forma acral Tipo eritrodermia exfoliativa Tipo pitiriasiforme Tipo poiquidermia Tipo necrolisis epidérmica tóxica Tipo vitíligo	
LE discoide de las mucosas		
LE túmido		
Lupus profundo o paniculitis lúpica		
LE erosivo palmoplantar		
LE pernio		

Tabla 2. Manifestaciones cutáneas no específicas de LE (adaptado de Costner MI y Sontheimer RD⁶)

MANIFESTACIONES CUTÁNEAS NO ESPECÍFICAS DE LE			
ENFERMEDAD VASCULAR CUTÁNEA		ALOPECIA NO CICATRICIAL	OTROS
Vasculitis	Leucocitoclástica - Púrpura palpable - Urticaria vasculitis	"Cabello del lupus"	Esclerodactilia
	Lesiones cutáneas similares a la periarteritis nodosa		
Vasculopatía	Lesiones similares a la enfermedad de Degos	Efluvio telógeno	Nódulos reumatoideos
	Atrofia secundaria blanca		
Telangiectasias periungueales		Alopecia areata	Calcinosis cutis
Livedo reticularis			Lesiones ampollosas no específicas de LE
Tromboflebitis			Urticaria
Fenómeno de Raynaud			Mucinosi papulonodular
Eritromelalgia			Cutis laxa/anetodermia
			Acantosis nigricans
		Eritema multiforme	
		Úlceras en las piernas	
			Liquen plano

1.1.3. **ETIOPATOGENIA**

Las causas y los mecanismos patogénicos que ocasionan las lesiones cutáneas específicas de LE cutáneo no son del todo conocidos, aunque es difícilmente separable de la del LE sistémico. Existe un modelo patogénico⁶ muy atractivo para el LES que describe la secuencia temporal de cuatro fases teóricas que son un prerrequisito para la expresión clínica de esta enfermedad. Estas fases son la herencia de la susceptibilidad genética, la inducción de autoinmunidad, la extensión de procesos autoinmunes y el daño inmunológico (Figura 1).

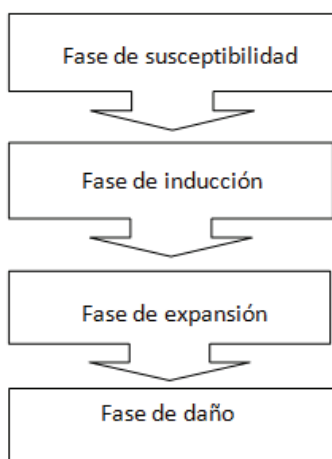


Figura 1. Modelo patogénico del LES, adaptado de Costner MI y Sontheimer RD⁶

La primera fase sería una fase de susceptibilidad relacionada con la herencia de genes que confieren la predisposición al LES: el LE es 10 veces más frecuente en hermanos gemelos mono y dicigóticos de los pacientes que en la población general. Además de los genes del complejo mayor de histocompatibilidad II DR, estarían implicados en esta fase los genes que codifican para proteínas del complemento y para el factor de necrosis tumoral, genes mediadores en la apoptosis, genes

implicados en las señales intercelulares y otros que participan en el aclaramiento de los complejos inmunes. El polimorfismo de los genes del antagonista del receptor de la interleuquina 1 (IL1) y factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α) han sido implicados como factores genéticos en el LEC. Se ha visto una sinergia importante entre la radiación UVB e IL1- α en la inducción de la transcripción del promotor del FNT- α ³. En este sentido, probablemente el polimorfismo del promotor del FNT- α sea determinante para la fotosensibilidad que presente el paciente. Además de la exposición a la radiación UV, se han implicado otros factores como el tabaco, fármacos, agentes ambientales empleados en agricultura, hormonas sexuales femeninas o el frío y la humedad como desencadenantes externos de la enfermedad⁷, aunque el efecto de la radiación UV ha sido el más estudiado.

Uno de los eventos que inician el proceso puede ser el aumento de células apopticas en un contexto de inflamación, como ocurre tras la exposición solar. A bajas dosis de radiación solar los queratinocitos producen factor de crecimiento transformante beta-1 (FCT- β 1) e IL-10, provocando inmunosupresión local. A dosis más altas de radiación UV se induce la producción de citoquinas con actividad proinflamatoria, como son IL-1 alfa, IL-1beta, TNF- α , y high mobility group protein 1 (HMGB1). El defecto en el aclaramiento de estas células apopticas es un hecho clave en la patogenia de la enfermedad, ya que conlleva la aparición de necrosis. Se ha demostrado que los queratinocitos apopticos permanecen en la piel de los pacientes con LE hasta 72 horas post-exposición a la radiación UV, mientras que en controles sanos el incremento de células apopticas sólo se observa hasta 24 horas después de la exposición y las células apopticas han desaparecido completamente pasadas 72 horas⁸.

La aparición de necrosis desencadena una respuesta inflamatoria más intensa que comienza con la secreción por parte de los queratinocitos de citoquinas como TNF-

alfa, IL-1 alfa, IL-1beta, IL-6, IL-8 e IL-10 (Figura 2). Curiosamente, estas citoquinas se potencian entre ellas: el TNF- alfa y la IL-1beta activan a los macrófagos, que secretan más HMBG1, por lo que se establece un bucle proinflamatorio. Ante la exposición a la radiación UV, el daño celular en los queratinocitos provoca un aumento en la producción y liberación al espacio extracelular del autoantígeno Ro52⁷.

Los macrófagos y las células dendríticas se activan por la liberación de estas citoquinas proinflamatorias y queratinocitos inviables. Las células dendríticas ingieren estos detritus celulares y autoantígenos y los presenta a células T y B naïve en el ganglio linfático, que comienzan una respuesta inmune secundaria específica frente a los autoantígenos. A partir de entonces comienza la migración de células T CD4+ y CD8+, macrófagos, neutrófilos, linfocitos B y células dendríticas al foco de daño secundario a la exposición UV. Los detritus celulares son opsonizados por inmunoglobulinas y complemento. Los inmunocomplejos activarían las células dendríticas plasmacitoides que iniciarían la secreción de IFN alfa. Los linfocitos citotóxicos CD8+ y efectores CD4+continuarán activando macrófagos y neutrófilos, que magnificarán la cascada de la inflamación mediante la liberación de más citoquinas y especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. Los inmunocomplejos estimulan las células B, inducen la producción de citoquinas y el cambio de clase de los linfocitos B. Durante esta fase expansiva serían detectables en suero los autoanticuerpos producidos por una población clonal de células B expandidas.

Además de esta cascada proinflamatoria, los linfocitos T reguladores CD4+CD25+ (T-reg) desempeñan un papel clave en la patogenia de la enfermedad, ya que su función es suprimir la respuesta inmune frente a autoantígenos. Se ha comprobado que el número de T-reg circulantes en pacientes con LES activo se encuentra disminuido. Se ha comprobado, asimismo, que el número de estas células se correlaciona inversamente con los niveles de autoanticuerpos. Igualmente, se ha

observado que los niveles de T-reg se encuentran disminuidos en la piel afectada de los pacientes de LEC, y este hallazgo parece deberse a mecanismos propios de la enfermedad, ya que este hecho no ocurre en otras patologías inflamatorias como psoriasis, dermatitis atópica o liquen plano.

La última fase es la más relevante clínicamente. Gran parte de lo que ocurre en esta fase sería atribuible a la acción de los autoanticuerpos y de los complejos inmunes que forman éstos, que pueden producir daño celular a través de muerte celular directa, activación celular, opsonización y bloqueo de funciones de moléculas importantes.

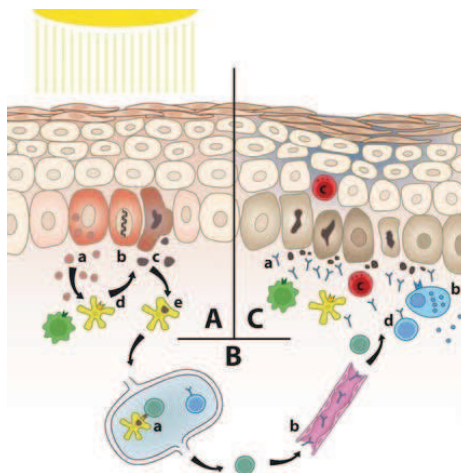


Figura 2. Representación de la patogénesis del LEC, adaptado con permiso de Oke et al⁷: A. (a) Tras la exposición a la radiación UV los queratinocitos expresan citoquinas proinflamatorias y aumentan la producción de autoanticuerpos. (b) Los queratinocitos sufren un daño en el ADN que detiene el ciclo celular. (c) Necrosis de queratinocitos apoptóticos que no se han retirado a tiempo. (d) Activación de macrófagos y células dendríticas, que (e) fagocitan los detritus y los autoantígenos. B. Presentación de autoantígenos por las células dendríticas a linfocitos T y B naïve en el ganglio. C. Respuesta autoinmune, con opsonización de restos celulares por Ig y complemento, formación de inmunocomplejos y ampliación de la respuesta inmune mediante la activación de macrófagos y neutrófilos, formación de radicales libres y cambio de clase de linfocitos B, que forman autoanticuerpos.

1.1.4. TRATAMIENTO

Aunque se han evaluado varios tratamientos en el LES, para el LEC los estudios randomizados controlados son bastante más escasos. En cualquier caso, existe amplia evidencia del beneficio del uso de protección solar para prevenir la aparición de las lesiones, ya que tanto la exposición a radiación UVB como UVA puede provocar la aparición de lesiones cutáneas⁹. El protector solar debe aplicarse entre 20 y 30 minutos antes de la exposición, en cantidad suficiente (2 mg/cm^2) y repitiendo las aplicaciones ante exposiciones intensas o después del baño. Además del uso de protector solar, los pacientes deben evitar exponerse al sol en las horas centrales del día y pueden beneficiarse del uso de medidas físicas de fotoprotección, incluyendo ropa, gorro o gafas de sol.

1.1.4.1. Tratamiento tópico

- Corticoides tópicos: El uso de corticoides tópicos potentes mejora las lesiones cutáneas en el 27% de los pacientes con LEC¹⁰. Su principal limitación es la aparición de efectos adversos como atrofia, telangiectasias o dermatitis tipo rosácea inducida por corticoides, por lo que su uso debe ser limitado en el tiempo y preferiblemente de forma intermitente. Se han utilizado también corticoides intralesionales, con mayor eficacia pero más riesgo de atrofia cutánea.

- Inhibidores tópicos de la calcineurina: Tanto el tacrólimus al 0.1% como el pimecrólimus al 1% se han mostrado eficaces en los casos de LEC. La ausencia de atrofia cutánea como efecto adverso los hacen especialmente idóneos para su uso en la cara. Su principal efecto adverso es la sensación de quemazón que producen durante las primeras aplicaciones, lo que limita la adherencia del paciente al tratamiento.

- Retinoides tópicos: Las lesiones muy hiperqueratósicas del LED pueden beneficiarse del uso de tazaroteno al 0.05% en gel.
- Imiquimod 5%: se han comunicado casos aislados de mejoría en LED en cuero cabelludo o diseminados, aunque su acción agonista sobre receptores tipo toll podría, en teoría, empeorar la enfermedad.
- R-Salbutamol al 0.5%: su uso se ha mostrado eficaz en un ensayo clínico controlado y randomizado, aunque no está comercializado para su uso tópico, por lo que debe elaborarse como fórmula magistral.

1.1.4.2. Tratamiento sistémico:

- Antipalúdicos: constituyen la primera línea de tratamiento sistémico. Los más utilizados son la hidroxicloroquina y la cloroquina. Cualquiera de los dos pueden asociarse a quinacrina. Su efecto adverso más frecuente es la intolerancia digestiva, pero el más grave es la retinopatía irreversible, que hace necesarios controles oftalmológicos basales y durante el tratamiento. Su efecto tarda entre 4 y 8 semanas en objetivarse.
- Corticoides: son muy eficaces, pero sus efectos adversos a medio y largo plazo limitan su uso a manifestaciones muy agudas de la enfermedad a la espera del efecto de otros fármacos.
- Otros: otros fármacos sistémicos utilizados como segunda línea son metotrexato, retinoides, dapsona y micofenolato mofetil. El alto riesgo de efectos adversos o el elevado coste de otros, han limitado el uso de talidomida e inmunoglobulinas intravenosas respectivamente. Las terapias biológicas se vienen usando en los últimos años, especialmente el rituximab, aunque sólo se han comunicado casos aislados.

1.2. VITAMINA D

1.2.1. Concepto de vitamina

Se denomina vitamina a todo aquel compuesto orgánico que se necesita en pequeñas cantidades para el metabolismo normal y que no puede ser sintetizado en las células del organismo. El término *vitamina* fue acuñado por Kazimierz Funk en 1912 para designar un factor nutricional capaz de prevenir el beriberi. Esta sustancia era una amina, la tiamina, y Funk pensó que habría otras “aminas vitales” o “vitaminas” cuyo déficit explicaba el desarrollo de otras enfermedades carenciales. Sin embargo, la observación de la relación entre la toma de algunos alimentos y la prevención de ciertas enfermedades data de varios siglos antes.

1.2.2. La Vitamina D

Desde que Mellanby descubrió la vitamina D en 1918¹¹, el conocimiento de ésta ha crecido exponencialmente, especialmente en los últimos años. El hecho de que pueda ser sintetizada en nuestra piel hace que muchos la consideren más una hormona que una vitamina. En cualquier caso, podríamos decir que la vitamina D es la más dermatológica de todas las vitaminas y hormonas, ya que la piel es el único escenario sobre el que se desarrolla su síntesis, para la que la radiación UV es un actor necesario.

Bajo el término *Vitamina D* se engloban dos tipos de sustancias (Figura 3):

- Vitamina D₂ o *ergocalciferol*, que se produce por la acción de la radiación UVB sobre el esteroide denominado *ergosterol* en las plantas.

- Vitamina D3 o *colecalfiferol*, que se sintetiza en la piel por la acción de la radiación solar sobre el 7-dehidro-colesterol (7DHC) contenido en los queratinocitos y en la dermis.

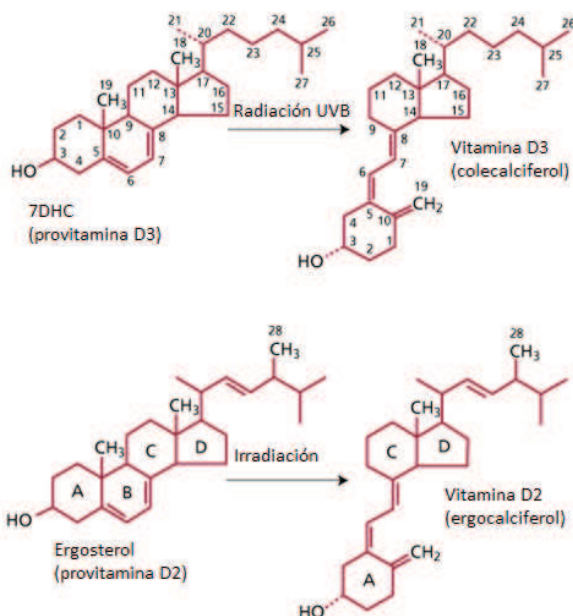


Figura 3. Estructura del colecalfiferol, el ergocalciferol y sus precursores

1.2.3. El descubrimiento de la vitamina D:

El descubrimiento y estudio de la vitamina D va irremediamente ligado a la descripción del raquitismo como enfermedad. Aunque las primeras referencias a una enfermedad que provocaba deformidades óseas en niños datan de la época romana¹², hasta el siglo XVI no empieza a estudiarse esta enfermedad en profundidad. A mediados del siglo XVI, la mayoría de los niños que vivían en núcleos urbanos industrializados muy poblados y contaminados en el norte de Europa desarrollaban una grave enfermedad que deformaba los huesos y que se

caracterizaba por retraso del crecimiento, agrandamiento de las epífisis de los huesos largos, deformidades en las piernas, curvaturas anómalas en la columna, protuberancias en la parrilla costal (rosario costal) y debilidad muscular. La primera descripción detallada de los signos y síntomas del raquitismo pertenece a Francis Glisson, un médico de Cambridge que publicó en 1682) su tratado “De Rachitide” (Figura 4).

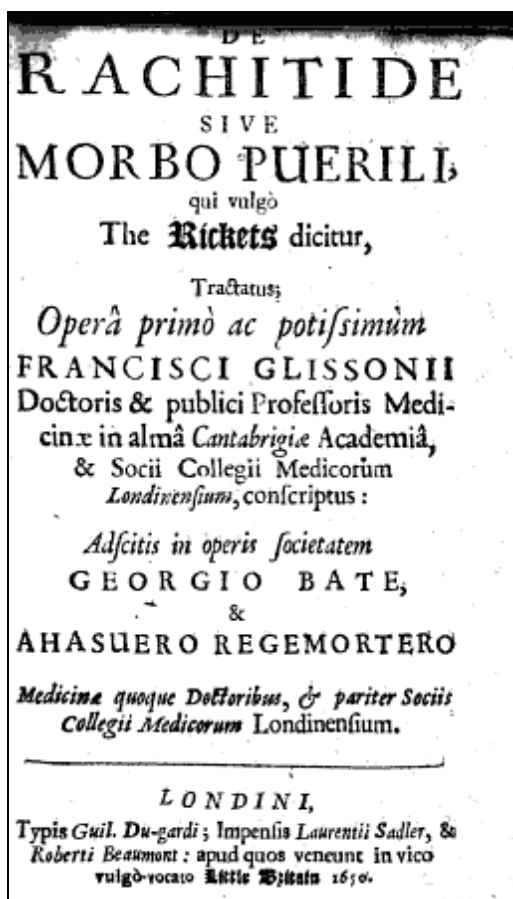


Figura 4. Portada del libro “De Rachitide” de Francis Glisson, primera descripción detallada del raquitismo.



Figura 5. Hermana (derecha) y hermano (izquierda) de 4 y 6.5 años de edad respectivamente, mostrando las piernas arqueadas y retraso del crecimiento, entre otras malformaciones esqueléticas. Tomada de Holick et al¹³ y reproducida con permiso de American Society for Clinical Investigation.

En 1822 Sniadecki¹⁴ se percató de la importancia de la exposición solar en la prevención y tratamiento del raquitismo. Palm¹⁵ ahondó en esas observaciones en 1890 y promovió el uso sistemático de los baños de sol para prevenir el raquitismo.

En 1918, Mellanby¹⁶ hablaba de la presencia de un factor anti-raquítico en ciertos alimentos y evitó el desarrollo de raquitismo en perros mediante la administración de aceite de hígado de bacalao. Mc Collum et al¹⁷ denominaron a este nuevo factor vitamina D, pues en ese momento ya se conocían la vitamina A, B y C. Hess y Weinstock¹⁸ por un lado y Steenbock y Black¹⁹ por otro, observaron que la irradiación con luz UV de algunos alimentos y aceites los dotaba de acción antirraquítica. Se comenzó entonces a irradiar la leche de vaca o los hongos que se administraban a las vacas como alimento para aumentar la actividad antirraquítica de la leche²⁰.

Cuando se identificó la estructura química de la vitamina D y se empezó a sintetizar a partir de algunos hongos de una manera barata, comenzaron a añadirla directamente a la leche. Sin embargo, observaron que la vitamina D procedente de los hongos tenía menor acción antirraquítica que el aceite de hígado de bacalao, por lo que concluyeron que la vitamina D que se producía en la piel humana debía de ser diferente. La vitamina D fue aislada en la piel del cerdo y se identificó el 7DHC como el sustrato para su síntesis. Para diferenciar las dos formas de vitamina D, a la vitamina D de los hongos se le denominó vitamina D2 y a la de origen animal y humano vitamina D3.

1.2.4. Origen de la vitamina D: síntesis y fuentes

La vitamina D puede obtenerse de tres fuentes:

- Alimentos: aportan aproximadamente el 10-20% de los requerimientos diarios. A diferencia de lo que ocurre en los países nórdicos o en Norteamérica, los alimentos en nuestro país no suelen estar enriquecidos con vitamina D, salvo la leche desnatada (Tabla 3).

- Suplementos de vitamina D: poco extendidos en nuestro área, salvo en lactantes y en la tercera edad, en estos últimos asociados a carbonato cálcico.
- Exposición a la radiación ultravioleta B (UVB): supone cerca del 90% de los requerimientos diarios²¹. La longitud de onda más eficaz para la síntesis de vitamina D va desde 290 a 315 nm²², ya que la capa de ozono impide que longitudes de onda más cortas lleguen a la superficie de la Tierra²³.

Tabla 3. Contenido de vitamina D de los principales alimentos ricos en vitamina D, adaptado de Wacker et al.²⁴

Alimento	Contenido en vitamina D
Aceite de hígado de bacalao	400-1000 UI/cucharada
Yema de huevo	20 UI/yema de huevo
Caballa en lata	250 UI/100 g
Salmón de cultivo	100-250 UI/100 g
Sardinas en lata	300 UI/100 g
Setas	100 UI/100 g
Atún en lata	236 UI/100 g
Queso	12 UI/100 g
Leche enriquecida (desnatada, semidesnatada, entera)	32 UI/100 ml
Leche entera no enriquecida	4 UI/100 ml
Leche desnatada no enriquecida	trazas

La radiación UVB incide en la piel y convierte el 7DHC en previtamina D3, que isomeriza en pocas horas a vitamina D3²³. La intoxicación de vitamina D por esta vía no es posible ya que la radiación ultravioleta transforma el exceso de estos metabolitos en productos inactivos. Como alternativa, la previtamina D3 puede fotoisomerizarse a dos sustancias inertes (lumisterol y taquisterol) o volver a convertirse en 7DHC²³. Cada una de estas reacciones se dan a una longitud de onda concreta, pero la luz solar comprende todas estas longitudes de onda. Con la luz

solar se limita la cantidad de previtamina D3 que se sintetiza, que es menor del 12-15% del total de la mezcla²⁵. Una vez formada, la vitamina D sale de la membrana plasmática del queratinocito y pasa a los capilares de la dermis, a través de la proteína transportadora de la vitamina D (PTVD).

La vitamina D procedente de la dieta se incorpora a los quilomicrones, que se liberan al sistema linfático drenando finalmente en sangre venosa, donde se une a la PTVD para llegar al hígado²⁶. La vitamina D3 y la D2, procedentes de la piel o de la dieta respectivamente, sufren una primera hidroxilación en su posición 25 por la enzima hepática vitamina D-25-hidroxilasa (CYP2R1), para formar la 25-hidroxi-vitamina D (25(OH)D), el metabolito circulante de la vitamina D más abundante y el que se utiliza para determinar el estatus de vitamina D de un individuo, ya que sus concentraciones se mantienen más estables a lo largo del día. Este metabolito se somete a una segunda hidroxilación a nivel renal por la enzima 25(OH)D-1 α -hidroxilasa (CYP27B1) para formar la hormona secosteroidea 1,25(OH)2D. La 1 α -hidroxilación renal está regulada estrechamente, de forma que se estimula por el influjo de la PTH, hipocalcemia e hipofosfatemia y se inhibe por la hiperfosfatemia, factor de crecimiento fibroblástico 23 y la propia 1,25(OH)2D²⁷.

1.2.5. Factores que influyen en la síntesis

1.2.5.1. Factores externos

Para que ocurra síntesis de vitamina D un fotón debe alcanzar la molécula de 7DHC. En su trayecto desde el Sol, debe atravesar diversas capas de la atmósfera, donde se va atenuando su energía. Por tanto, cuanto más vertical sea la trayectoria de la radiación solar o cuanto menor sea el ángulo que se forma entre la incidencia de la radiación solar y la vertical (ángulo cenital solar) menos se atenuará la energía de los fotones y más vitamina D podrá sintetizarse. El ángulo cenital solar es menor en verano, a mediodía y a bajas latitudes.

McLaughlin et al.²⁸ demostraron por primera vez que la población en Gran Bretaña alcanza los niveles séricos máximos de 25(OH)D en septiembre y los mínimos en diciembre. Webb et al.²⁹ demostraron que en latitudes superiores a 35° no había síntesis cutánea de vitamina D desde noviembre a marzo. Fenómenos como las nubes y las partículas en suspensión disminuyen la cantidad de radiación que llega a la superficie, por lo que en áreas urbanas y zonas contaminadas la síntesis de vitamina D se ve reducida. En áreas urbanas como Los Ángeles o Ciudad de México, donde los niveles de dióxido de nitrógeno y de ozono son elevados, pocos fotones de radiación UVB alcanzan a sus habitantes²⁷. A mayores altitudes, menor espesor de la atmósfera debe atravesar la radiación, por lo que la atenuación será menor y llegarán más fotones a la superficie de la tierra. Como el cristal absorbe toda la radiación UVB, no se produce vitamina D cuando la piel se expone a radiación solar a través de un cristal²⁷.

1.2.5.2. Factores personales

- Tipo de piel:

La cantidad de previtamina D3 que puede sintetizar nuestra piel está determinada genéticamente y se relaciona con el fototipo. La melanina, más abundante en la piel oscura, al mismo tiempo que protege de las quemaduras solares absorbe los fotones impidiendo que éstos incidan sobre el 7DHC. Al mismo tiempo, la distribución geográfica de la población se relaciona con su fototipo: los fototipos claros (I y II de Fitzpatrick) originarios de latitudes altas en las que el riesgo de quemadura solar es mínimo, maximizan el efecto de la escasa radiación UV que les llega para sintetizar previtamina D3; por el contrario, los fototipos altos (V y VI de Fitzpatrick) son originarios de latitudes bajas, a los que las grandes cantidades de melanina les protege de quemaduras solares pero la melanina ejerce un efecto pantalla que les hace requerir de grandes exposiciones a la radiación UV para la

síntesis de previtamina D₃. Sin embargo, los movimientos migratorios provocan el aumento de riesgo de quemaduras solares y cáncer en los individuos de fototipo bajo que migran más cerca del ecuador y el déficit de síntesis de vitamina D en aquellos individuos de piel oscura que se alejan del ecuador.

Aunque eritema y síntesis de vitamina D no representan el mismo concepto, la dosis eritematosa mínima es un buen predictor de la capacidad de la piel para sintetizar vitamina D. No obstante, la síntesis de vitamina D ocurre a dosis suberitematosas de radiación UV. La síntesis de vitamina D llega a un plateau pocos minutos después del inicio de la exposición solar. Pasado este tiempo, la vitamina D es al mismo tiempo fotolábil y se convierte en productos inactivos con exposiciones prolongadas²⁹. Por tanto, en ningún caso estaría justificada una quemadura solar en búsqueda del aumento de síntesis de vitamina D.

- Edad:

El envejecimiento lleva asociado diversas circunstancias que justifican un descenso de los niveles de vitamina D, como son la falta de exposición solar en pacientes encamados, disminución de ingesta dietética y malabsorción³⁰. A estas circunstancias se suma la disminución de la eficiencia en la síntesis de vitamina D: Se estima que la concentración de 7DHC se reduce a la mitad desde la adolescencia a la senectud³⁰, lo que implica reducir a la mitad las posibilidades de sintetizar vitamina D.

- Ropa:

La cantidad de piel que se expone a la radiación UV influye en los niveles de vitamina D. Si se expone la cabeza y cuello a la radiación UV durante 20 minutos se produce aproximadamente la misma cantidad de vitamina D que si exponemos

todo el cuerpo durante 2 minutos²³. Por tanto, la cultura y la religión condicionarán también la síntesis de vitamina D, que se ve reducida en aquellas culturas en las que existe la costumbre o la obligación de vestir velo, especialmente el velo integral³¹. Otros factores que modifican nuestro estilo de vestir, como son la moda, la edad y la temperatura del ambiente, condicionarán también la síntesis de vitamina D.

- Protección solar:

Los protectores solares fueron ideados para evitar que la radiación UVB, y más recientemente la UVA, alcancen nuestra piel, por lo que son también una barrera para la síntesis de vitamina D. Si se aplica correctamente un protector solar con factor de protección solar (FPS) 15 la síntesis de vitamina D se reduce un 99.9%; si se utiliza un FPS 8 la reducción de la síntesis es del 97.5%³², aunque en la práctica es muy poco frecuente que se aplique el protector solar de forma adecuada para que mantenga las propiedades que se testan in vitro³³. Además, la aplicación de protector solar se suele asociar a exposiciones más intensas y prolongadas a la radiación UV, por lo que finalmente se compensa el efecto que el protector solar podría ejercer sobre los niveles de vitamina D.

1.2.6. Niveles de 7DHC y vitamina D:

Intuitivamente, se podría pensar que los trastornos malabsortivos o la toma de fármacos que disminuyan los niveles de colesterol disminuyen los niveles de 7DHC y por tanto de vitamina D, pero no es el caso. En un estudio llevado a cabo con pacientes con enfermedad de Crohn o cirrosis biliar primaria que presentaban déficit de vitamina D se encontraron niveles normales de 7DHC en su piel, incluso más alta que en controles³⁴.

Un estudio llevado a cabo con pacientes con cardiopatía isquémica aguda demostró que el tratamiento con atorvastatina como prevención secundaria, además de disminuir los niveles de colesterol y triglicéridos, conseguía aumentar los niveles de vitamina D³⁵. Sin embargo, los quemados sí que presentan menos niveles de 7DHC no sólo en las cicatrices de sus quemaduras sino también en la piel adyacente³⁶. Además, en estos pacientes también se ve mermada la capacidad de convertir el 7DHC en previtamina D3.

El síndrome de Smith-Lemli-Opitz es una enfermedad autosómica recesiva que se caracteriza por la presencia de anomalías congénitas múltiples, déficit intelectual y problemas de comportamiento. Su origen está en una mutación que conduce al déficit del enzima 3 beta-hidroxiesteroide-delta 7-reductasa, que convierte el 7DHC en colesterol, y se caracteriza por presentar concentraciones elevadas de 7DHC en plasma y tejidos y niveles bajos de colesterol. Sin embargo, en estos pacientes no se observan niveles elevados de 25(OH)D ni de 1,25(OH)2D³⁷.

1.2.7. Recomendaciones dietéticas de vitamina en población general

Las recomendaciones actuales de ingesta de vitamina D, según el Institute of Medicine (IOM), quedan recogidas en la tabla 4:

Tabla 4. Recomendaciones dietéticas diarias de vitamina D según el IOM para población sana. UI: unidades internacionales, teniendo en cuenta que 1 microgramo (mcg) equivale a 40 UI.

Grupo de edad	Necesidades diarias (UI/d)	Límite superior (UI/d)
0-6 meses	400	1000
6-12 meses	400	1500
1-3 años	600	2500
4-8 años	600	3000
9-70 años	600	4000
>70 años	800	4000

Estas recomendaciones han sido suscritas por la American Academy of Dermatology, que puntualiza además que dadas las nuevas evidencias sobre los efectos de estas vitaminas, estos valores están pendientes de revisar al alza, de forma que el aporte dietético permita sustituir en parte a la exposición solar, dado el riesgo de cáncer de piel que se deriva de la misma³⁸.

1.2.8. Relación entre PTH y vitamina D

Existe una relación inversa entre 25(OH)D y PTH en suero. El déficit de vitamina D produce un aumento de la PTH, que a su vez estimula el turnover óseo e induce la resorción ósea. La hipocalcemia produce el mismo efecto inductor sobre la liberación de PTH, que estimulará la 1-alfa hidroxilación de la 25(OH)D para aumentar los niveles de la forma activa de la vitamina, que finalmente captará más calcio de intestino y riñón³⁹. Al mismo tiempo, la 1,25(OH)2D inhibe la transcripción del gen de la PTH, lo que sirve de mecanismo autorregulador para mantener los niveles de PTH.

1.2.9. Definición de valores normales de vitamina D

La prevalencia del déficit o de la insuficiencia de vitamina D dependerá del punto de corte que utilicemos. Sin embargo, no existe consenso sobre cuál debe ser dicho punto de corte. Tradicionalmente, se ha dicho que valores por debajo de 10 ng/ml inducen hiperparatiroidismo secundario y osteoporosis, mientras que niveles por encima de 20 ng/ml eran considerados normales. Paralelamente a la atribución de nuevas funciones a la vitamina D, ha ido aumentando el umbral de recomendación de esta vitamina. Según el IOM, concentraciones séricas de 25(OH)D por encima de 50 nmol/l (20 ng/ml) son suficientes para mantener el buen estado de los huesos en el 97% de la población⁴⁰. Sin embargo, estos valores no son compartidos por la Endocrine Society⁴¹, que propone 20 ng/ml como punto de corte para el déficit de

vitamina D y 30 ng/ml para la insuficiencia de esta vitamina. Un estudio llevado a cabo en Oviedo encuentra que para garantizar la prevención de hipoparatiroidismo secundario se deben mantener niveles de vitamina D por encima de 40 ng/ml⁴².

En la práctica, los puntos de corte que más se han utilizado en los artículos publicados sobre ensayos clínicos han sido 10 ng/ml para déficit^{31,43-46} y 30 ng/ml para insuficiencia^{22,47-50}. El punto de corte de 20 ng/ml ha sido utilizado tanto para definir el déficit^{22,49} como para la normalidad^{31,35,45,46,51-53}. En algunos estudios acerca de lupus y vitamina D se ha utilizado 15 y 30 ng/ml para definir el déficit y la insuficiencia de vitamina D^{42,48}.

Como vemos, existe mucha controversia sobre cuáles deben ser los puntos de corte y disparidad en los valores utilizados hasta ahora. En este estudio hemos utilizado 10 y 30 ng/ml como puntos de corte. Sin embargo, cuando el número de participantes que quedaban en un estrato era demasiado bajo para permitir el análisis de los datos, hemos utilizado 15 ng/ml o 20 ng/ml según convenía.

1.2.10. Ubicuidad del receptor de la vitamina

La 1,25(OH)2D ejerce su acción a través del receptor de vitamina D (VDR). La identificación del VDR en los últimos años en tejidos diferentes a riñón, intestino y hueso ha abierto la puerta a la investigación de nuevas funciones para esta vitamina. La Tabla 5 recoge los resultados de las investigaciones sobre la presencia del VDR en diversos tejidos.

Tabla 5: Tejidos donde se ha investigado la expresión del receptor de la vitamina D. Adaptado de Wang et al.⁵⁴

Tejido	Cantidad de VDR que se expresa	Tipo de células en las que se encuentra
Intestino Delgado	+++++++	Epitelio
Intestino Grueso	++++++	Epitelio
Hígado	-	
Páncreas	+++	Células epiteliales beta
Riñón		
Túbulo distal	+++++++	Células epiteliales y podocitos
Túbulo proximal	++	
Podocitos glomerulares	+	
Sistema respiratorio		
Células alveolares	-	Epitelio
Bronquios	+++++	
Hueso		
Osteoblastos	+++++	Osteoblastos
Condrocitos	+	Condrocitos
Músculo ⁵⁵	+	
Sistema inmune		
Timo	+++++	Monocitos/macrófagos, Linfocitos T y B, Neutrófilos
Bazo / ganglios linfáticos	++	
Sistema endocrino	+++++++	
Tiroides	-	Epitelio glándulas paratiroides
Paratiroides	+++++++	
Hipófisis	+++	
Glándulas suprarrenales	-	
Encéfalo	-	
Sistema reproductor	++++	Células germinales testiculares, epitelio de próstata y mama
Testículos	++	Células germinales
Próstata	++++	Epitelio
Mama	++++	Epitelio

La 1,25(OH)₂D ejerce sus numerosas acciones biológicas regulando la transcripción genética a través de un receptor nuclear de vitamina D de alta afinidad. El metabolito activo de la vitamina D se une a este receptor que se une al receptor X del ácido retinoico para formar un dímero que se une a secuencias específicas del ADN conocidas como elementos de respuesta a la vitamina D. Se estima que entre 200 y 2000 genes poseen elementos de respuesta a la vitamina D o se están regulados por genes con dichas secuencias²⁷. Un estudio de microarrays sobre la influencia del estatus de vitamina D y suplementos de colecalciferol en la expresión genética en leucocitos antes y después de los suplementos de vitamina D encuentra que la mejoría en la concentración de 25(OH)D se asocia con la alteración en 1.5 veces de la expresión de 291 genes⁵⁶. Este estudio sugiere que el aumento de los niveles de vitamina D afectaría significativamente a la expresión de genes relacionados con diferentes rutas metabólicas implicadas en cáncer, trastornos autoinmunes y enfermedad cardiovascular, procesos que han sido relacionados con el déficit de vitamina D⁵⁶.

1.2.11.1. Acciones de la vitamina D

La forma activa de la vitamina D es la 1,25(OH)₂D⁵⁷. Además de su papel protector ante fracturas óseas, raquitismo, osteomalacia y osteoporosis, se cree que la vitamina D ejerce un papel protector sobre un amplio espectro de enfermedades crónicas, incluyendo cáncer, enfermedad cardiovascular, trastornos metabólicos, enfermedades mentales y trastornos autoinmunes. El déficit de vitamina D se ha asociado a tasas más elevadas de tuberculosis⁵⁸ y se ha relacionado la estacionalidad de la epidemia de la gripe con las fluctuaciones en los niveles de vitamina D⁵⁹.

1.2.11.1. Acción a nivel intestinal y renal:

La importancia de la vitamina D radica en el papel que ejerce sobre el metabolismo del calcio y fósforo y su repercusión en la salud ósea. La función más importante de la vitamina D es optimizar la absorción de calcio y fósforo (fosfato cálcico) a nivel intestinal para la formación adecuada de la matriz mineral ósea y la prevención de la hipocalcemia e hipofosfatemia. La 1,25(OH)₂D regula estrechamente la función de los transportadores del calcio que existen tanto en la pared luminal del enterocito, especialmente a nivel del duodeno, como en la pared basal del enterocito, controlando de esta manera la cantidad de calcio que pasa al torrente sanguíneo. Además, la 1,25(OH)₂D induce la expresión de genes que favorecen la absorción intestinal de calcio. Se estima que con niveles bajos de vitamina D, el cuerpo no absorbe más del 10-15% del calcio de la dieta; con niveles suficientes de esta vitamina, la absorción intestinal asciende al 30-40%²².

A nivel renal, la 1,25(OH)₂D disminuye la excreción tubular de calcio y fósforo.

1.2.11.2. Acción sobre el metabolismo óseo:

A nivel óseo, la 1,25(OH)₂D favorece el aumento de proteínas de la matriz ósea, como son la osteocalcina, osteopontina y colágeno tipo I. Además, estimula la diferenciación osteoclástica y su actividad.

- La administración de cantidades extremas de vitamina D causa absorción ósea. En ausencia de vitamina D, el efecto de la PTH en la absorción ósea se reduce significativamente. No se conocen en detalle los mecanismos por los que se produce este resultado: se cree que ocurre por el efecto de la 1,25(OH)₂D en el aumento del transporte de calcio a través de la membrana celular.

- La vitamina D en cantidades pequeñas promueve la calcificación ósea, tanto directamente como mediante el aumento de la absorción intestinal de calcio y fósforo.

1.2.11.3. Otras acciones de la vitamina D

1.2.11.3.1. Vitamina D y sistema cardiovascular:

Numerosos estudios epidemiológicos, algunos prospectivos, y metaanálisis han demostrado la asociación inversa entre niveles de vitamina D y riesgo cardiovascular. Un análisis prospectivo reciente sobre incidencia de factores de riesgo cardiovascular y niveles de vitamina D⁶⁰ encontró que niveles inferiores a 30 ng/ml de 25(H)D se asocia a un aumento significativo de diabetes, hipertensión, hiperlipidemia y enfermedad vascular periférica. Además, aquellos pacientes sin factores de riesgo previos para enfermedad cardiovascular pero con deficiencia severa de vitamina D, veían aumentada la probabilidad de desarrollar diabetes tipo 2, hipertensión e hiperlipidemia. Encuentran también una alta correlación inversa entre niveles de vitamina D y enfermedades coronarias, infartos de miocardio, fallo cardíaco e ictus. Estos resultados han sido corroborados por otros estudios más pequeños⁶¹. En el caso de los pacientes con LES, se ha observado una correlación inversa entre los niveles de 25(OH)D y la tensión arterial diastólica, LDL colesterol, lipoproteína a, índice de masa corporal y DM-II⁶².

1.2.11.3.2. Vitamina D y función muscular:

El déficit de vitamina D se asocia a dolor muscular difuso, debilidad muscular de predominio proximal, enlentecimiento de movimientos e inestabilidad para la marcha. Probablemente su origen es multifactorial y se relaciona con el

hiperparatiroidismo secundario, hipocalcemia, hipofosfatemia y déficit de la propia 1,25(OH)₂D⁶³.

Niveles de vitamina D por encima de 16 ng/ml se asocian con mejor función muscular en miembros inferiores en pacientes ancianos⁶⁴. Los suplementos de calcio y vitamina D reducen más el riesgo de caídas que el calcio sólo en la población anciana⁶⁵. Un metaanálisis mostró que el uso de suplementos de 700 a 1000 UI/día o niveles séricos de 25(OH)D ≥24 ng/ml reduce el riesgo de caídas un 19% y 23% respectivamente⁶⁶.

1.2.11.3.3. Vitamina D y cáncer:

Tanto el VDR como la 1- α -hidroxilasa se expresan en la mama, colon, próstata y páncreas entre otros tejidos, tanto en las células normales como en las malignas²². Numerosos estudios, tanto in vivo como in vitro, han demostrado que el tratamiento de estas células con vitamina D o análogos disminuye su proliferación, mientras que su déficit promueve su proliferación.

El efecto antineoplásico de la vitamina D deriva de su acción inhibitoria sobre los genes que regulan el ciclo celular, la inducción de apoptosis y la reducción de la capacidad de invasión y angiogénesis. El efecto antiproliferativo de la vitamina D podría ocurrir tanto de forma autocrina como paracrina, mediante la conversión de la 25(OH)D en 1,25(OH)₂D.

Un estudio con mujeres postmenopáusicas a las que se trató con calcio, calcio más vitamina D o placebo detectó una reducción significativa en la incidencia de cáncer (de cualquier tipo) en el grupo que recibió calcio más vitamina D⁶⁷.

1.2.11.3.4. Vitamina D y sistema inmune:

Cada vez son más numerosos los estudios que relacionan la vitamina D con la función inmune e inflamatoria. Se ha demostrado el papel de la vitamina D en la respuesta inmune y la susceptibilidad a agentes infecciosos como *M. Tuberculosis*⁶⁸ o infecciones víricas y bacterianas del tracto respiratorio⁶⁹. El VDR se expresa ampliamente en células del sistema inmune incluyendo linfocitos T y B, neutrófilos y CPA como los macrófagos.

Los niveles bajos de vitamina D se han asociado de forma repetida al aumento del riesgo de esclerosis múltiple. Un estudio llevado a cabo sobre 7 millones de militares en Estados Unidos demostró que el déficit de vitamina D antes de los 20 años es un predictor para el desarrollo de la enfermedad en participantes de raza blanca, de forma que si aumentan los niveles en 20 ng/ml la OR para la aparición de la enfermedad es de 0.59 (IC 95% 0.36-0.97)⁷⁰.

Igualmente, además de la relación entre déficit de vitamina D y el desarrollo de diabetes tipo II, diversos estudios epidemiológicos han observado que la ingesta de vitamina D en edades tempranas reduce el riesgo del desarrollo posterior de diabetes tipo I⁷¹⁻⁷³. Esta reducción podría cifrarse en el 26% si se suplementa la dieta con aceite de hígado de bacalao⁷¹, 33% con suplementos de vitamina D en general⁷² y hasta el 78% si se administra 2000 UI al día de vitamina D⁷³. Estos estudios evidencian la importancia de mantener niveles adecuados de vitamina D desde la infancia.

1.2.11.3.4.1. Vitamina D e inmunidad innata:

Las primeras muestras del efecto de la vitamina D sobre la inmunidad innata se observaron en 1986, cuando Rook descubrió la capacidad de la 1,25(OH)2D de

inhibir el crecimiento de *M. Tuberculosis*⁷⁴. Sin embargo, hasta la década pasada no se ahondó en el estudio de los mecanismos por los que se producía este efecto. Se ha observado que existen elementos de respuesta a la vitamina D en la región promotora del gen de la catelicidina, que es un péptido antimicrobiano que se encuadra dentro del grupo de defensinas⁷⁵. Posteriormente se ha visto que la 1,25(OH)2D induce la expresión de catelicidina en las células de estirpe mieloide⁷⁶, células del epitelio bronquial⁷⁷ y queratinocitos⁷⁸. Se ha visto además que la 25(OH)D también puede inducir de forma autocrina la síntesis de la catelicidina en aquellas células que expresan la 1-alfa-hidroxilasa⁷⁸. Esta enzima, además de expresarse en el túbulo proximal renal, puede expresarse en otras células ante estímulos patológicos, que activarían la respuesta inmune a través de receptores tipo Toll⁶⁸. Esto ocurre con *M. Tuberculosis*, que estimula los receptores tipo toll 2 de los macrófagos, e inducen en éstos tanto la expresión de 1-alfa-hidroxilasa como del VDR, promoviendo la inducción paracrina de catelicidina y la muerte bacteriana en respuesta a 25(OH)D.

Este mecanismo se da sobre todo en macrófagos, pero no es exclusivo de los mismos, ya que también se ha observado la inducción de catelicidina en los queratinocitos en respuesta a la síntesis autocrina de 1,25(OH)2D, aunque requiere la inducción previa de la expresión de receptores tipo toll 2⁷⁹. En ausencia de estos receptores, la expresión de factor de crecimiento transformante beta-1 (FCT-β1) parece tener un papel importante como inductor de la síntesis de 1-alfa-hidroxilasa⁷⁹.

1.2.11.3.4.2. Vitamina D e inmunidad adaptativa

El hecho de que el VDR se exprese en linfocitos T y B activados, pero no en los inactivos, sugiere el papel modulador que puede desempeñar la vitamina D en la respuesta inmune adquirida o adaptativa.

- Linfocitos B: la acción inmunomoduladora de la 1,25(OH)₂D sobre los linfocitos B ocurre tanto de forma indirecta, a través de los linfocitos T helper (Th), como directa⁸⁰. En definitiva, el papel de la 1,25(OH)₂D sobre los linfocitos B consiste en disminuir su proliferación, su diferenciación a células plasmáticas y su cambio de clase a células B memoria.
- Linfocitos T: La 1,25(OH)₂D disminuye la proliferación de linfocitos Th y la producción de citoquinas por parte de los mismos. La activación de linfocitos Th naïve ante la exposición a antígenos da lugar a la generación de linfocitos Th0 pluripotentes que pueden diferenciarse a Th1 (productores de citoquinas IL2, IFN-γ o FNT, implicados en la inmunidad celular) o a Th2 (productores de citoquinas como IL-3, IL-4, IL-5 o IL-10, implicados en la inmunidad humoral). La 1,25(OH)₂D tiene la propiedad de inhibir las citoquinas Th1⁸¹ y aumentar las Th2⁸². Además, en los últimos años se ha visto que la 1,25(OH)₂D induce la generación de linfocitos T reguladores CD4+CD25+ productores de IL-10 (T-reg). Antes conocidos como linfocitos T supresores, los T-reg inducen la tolerancia a autoantígenos, por lo que son un elemento clave en la patogenia de enfermedades autoinmunes y enfermedad injerto contra huésped.
- Células dendríticas: Los efectos tolerogénicos de la 1,25(OH)₂D en la presentación de antígenos de las células dendríticas parecen estar limitados a las células dendríticas mieloides, y no a las plasmacitoides. La 1,25(OH)₂D disminuye la maduración de las células dendríticas y estimula la liberación de IL-10 por parte de las mismas, que actuará inhibiendo a los linfocitos Th1 e induciendo a los T-reg.

1.3. RADIACIÓN ULTRAVIOLETA

La luz UV (200-400 nm) se subdivide en función de la longitud de onda en UVA (320-400 nm), UVB (290-320 nm) y UVC (200-290 nm). La luz solar habitualmente sólo contiene radiación UVA y UVB, ya que la UVC es absorbida por la capa de ozono. La radiación UVA penetra a través de las capas de la epidermis y dermis y es absorbida débilmente por las biomoléculas; sin embargo, la radiación UVB no penetra mucho más allá de la epidermis y se absorbe intensamente por el ADN y proteínas. Por tanto, la radiación UVB tiene efectos fotobiológicos más importantes, incluyendo la inducción de apoptosis por diversos mecanismos que incluyen daño directo del ADN y formación de especies reactivas de oxígeno. Durante el proceso de la apoptosis, muchos autoantígenos sufren una traslocación al lado externo de la membrana celular, de forma que quedan expuestos al sistema inmune⁸³.

La radiación UVB induce la producción de citoquinas necesarias para reclutar células dendríticas, linfocitos y macrófagos. Estas células son necesarias para retirar los cuerpos apoptóticos. Esta acción quimiotáctica se produce porque las células de Langerhans, presentes en la epidermis, migran a los ganglios linfáticos cuando incide la luz UVB⁸⁴. Las lesiones de LEC no se reproducen inmediatamente tras la aplicación de radiación UV, sino que alcanza su máximo efecto 2-3 semanas después⁸⁵.

1.4. VITAMINA D Y LUPUS

La función más conocida de la vitamina D es su papel en la homeostasis del calcio, estimulando su absorción a nivel intestinal y renal y contribuyendo a la mineralización óptima del hueso y a la reducción del riesgo de fracturas. Sin embargo, como hemos comentado previamente, se han demostrado otras funciones menos conocidas de la vitamina D, incluyendo efectos importantes en la regulación de la proliferación y diferenciación celular y modulación de la respuesta inmune. Probablemente, el principal papel inmunomodulador de la vitamina D sea a través del desarrollo de células dendríticas con propiedades tolerogénicas⁸⁶. La 1,25-dihidroxi-vitamina D inhibe la producción de IL-12 y, secundariamente, la transformación de las células Th1 en un fenotipo Th2. Con respecto a las células B, la adición in vitro de 1,25-dihidroxi-vitamina D suprime la proliferación de células B estimuladas, además de reducir directamente la secreción de inmunoglobulinas⁸⁶.

Kamen et al.⁸⁷ comenzaron a estudiar la prevalencia de insuficiencia y deficiencia de vitamina D en pacientes con LE sistémico y hallaron en esta población niveles significativamente más bajos que en los controles. Desde entonces han proliferado los estudios en la misma línea que corroboran esta observación en pacientes con LES. Sin embargo, son escasos en la literatura los estudios acerca de los niveles de vitamina D en pacientes con LEC, y en éstos, no se diferencian los pacientes diagnosticados de LEC de otros pacientes con LES con manifestaciones cutáneas de la enfermedad⁸⁸. Por tanto, después de una cuidadosa revisión bibliográfica, encontramos la necesidad de llevar a cabo un estudio que valore los niveles de vitamina D en los pacientes con LE exclusivamente cutáneo y aquellos rasgos de la enfermedad o de la conducta de los pacientes que se asocian a déficit de vitamina D. De esta forma, pretendemos anticipar los problemas de salud a los que se

expone una población cuyos hábitos de vida les puede conducir a trastornos, principalmente en su metabolismo óseo, que de ser conocidos, podrían evitarse mediante una profilaxis adecuada.

2.OBJETIVOS

2.1. OBJETIVOS GENERALES

Llevamos a cabo este estudio con el objetivo de conocer los niveles de vitamina D en pacientes con LEC. Para poder interpretar los resultados obtenidos estudiamos también los niveles de vitamina D en población general. En ambos grupos, tratamos de identificar aquellos factores que se asocian a déficit de esta vitamina y valoramos el efecto del tratamiento del déficit de vitamina D en la gravedad de la enfermedad y en los niveles de vitamina D.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. *Artículo 1:* El objetivo fue conocer la prevalencia del déficit e insuficiencia de vitamina D en pacientes con LEC e identificar aquellas variables demográficas o de la enfermedad asociadas a dicho déficit.
2. *Artículo 2:* En este trabajo estudiamos el estatus de vitamina D en población general e investigamos qué variables influían en los niveles de vitamina D.
3. *Artículo 3:* En este estudio valoramos la relación entre niveles de vitamina D y colesterol en población general y la relación con el tratamiento con estatinas.
4. *Artículo 4:* Finalmente, en este estudio comparamos el estatus de vitamina D en pacientes con lupus y en población general, valoramos la relación entre niveles de vitamina D y gravedad de la enfermedad y estudiamos el efecto de la corrección de los niveles de vitamina D en la gravedad de la enfermedad.

3.MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se ha desarrollado en el Hospital Universitario Doctor Peset de Valencia, que es el hospital de referencia del área 9 de Salud de la Agencia Valenciana de Salud. En el momento de iniciar el estudio, este hospital daba cobertura sanitaria a 377820 ciudadanos. Valencia es una ciudad costera ubicada a una latitud de 39° 28' 50" N y longitud de 0° 21' 59" O, 11 metros por encima del nivel del mar, con una humedad relativa del 65% en verano y una media de 2660 horas de sol al año.

3.1. PARTICIPANTES

Se crearon dos grupos de participantes:

A. Individuos con LEC: Invitamos a participar en el estudio a todos aquellos pacientes con LE cutáneo que acudieron a nuestra consulta entre mayo y octubre de 2008. Entre los criterios de inclusión figuraban:

- Diagnóstico de LEC de al menos 1 año de evolución, en base a criterios clínicos, histológicos y analíticos
- LEC crónico o subagudo
- Mayor de 18 años

Los criterios de exclusión fueron los siguientes:

- Pacientes con manifestaciones extracutáneas de la enfermedad
- Pacientes que cumplieran al menos cuatro criterios del American College of Rheumatology (ACR) de LES.
- Insuficiencia renal
- Hiperparatiroidismo
- Embarazo
- Tratamiento crónico con corticoides sistémicos.

A. Los individuos aparentemente sanos fueron captados en el mismo período entre los familiares de pacientes que acudían a la consulta y personal sanitario que trabajaba en el centro.

Los criterios de inclusión eran ser mayor de edad y los criterios de exclusión fueron los siguientes:

- Historia de enfermedad fotoagravada
- Tratamiento crónico con corticoides orales
- Insuficiencia renal
- Hiperparatiroidismo

Todos los participantes dieron su consentimiento informado para ser incluidos en el estudio, de acuerdo con la Declaración de Helsinki. El comité ético del hospital aprobó el protocolo del estudio (CEIC 20/09)

Artículo 1: En este trabajo se siguieron los criterios de inclusión y exclusión mencionados anteriormente. Se trata de un estudio piloto de comparación del estatus de vitamina D en pacientes con LE cutáneo y controles.

Artículo 2: En este trabajo incluimos solamente a participantes aparentemente sanos, es decir, aquellos que no tenían el diagnóstico de LE.

Artículo 3: Al igual que en el segundo trabajo, solo incluimos a aquellos individuos aparentemente sanos. Además de los criterios de exclusión comunes al resto de artículos, excluimos también a los participantes con hipercolesterolemia familiar y a aquellos con cardiopatía isquémica.

Artículo 4: Éste es el estudio definitivo que llevamos a cabo después de ampliar el tamaño de la muestra utilizada en el primer trabajo. En este trabajo se incluyeron a todos los pacientes con LEC y a dos controles apareados por edad (± 2 años) y sexo.

Para la segunda fase de este trabajo, se excluyeron a aquellos pacientes con LEC que recibían tratamiento con suplementos de vitamina D en el momento de su inclusión.

3.2. DISEÑO DEL ESTUDIO

Artículos 1, 2 y 3: Se trata de estudios transversales observacionales. El estudio del primer artículo es caso control.

Artículo 4: Este estudio consta de dos fases: la primera fase es un estudio transversal observacional caso control, siendo los casos aquellos participantes con lupus, y los controles los participantes sanos. La segunda fase transcurre un año después de la primera. Se trata también de un estudio observacional retrospectivo, en el que se compara a los pacientes con LEC que han recibido tratamiento para su déficit de vitamina D frente a los que no se han tratado, en cuanto a la gravedad de la enfermedad.

3.3. EVALUACIÓN CLÍNICA BASAL

Artículos 1-4: Todos los participantes fueron evaluados en el momento de su inclusión para conocer edad, sexo, enfermedades crónicas, medicación habitual, toma de suplementos dietéticos, uso de protectores solares, exposición solar habitual, hábito tabáquico y menopausia. En la exploración clínica pesamos y medimos a los participantes para conocer su índice de masa corporal (IMC) y determinamos el fototipo de Fitzpatrick. Además, estudiamos la ingesta media

diaria de vitamina D basándonos en la cantidad y frecuencia de ingesta de alimentos ricos en vitamina D durante la semana previa a la encuesta.

Artículos 1 y 4: Ampliamos el interrogatorio a los pacientes con lupus para conocer si presentaban síntomas de fotosensibilidad, tiempo de evolución y tratamiento actual para su enfermedad y gravedad de la misma. Para evaluar la gravedad de la enfermedad nos basamos en tres parámetros:

- número de brotes de su enfermedad durante el año previo,
- número de días con lesiones activas
- Cutaneous Lupus Erythematosus Disease Area and Severity Index (CLASI): se trata de una herramienta que cuantifica la gravedad del LEC considerando tanto la actividad de la enfermedad, en forma de eritema y descamación, como el daño provocado por la misma, en forma de despigmentación y cicatrices, tomando como referencia trece áreas corporales. El resultado se expresa en forma de dos valores numéricos uno para la actividad (CLASI A) y otro para el daño (CLASI D), representando los valores más altos a las formas más graves de la enfermedad⁸⁹.

3.4. TRATAMIENTO INDICADO Y CRITERIO PARA SELECCIÓN DE PACIENTES TRATADOS

Recomendamos el tratamiento con vitamina D3 a los pacientes con LEC que presentaban niveles insuficientes de esta vitamina y que acudieron a nuestra consulta en junio o julio de 2008. Para crear un grupo control, dejamos sin tratamiento a los pacientes con LEC que acudieron a consulta después de julio de 2008. El esquema del tratamiento fue el siguiente:

- Durante 40 días tomaron vitamina D3 Kern, solución oleosa, 15 gotas al día, e Ideos® comprimidos masticables, un comprimido al día. Esta combinación suma 1400 UI de colecalciferol y 1250 mg de carbonato cálcico al día.

- Pasados los primeros 40 días suspendían la vitamina D3 Kern y seguían con dos comprimidos al día de Ideos® comprimidos masticables, sumando 2500 mg de carbonato cálcico y 800 UI de colecalciferol al día, hasta completar un año de tratamiento.

Los pacientes que, a pesar de tener niveles insuficientes de vitamina D y acudir en junio o julio de 2008 a la consulta, no deseaban recibir tratamiento para la insuficiencia de vitamina D, fueron asignados al grupo control, como también lo fueron aquellos pacientes que tenían contraindicado este tratamiento.

3.5. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

Artículos 1-4: Durante el mes siguiente a la entrevista se extrajo una muestra de sangre en ayunas a los pacientes para determinar los valores de 25(OH)D, PTH, calcio y fósforo, urea y creatinina. Medimos la 25(OH)D y la PTH mediante inmunoensayo de quimioluminiscencia.

Artículo 3: Además de las determinaciones comunes, medimos glucosa, colesterol total, HDL colesterol y triglicéridos. Calculamos el LDL colesterol mediante la ecuación de Friedewald.

Artículos 1 y 4: A los pacientes con LEC se les midió también los niveles de la fracciones C3 y C4 del complemento y anticuerpos antinucleares (ANA) en el momento de inclusión en el estudio.

Artículo 4: Los pacientes con LEC que tomaron los suplementos de vitamina D se sometieron a una segunda determinación analítica después de un año de tratamiento para medir calcio, fósforo, 25(OH)D y PTH.

3.6. EFECTO DE LA INTERVENCIÓN

Artículo 4: Indicamos a los pacientes con LEC que no modificaran su tratamiento sin nuestro conocimiento y les pedimos que no cambiaran sus hábitos de vida en todo aquello que pudiera interferir con los resultados.

Contactamos con los pacientes del grupo de tratamiento cada tres meses. Aquellos pacientes que no se citaron a consulta fueron contactados por teléfono. En estas evaluaciones trimestrales preguntamos por la adherencia al tratamiento y la posible aparición de efectos adversos, en especial, aquellos sugestivos de hipercalcemia o hipercalciuria y determinando, si así lo requería, niveles séricos o urinarios de calcio. Consideramos cumplidores del tratamiento a aquellos pacientes que refirieron haber tomado la medicación al menos el 75% de las tomas.

Un año después del inicio del tratamiento, los pacientes con LEC fueron reevaluados por el mismo dermatólogo que le evaluó en la visita basal. En esta visita final se evaluó la gravedad de la enfermedad con los siguientes parámetros:

- número de brotes de su enfermedad durante el año previo
- número de días con lesiones activas
- CLASI A y D
- Valoración global por parte del paciente: formulamos la pregunta “¿Cómo está usted en cuanto al lupus con respecto a hace un año?”, a la que los pacientes podían responder “mejor”, “igual” o “peor”.

Los pacientes que tomaron el tratamiento se sometieron además a una nueva analítica para medir los niveles de calcio, fósforo y 25(OH)D.

3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Artículos 1 y 4: Comparamos los niveles de vitamina D en los pacientes y los controles. Evaluamos la normalidad en la distribución de las variables continuas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Todas las variables continuas presentaron una distribución normal salvo los niveles de vitamina D en los pacientes con LEC en artículo 1. Los resultados se expresaron en forma de media \pm desviación estándar y se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA). Empleamos el test χ^2 para valorar las diferencias en porcentajes y en variables categóricas o dicotómicas. Utilizamos el test de correlación de Pearson para calcular la correlación entre variables. Mediante modelos de regresión logística y odds ratio (OR) calculamos el riesgo de presentar niveles bajos de vitamina D. En Artículo 1 utilizamos como punto de corte la media del grupo control, que fue de 23.8 ng/ml; en *Artículo 4* utilizamos 20 ng/ml como punto de corte para el déficit de vitamina D. Consideramos estadísticamente significativo el valor de $p < 0.05$. Los análisis se hicieron exportando los datos de una hoja de excell al programa Statistical Package for Social Science (SPSS) (versión 15 en artículo 1, versión 19 en artículo 4, Chicago, Illinois, EEUU) para Windows.

Artículo 2: Empleamos el test t de Student y el análisis de varianza para comparar variables cuantitativas y el test χ^2 para variables cualitativas. Calculamos las OR y el intervalo de confianza del 95% para evaluar el riesgo relativo. Utilizamos modelos de regresión logística simple y ajustada para determinar la asociación e interacción entre variables. En este caso utilizamos el programa SPSS 14.0 para Windows.

Artículo 3: Las variables continuas con distribución normal se expresan como media \pm desviación estándar (DE) y las variables categóricas se expresan como porcentaje. Valoramos las diferencias en las características demográficas y clínicas de los participantes comparando los terciles de los valores de 25(OH)D, que en este caso eran 20 y 27 ng/ml. Para medir estas diferencias empleamos el test χ^2 para variables cualitativas y el análisis de la varianza para variables continuas. Valoramos la correlación entre los niveles de 25(OH)D y lípidos mediante el coeficiente de correlación de Pearson. Empleamos correlaciones parciales y coeficientes de regresión lineal para evaluar la relación entre variables. Las variables que mostraron asociación con los niveles de 25(OH)D en el análisis univariante fueron incluidas en el modelo de regresión para el análisis multivariante. Estas variables fueron edad, exposición solar, tabaco y tratamiento con estatinas. Calculamos las OR crudas, las OR ajustadas y los correspondientes intervalos de confianza mediante regresión logística univariante y multivariante condicionado. En este estudio analizamos los datos con el programa SPSS versión 19 y se utilizó el punto de corte de 0.05 en el valor de p para determinar la significación estadística.

Artículo 4: Además de la parte común con el *artículo 1*, comparamos los resultados basales con los obtenidos después de un año de tratamiento, así como los resultados de casos y controles después del período de intervención. Empleamos estadísticos descriptivos para describir la distribución de ambos grupos de pacientes con LEC, las características basales de la enfermedad y la evaluación de la gravedad tras el período de intervención. Para comparar los valores del CLASI, medimos la puntuación A, la D y la suma A+D. Utilizamos la prueba χ^2 de Pearson para valorar la asociación entre variables cualitativas. Mediante la prueba de correlación de rangos de Spearman medimos la correlación entre los valores de CLASI y los niveles de 25(OH)D al final y al principio del seguimiento de los pacientes con LEC. Establecimos una variable dicotómica para definir a aquellos

pacientes cuya situación clínica había mejorado al final del seguimiento (pacientes con o sin mejoría). Se utilizaron modelos de regresión logística para valorar si el resultado era mejor de lo esperado por el azar ($P < 0.001$) con la prueba de Wald y una prueba de OR con χ^2 . Con modelos de regresión logística univariantes y multivariante condicional establecimos las OR crudas, las OR ajustadas y los correspondientes intervalos de confianza al 95%. En este estudio analizamos los datos con el programa SPSS versión 19 y se utilizó el punto de corte de 0.05 en el valor de p para determinar la significación estadística.

4.RESULTADOS

4.1. ARTÍCULO 1

Variables demográficas y relacionadas con la enfermedad

En este estudio incluimos a 55 pacientes afectados de LEC. Presentamos sus características biodemográficas en la tabla 4. La mayoría de pacientes tenían LE crónico y la media de tiempo de evolución de la enfermedad era 8.2 años. El 69% de los hombres y el 59% de las mujeres presentaban fotosensibilidad. El 67% de los pacientes había presentado algún brote de lesiones cutáneas en el último año, la media de brotes fue de 2.7 ± 3.7 brotes por paciente en el año previo y el número de días con lesiones activas fue 108 ± 14 . Ocho pacientes (14%) estaban tomando hidroxicloroquina y 3 mujeres estaban tomando suplementos de calcio y vitamina D. Ningún paciente recibía en ese momento terapia inmunosupresora. La ingesta dietética media diaria de vitamina D era de 5.4 ± 2.2 microgramos. 48 pacientes (87%) utilizaba protector solar en toda la piel descubierta, pero sólo 30 (54%) lo utilizaba a diario. La mayoría de los pacientes usaba FPS 50 o superior. El 20% de los pacientes pasaba menos de 30 min diarios en el exterior frente a otro 20% que pasaba más de 2 horas al día fuera.

Tabla 4. Perfil demográfico de los pacientes con LEC incluidos en *Artículo 1*

Variables	Hombres 13 (23.6%)	Mujeres 42 (76.4%)	Valor p
Edad (años)			
Media	49,69	46,93	0.520
Desviación Estándar	11.82	13.87	
Rango: Mínimo - Máximo	35 - 77	23 - 84	
> 50 años	7 (53.8%)	17 (40.5%)	0.396
> 60 años	2 (15.4%)	7 (16.7%)	0.749
Fototipo			
II	1 (7.7%)	17 (40.5%)	0.062
III	9 (69.2%)	13 (31.0%)	0.014
IV	3 (23.1%)	12 (28.6%)	0.974
IMC			
<24.9	6 (46.2%)	24 (57.1%)	0.487
25.0 – 29.0	6 (46.2%)	9 (21.4%)	0.164
> 30.0	1 (7.7%)	9 (21.4%)	0.477
Hábito tabáquico			
No fumadores	3 (23.1%)	16 (38.1%)	0.508
Fumadores	10 (76.9%)	26 (61.9%)	0.508
Cigarrillos/día (Media±DE)	15.5±12.5	10.5±11.3	0.179
Menopausia		16 (38.2%)	-
Duración de menopausia (años)			
<10	-	8	-
>10	-	8	-
Ingesta diaria de vitamina D (mcg)			
< 3.9	6 (46.2%)	9 (21.4%)	0.164
3.9 – 6.7	5 (38.5%)	22 (52.4%)	0.380
> 6.7	2 (15.4%)	11 (26.2%)	0.669
Niveles 25(OH)D (Media±DE)	19.67±7.70	20.17±9.36	0.670
Suplementos de Vitamina D	-	3 (7.1%)	-

Niveles de vitamina D

Los niveles medios de 25(OH)D fueron 20.0 ± 8.9 ng/ml en pacientes con LEC frente a 23.8 ± 7.5 ng/ml en controles. Esta diferencia era estadísticamente significativa y seguía prácticamente inalterada después de ajustar por edad ($p=0.03$). El hecho de presentar LEC era el mejor factor predictor de insuficiencia de vitamina D (OR 4.2; IC 95% 1.0-17.4). Los niveles de 25(OH)D disminuían en los pacientes de más edad ($r=-0.21$), aunque no alcanzó la significación estadística ($p=0.12$). No encontramos esta tendencia en los controles ($r=0.13$). La prevalencia de la insuficiencia y deficiencia de vitamina D en casos y controles está representada en la Figura 6. Los niveles más altos de PTH se asociaban a los niveles más bajos de 25(OH)D ($r=-0.27$; $p=0.05$), aunque no encontramos diferencias significativas en los controles.

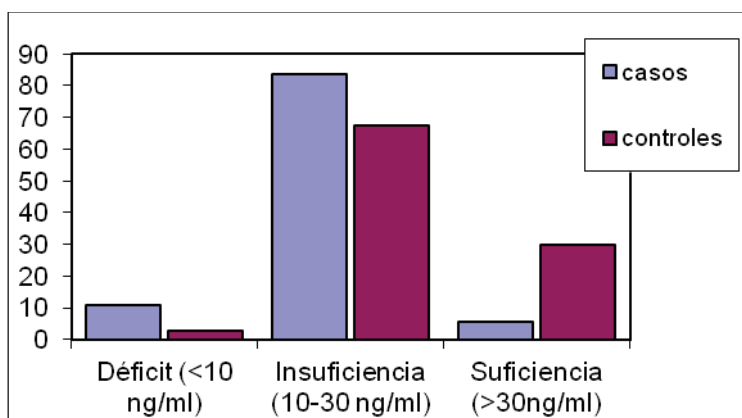


Figura 6. Distribución de niveles de vitamina D en casos y controles del artículo 1

No observamos relación entre los niveles inadecuados de 25(OH)D y rasgos de la enfermedad, incluyendo historia de LEC >10 años ($p=0.59$), fototipo claro ($p=0.77$), hábito tabáquico ($p=0.58$), fotosensibilidad ($p=0.39$), autoanticuerpos detectables ($p=0.79$), más de 180 días de lesiones activas en el año previo ($p=0.38$) y pasar más de 2 horas al día en el exterior ($p=0.59$). Como se ve en la Tabla 5, el tratamiento

con hidroxiclороquina (OR 7.9; IC 95% 0.9-8.8) tiende a aumentar el riesgo de déficit de vitamina D, mientras que los suplementos con vitamina D tienden a asociarse a niveles más altos de vitamina D ($p=0.11$).

Tabla 5. Riesgo de presentar niveles de 25(OH)D <23.8 ng/ml (media en el grupo control) en relación a diferentes características relacionadas con el LEC

		ORc ^a	IC 95%
Edad	<30	1.0 (Referencia)	
	31-40	1.0	(0.2-6.5)
	41-50	1.5	(0.2-8.5)
	51-60	1.5	(0.2-8.9)
	>60	2.2	(0.3-16.4)
Menopausia	no	1.0 (Referencia)	
	sí	3.3	(1.1-9.8)
Fototipo	II	1.0 (Referencia)	
	III	0.6	(0.2-2.2)
	IV	0.6	(0.2-2.2)
IMC	< 24.9	1.0 (Referencia)	
	25-29.9	0.9	(0.2-2.5)
	>30.0	0.8	(0.3-3.9)
Hábito tabáquico	no	1.0 (Referencia)	
	sí	0.9	(0.3-3.0)
Duración de la enfermedad	<4	1.0 (Referencia)	
	4-9	2.6	(0.6-11.3)
	>9	1.3	(0.3-5.3)
Tipo de lupus	Subagudo	1.0 (Referencia)	
	Crónico	1.0	(0.2-4.6)
Ingesta diaria de vitamina D	<3.9	1.0 (Referencia)	
	3.9-6.7	1.2	(0.3-4.6)
	>6.7	0.8	(0.2-3.7)
Número de brotes	<1	1.0 (Referencia)	
	1-2	1.0	0.3-4.1
	3-4	1.3	0.2-8.8
	>4	3.2	0.5-19.0
Antipalúdicos	no	1.0 (Referencia)	
	sí	7.9	(0.9-69.8)

4.2. ARTÍCULO 2

Incluimos a 177 participantes, de los que el 74.6% eran mujeres, con edades que iban de 18 a 84 años, media 47 ± 13 años. En la tabla 6 podemos ver las características biodemográficas de la muestra. Todos los pacientes eran de raza blanca. Si comparamos las características por sexos, sólo encontramos diferencias en el uso de protectores solares, que era más generalizado entre los hombres ($p=0.002$). 6 participantes (3.3%) tomaban más de 10 mcg de vitamina D al día a través de la dieta y ninguno superó los 15 mcg/d.

Globalmente, el 76.3% de los participantes presentaban niveles insuficientes de vitamina D (<30 ng/ml), incluyendo al 4.5% de los participantes con déficit (<10 ng/ml) de esta vitamina. Ninguno de los participantes que tomaba suplementos presentaba déficit de esta vitamina. Los niveles medios de vitamina D fueron 24.4 ± 7.7 ng/ml en hombres y 23.8 ± 8.8 ng/ml en mujeres, aunque estas diferencias por sexos no fueron estadísticamente significativas ($p=0.67$).

Tabla 6. Perfil clínico y demográfico de los participantes incluidos en el artículo 2 en términos de frecuencia absoluta y relativa

	Hombres	Mujeres	Total	
Edad (p=0.506)	<35	6 (13.3%)	28(21.2%)	34 (19.2%)
	35-50	19(42.2%)	52 (39.4%)	71 (40.1%)
	>50	20 (44.4%)	52 (39.4%)	72 (40.7%)
Fototipo (p=0.710)	I y II	19 (42.2%)	60 (45.5%)	79 (44.6%)
	III	21(46.7%)	53(40.2%)	74 (41.8%)
	IV	5(11.1%)	19(14.4%)	24 (13.6%)
IMC (p=0.778)	<30	38(84.4%)	112 (86.2%)	150(85.7%)
	>30	7 (15.6%)	18(13.8%)	25(14.3%)
Tabaquismo(p=0.657)	Sí	19(43.2%)	52(39.4%)	71(40.3%)
	No	25(56.8%)	80(60.6%)	105(59.7%)
Cigarrillos/día (p=0.031)	<10	9(40.9%)	46(66.7%)	55(60.4%)
	>10	13(59.1%)	26(33.3%)	36 (39.6%)
Menopausia	Sí		81 (61.4%)	
	No		51(38.6%)	
Exposición solar diaria (min) (p=0.805)	<60	13(30.2%)	46(35.4%)	59(34.1%)
	60-120	15(34.9%)	44(33.8%)	59(34.1%)
	>120	15(34.9%)	40(30.8%)	55(31.8%)
Frecuencia de uso de filtro solar (p=0.002)	Nunca	6(13.6%)	56 (43.1%)	62 (35.6%)
	Ocasional	18(40.9%)	39 (30.0%)	57(32.8%)
	Siempre	20(45.5%)	35(26.9%)	55(31.6%)
Ingesta dietética de vit D (mcg/día) (p=0.435)	<5	24(54.5%)	59(44.7%)	83(47.2%)
	5-10	19(43.2%)	66(50.0%)	85(48.3%)
	>10	1(2.3%)	7(5.3%)	8(4.5%)
Suplementos vit D (p=0.127)	Sí	1(2.2%)	12(9.1%)	13(7.3%)
	No	44(97.8%)	120(90.9%)	164(92.7%)
Niveles de PTH (pg/ml) (0.482)	<55	7 (15.9%)	27 (20.8%)	34 (19.5%)
	>55	37 (84.1%)	103 (79.2%)	140 (80.5%)

Los niveles medios de vitamina D (Tabla 7) fueron significativamente más elevados en <35 años ($p=0.04$) y en aquellos que pasaban más de una hora al día en el exterior ($p=0.04$), aunque no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre aquellos que utilizaban protector solar y los que no lo utilizaban ($p=0.22$). No encontramos relación entre niveles de 25(OH)D y menopausia ($p=0.67$), IMC ($p=0.88$), ingesta dietética de vitamina D ($p=0.72$) o la toma de suplementos de vitamina D ($p=0.1$). Observamos mayor riesgo de presentar niveles insuficientes de 25(OH)D en fumadores (OR 1.8; IC 95% 1.00-3.35). El hecho de fumar se relacionaba inversamente con los niveles de PTH ($r = -0.24$; $p < 0.001$).

Tabla 7. Análisis de la varianza y OR corregida de insuficiencia de vitamina D (<30 ng/ml) en función del perfil demográfico

25(OH) Vitamina D				
		Media	Desv. típ.	ORc (IC95%)
Edad ($p=0.038$)	<35	25,13	9,18	1
	35-50	23,99	7,72	1.14 (0.50-2.60)
	>50	23,38	8,97	1.17 (0.2-2.66)
Sexo ($p=0.673$)	Hombres	24,43	7,73	1
	Mujeres	23,81	8,78	1.46 (0.74-2.88)
Menopausia ($p=0.672$)	No	23,34	8,77	1
	Sí	24,54	8,84	1.25 (0.61-2.55)
Fototipo ($p=0.534$)	I	24,03	4,53	0.71 (0.28-1.81)
	II	23,60	7,32	1.07 (0.42-2.72)
	III	24,93	9,69	2.14 (0.20-23.72)
	IV	22,12	8,59	1
Índice de masa corporal, Kg m ⁻² ($p=0.877$)	<30	23,88	8,41	1
	>30	23,60	8,75	1.00 (0.41-2.28)
Tabaquismo ($p=0.236$)	No	24,66	6,94	1
	Sí	22,82	10,33	1.80 (1.00-3.35)
Ingesta dietética diaria (mcg) ($p=0.723$)	<4	23,29	8,82	1
	4-6	24,55	8,13	0.81 (0.40-1.68)
	>6	23,81	8,86	0.96 (0.45-2.09)
Suplementos de vit D ($p=0.098$)	No	23,67	8,60	1
	Sí	27,72	6,32	0.65 (0.21-2.03)
Protección solar ($p=0.219$)	Siempre	25,21	7,76	1
	Ocasional	24,51	9,05	2.02 (1.00-4.26)
	Estricta	22,56	8,70	1.23 (0.60-2.60)
Exposición solar diaria (min) ($p=0.045$)	>120	26,09	8,331	1
	60-120	24,06	8,522	2.17 (1.02-4.60)
	<60	22,11	8,502	1.52 (0.73-3.19)
PTH (pcg/ml) ($p=0.335$)	<32	22,49	7,99	1
	32.1 – 52	24,86	7,89	1.23 (0.51-2.96)
	>52.1	23,83	10,08	0.5 (0.25-1.16)

4.3 ARTÍCULO 3

Los participantes incluidos en este estudio son los mismos que los del *artículo 2*, por lo que su perfil ya ha sido explicado. En la Tabla 8 exponemos las características biodemográficas de esta muestra en comparando los terciles de niveles de 25(OH)D, es decir, dividiendo a la muestra tomando como puntos de corte 20 y 27 ng/ml. Los tratamientos hipolipemiantes que llevaban nuestros participantes eran (n, dosis media diaria) atorvastatina (6, 35 mg), simvastatina (3, 23 mg), fluvastatina (2, 40 mg), and pravastatina (1, 20 mg). Observamos una relación inversa entre los niveles de 25(OH)D y PTH, que sólo alcanzó la significación estadística en no fumadores ($r = -0.220$; $p < 0.025$).

Tabla 8. Características de los participantes incluidos en el artículo 3 categorizando por terciles de 25(OH)D

Variables	Terciles de niveles séricos de 25(OH)D			Valor <i>p</i>
	I (<20.00 ng/ml)	II (20.01–27.00 g/ml)	III (>27.01 ng/ml)	
Participantes	61 (35)	54 (31)	62 (35)	0.62
Sexo femenino	50 (82)	36 (67)	46 (74)	0.17
Edad (años)	48 ± 13	47 ± 13	47 ± 13	0.76
Fototipo				0.81
I-II	29 (37)	24 (30)	26 (33)	
III	22 (30)	24 (32)	28 (38)	
IV	10 (42)	6 (25)	8 (33)	
IMC (kg/m ²)	25 ± 4	26 ± 5	25 ± 4	0.51
Protector solar				0.32
Siempre	27 (44)	18 (29)	17 (27)	
Ocasionalmente	18 (32)	17 (30)	22 (40)	
Nunca	14 (25)	18 (33)	23 (42)	
Exposición solar (h/d)				0.32
> 2	15 (26)	18 (31)	25 (43)	
1–2	19 (32)	19 (32)	21 (36)	
< 1	26 (44)	17 (32)	16 (26)	
Tabaquismo activo	31 (51)	22 (29)	18 (31)	0.11
Ingesta de vitamina D (µg/d)	5.5 ± 3.4	5.5 ± 1.9	5.2 ± 1.8	0.85
Menopausia	17 (28)	15 (28)	19 (31)	0.37
Suplementos de vitamina D	—	7 (13)	6 (10)	0.02
Estatinas	—	4 (7)	8 (13)	0.02
25(OH)D (ng/ml)	15 ± 4	24 ± 2	33 ± 6	0.001
PTH (pg/ml)	46 ± 24	41 ± 15	44 ± 12	0.22
Calcio (mg/dl)	9.5 ± 0.3	9.5 ± 0.4	9.4 ± 0.9	0.51
Colesterol total (mg/dl)	206 ± 37	205 ± 31	195 ± 10	0.09
HDL colesterol (mg/dl)	53 ± 12	59 ± 19	54 ± 12	0.18
LDL colesterol (mg/dl)	129 ± 37	132 ± 28	122 ± 26	0.32
Triglicéridos (mg/dl)	106 ± 53	104 ± 78	93 ± 38	0.44
Glucosa (mg/dl)	99 ± 15	95 ± 10	97 ± 12	0.36

Los niveles de 25(OH)D se correlacionaban negativamente con las concentraciones de colesterol total ($r = -0.196$; $p = 0.01$). Esta asociación prácticamente no se modificaba tras ajustar por exposición solar ($p=0.03$). La OR ajustada para presentar colesterol total mayor de 200 mg/dl en individuos con 25(OH)D<15 ng/ml fue 2.83 (95% CI, 1.06–7.51) después de ajustar por tratamiento con estatinas, edad y tabaco. No observamos correlación entre los niveles de 25(OH)D y la concentración de HDL colesterol ($p=0.73$) o el ratio HDL/LDL colesterol ($p=0.61$). Los participantes con niveles de 25(OH)D <15 presentaron niveles más altos de LDL colesterol (125 ± 28 vs. 138 ± 39 mg/dl) ($p = 0.04$) (Tabla 9). No encontramos asociación estadísticamente significativa entre la concentración de 25(OH)D e IMC ($p=0.88$) o triglicéridos ($p=0.29$). Ningún participante en tratamiento con estatinas presentó niveles de 25(OH)D menores de 15 ng/ml.

Tabla 9. Niveles de colesterol total y fracciones usando 15 ng/ml como punto de corte para el déficit de vitamina D

Variables	25(OH)D (ng/ml)	n	Colesterol total (mg/dl)	HDL colesterol (mg/dl)	LDL colesterol (mg/dl)
Todos los participantes	> 15	148	199 ± 33	56 ± 15	125 ± 28
	< 15	25	216 ± 36	54 ± 13	138 ± 39
	p	0.008	0.008	0.64	0.04
Con estatinas	< 15	—			
	> 15	12	190 ± 21	54 ± 9	113 ± 16
	p				
Sin estatinas	< 15	26	218 ± 36	54 ± 13	138 ± 39
	> 15	139	199 ± 33	56 ± 15	125 ± 28
	p	0.009	0.007	0.61	0.22

Los participantes con colesterol >200 mg/dl que no recibían tratamiento presentaron niveles de 25(OH)D más bajos que los individuos con colesterol total <200 (Tabla 10). Los niveles más altos de 25(OH)D correspondieron a los participantes hipercolesterolémicos en tratamiento con estatinas ($p=0.04$). Los participantes en tratamiento con estatinas presentaban niveles similares de vitamina D, independientemente de si alcanzaban su objetivo de disminuir los niveles de colesterol total por debajo de 200 mg/dl (28.0 ± 4.1 vs. 28.0 ± 5.9) ($P = 0.98$).

Tabla 10. Niveles séricos de colesterol total y 25(OH)D (media \pm DE) en función del estatus de colesterol y la toma de estatinas

Colesterol total sérico > 200 mg/dl	Tratamiento con estatinas	n	25(OH)D (ng/ml) ($P = 0.04$)	Colesterol total (mg/dl) ($P = 0.23$)
No	No	86	24 ± 9	175 ± 17
Sí	No	79	23 ± 9	231 ± 24
Sí	Sí	3	28 ± 8	217 ± 14
No	Sí	9	28 ± 6	181 14

4.4. ARTÍCULO 4

Variables demográficas

Resumimos las características de los participantes con LEC y los controles apareados por edad y sexo en la Tabla 11. Los individuos con LEC presentaban un fototipo más alto ($p=0.001$), menor exposición solar diaria ($p=0.03$) y mayor uso de protectores solares ($p=0.001$). Había más fumadores entre los pacientes con LEC ($p=0.001$).

Tabla 11. Características demográficas de todos los participantes incluidos en el artículo 4

Variables	Casos (n=60)	Controles (n=117)	Valor p
Sexo	Hombres n (%)	15 (25)	0.54
	Mujeres n (%)	45 (75)	
Edad (años) (mean±SD)	46.8±13.5	47.7±12.9	0.65
Fototipo de Fitzpatrick	I- II	20 (33)	0.001
	III	23 (38)	
	IV	17 (28)	
Exposición solar diaria (minutos)	<60	27 (45)	0.03
	60-120	21 (35)	
	>120	12 (20)	
Protectores solares	Siempre	33 (55)	0.001
	Ocasionalmente	18 (30)	
	Nunca	6 (10)	
IMC (media±DE)	25.4±5.1	25.2±4.0	0.801
Hábito tabáquico	No fumadores	21 (35)	0.001
	Fumadores	39 (65)	
Número de cigarrillos/día (media±DE)	11.4±11.4	12.9±9.4	0.55
Menopausia (n y %sí)	16 (27)	35 (30)	0.87
Duración de menopausia	<10 años	8 (50)	0.08
	>10 años	8 (50)	
Ingesta diaria de vitamina D (mcg) (media±DE)	5.4±2.2	5.4±2.6	0.99
Calcio (media±DE)	9.5±0.3	9.4±0.7	0.46
PTH (media±DE)	34.1±17.3	48.7±15.9	0.001
Niveles de 25(OH)D (media±DE)	19.9±8.7	26±7.7	0.001
Suplementos de vitamina D (n y %sí)	5 (8)	8 (7)	0.72

Evaluación clínica y analítica basal

Globalmente, el 81% de los pacientes con LEC tenía la forma crónica de la enfermedad y el 63% de los pacientes con LEC presentaba fotosensibilidad. Los pacientes con LEC habían presentado una media de 2.7 ± 3.7 brotes en el año previo sumando una media de 108 ± 14 días con enfermedad activa. El 25% de los pacientes tenían autoanticuerpos circulantes. El CLASI A medio fue de 2.2 ± 2.5 y el CLASI D 0.6 ± 1.5 .

Los niveles de 25(OH)D fueron mayores en los individuos sanos que en aquellos con LEC (26 ± 8 vs 20 ± 9) ($p=0.001$). Los niveles de PTH fueron también mayores en participantes sanos (49 ± 16 vs 34 ± 17) ($p=0.001$). La presencia de LEC se asociaba a un riesgo aumentado de presentar niveles de 25(OH)D por debajo de 20 ng/ml (OR 3.5, IC 95% 1.8-6.7). Este riesgo, aunque reducido, seguía siendo significativo después de ajustar por edad, tabaco, exposición solar y uso de protectores solares (OR ajustada 2.3, IC 95% 1.2-5.8). La edad avanzada en los participantes con LEC se asociaba significativamente a niveles más bajos de 25(OH)D ($p=0.02$), mientras que aquellos con al menos cinco años de historia de LEC presentaban un riesgo aumentado de déficit de vitamina D (OR 3.1, IC 95% 1.0-9.3) (Tabla 12). Los niveles séricos de 25(OH)D fueron más bajos en pacientes en tratamiento con antipalúdicos (21 ± 9 vs 14 ± 6) ($p=0.04$). No observamos relación entre los niveles de 25(OH)D y la puntuación basal CLASI ($r=-0.04$, $p=0.87$).

Tabla 12. Riesgo de déficit de vitamina D (<20 ng/ml) en pacientes con LEC en relación a las variables demográficas y estatus de la enfermedad

25(OH) D				
		Media	DE	ORc (IC 95%)
Edad (p=0.02)	<35	25.8	12	1
	35-50	18.8	5.5	0.32 (0.08-1.32)
	>50	17.7	8.4	1.11 (0.35-3.56)
Sexo (p=0.95)	Hombres	20	7.2	1
	Mujeres	19.9	9.3	0.49 (0.15-1.60)
Menopausia (p=0.98)	No	19.7	9.9	1
	Sí	20.2	8.1	1.45 (0.43-4.89)
Fototipo (p=0.89)	I-II	19.5	8.8	0.49 (0.14-1.69)
	III	20.6	9.5	0.48 (0.13-1.80)
	IV	20.8	8.4	1
IMC, kg m⁻² (p=0.80)	<25	20.1	9.2	1
	>25	19.6	8.3	0.91 (0.33-2.55)
Hábito tabáquico (p=0.63)	No	20.7	5.8	1
	Sí	19.5	10	1.91 (0.65-5.61)
Ingesta diaria de vitamina D (mcg) (p=0.58)	>5	20.5	7.8	1
	<5	19.2	9.7	1.98 (0.71-5.57)
Protectores solares (p=0.42)	Siempre	19.1	8	1
	Ocasionalmente	19.6	9	2.53 (0.40-15.75)
	Nunca	25.6	12	2.50 (0.36-17.31)
Exposición solar diaria (min) (p=0.49)	>120	22.1	8.5	1
	60-120	20.3	9.4	0.42 (0.10-1.68)
	<60	18.6	8.4	0.53 (0.17-1.70)
Fotosensibilidad (p=0.98)	No	19.9	6.5	1
	Sí	19.9	10	1.18 (0.40-3.45)
Duración de la enfermedad (años) (p=0.32)	<5	21.3	7	1
	≥5	18.8	11	3.09 (1.03-9.30)
Tipo de lupus (p=0.94)	Subagudo	20	9.6	1
	Crónico	20.2	5.6	1.44 (0.38-5.42)
Antipalúdicos (p=0.04)	Sí	14.2	6.2	1
	No	21.1	9	0.13 (0.01-1.10)
Autoanticuerpos (p=0.69)	Sí	19.5	5.7	1
	No	21.5	9	0.81 (0.23-2.86)
Brotos en el año previo (p=0.41)	0	21.5	9	1
	≥1	19.4	8.9	1.64 (0.53-5.10)
CLASI basal (p=0.99)	0	20.3	11	1
	≥1	20.2	9.4	1.01 (0.25-4.03)
Periodo con lesiones activas (p=0.41)	0	21.5	9	1
	≥1	19.4	8.9	1.64 (0.53-5.10)

No observamos diferencias estadísticamente significativas entre los participantes con LEC que recibieron tratamiento con suplementos de vitamina D con respecto a los que no recibieron tratamiento, excepto en los niveles de 25(OH)D, que fueron más bajos en el grupo de tratamiento (17 ± 7 vs 23 ± 10 ($p=0.01$), duración de menopausia, más larga en el grupo sin tratamiento ($p=0.03$), y el número mayor de fumadores en los casos tratados (Tabla 13). Había una tendencia no significativa a mayor gravedad de la enfermedad en el grupo tratado (Tabla 13). Ninguno de los pacientes que acudieron a la consulta en junio o julio frente a tres pacientes de los que acudieron en agosto o septiembre alcanzaban niveles suficientes de 25(OH)D en el estudio basal.

Tabla 13. Características basales de casos tratados y no tratados

	Casos tratados (n=27)	Casos no tratados (n=25)	Valor <i>p</i>
Sexo femenino (n y %)	20(74.1)	20 (80.0)	0.43
Edad (años) (media±DE)	45.52±10.80	50.04±15.89	0.23
Fototipo			
I- II	10 (37.0)	7 (28.0)	0.78
III	10 (37.0)	11 (44.0)	
IV	7 (25.9)	7 (28.8)	
Exposición solar diaria (min)			
<60	11 (40.7)	12 (48.0)	0.64
60-120	12 (44.4)	8 (32.0)	
>120	4 (14.8)	5 (20.0)	
Uso de protector solar			
Siempre	15 (55.6)	15 (60.0)	0.94
Ocasionalmente	8 (29.6)	7 (28.0)	
Nunca	4 (14.8)	3 (12.0)	
IMC (media±DE)	24.92±5.19	25.84±4.38	0.49
Fumadores (n y %)	23 (85.2)	11 (44.0)	0.002
Menopausia (n y %sí)	7 (25.9)	9 (36.0)	0.88
Duración de menopausia	5.86±4.34	15.44±9.39	0.03
Ingesta diaria de vitamina D (mcg) (media±DE)	5.54±2.68	5.38±1.90	0.80
25(OH)D (media±DE)	17.10±7.16	23.40±10.01	0.01
Fotosensibilidad (% sí)	18 (66.7)	15 (60.0)	0.48
Duración de enfermedad (media±DE)	8.04±11.06	7.24±8.37	0.77
Tipo de lupus			
Subagudo	6 (22.2)	4 (16.0)	0.42
Crónico	21 (77.8)	21 (84.0)	
Antipalúdicos (% sí)	5 (18.5)	3 (12.0)	0.40
Autoanticuerpos (% sí)	6 (22.2)	7 (28.0)	0.80
Brotos durante el año previo (media±DE)	2.81±3.71	2.36±3.45	0.65
Período con lesiones activas (media±DE)	118.59±152.94	93.96±130.97	0.54
CLASI (A+D) (media±DE)	2.87±3.03	2.12±2.34	0.40

Efectos de la intervención:Niveles de 25(OH)D:

Los niveles medios de 25(OH)D en el grupo de tratamiento aumentaron de 17 ± 7 a 30 ± 9 ($p=0.001$), con un incremento medio de 13 ng/ml. De los 27 pacientes con niveles basales de 25(OH)D <30 ng/ml que recibieron tratamiento, el 60% alcanzó niveles óptimos después de un año del tratamiento. Llamaba la atención que tres pacientes (11%) seguían sin llegar a 20 ng/ml después de un año de tratamiento.

Evaluación clínica:

Los suplementos de vitamina D se toleraron muy bien y no detectamos efectos adversos importantes. Dos pacientes del grupo control (7%) se perdieron en el seguimiento y cuatro pacientes del grupo de tratamiento (12%) fueron considerados no cumplidores. Dos pacientes más del grupo de tratamiento (6%) dejaron la medicación por embarazo. Todos estos pacientes fueron excluidos del análisis. Un paciente del grupo de tratamiento presentó prurito de nueva aparición, que mejoró añadiendo antipalúdicos sin llegar a suspender el tratamiento con vitamina D. En este paciente se descartó la presencia de hipercalcemia.

Observamos una mejoría clínica significativa en el grupo de tratamiento en cuanto a la gravedad de la enfermedad después de un año en tratamiento con calcio y vitamina D (Figura 7).

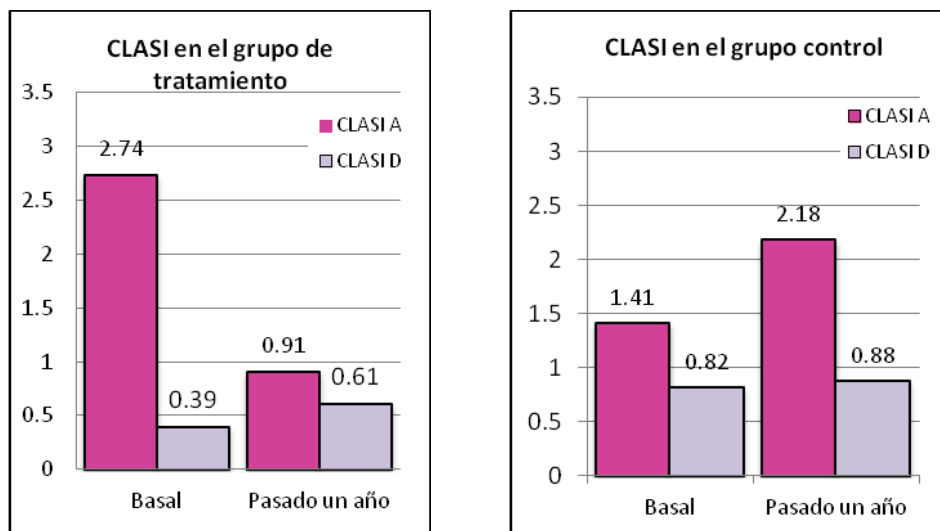


Figura 7. Evolución de la puntuación A y D del CLASI en el grupo de tratamiento y en el grupo control

El CLASI A disminuyó desde el 2.7 ± 2.9 basal a 0.9 ± 1.4 ($p=0.003$), pero el CLASI D no se modificó (desde 0.4 ± 1.0 a 0.6 ± 1.3) ($p=0.26$). En los participantes del grupo control no se modificó el CLASI de forma significativa: el CLASI A pasó de 1.4 ± 1.6 a 2.2 ± 2.4 , $p=0.18$; el CLASI D pasó de 0.8 ± 2.0 a 0.9 ± 2.0 , $p=0.33$). Hubo igualmente una tendencia a la reducción del número de brotes al año en el grupo de tratamiento, aunque no alcanzó la significación estadística (Figura 8).

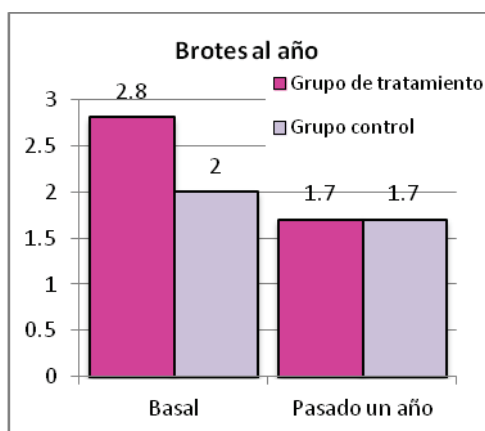


Figura 8. Evolución del número de brotes en el grupo de tratamiento y el grupo control después del período de tratamiento.

Observamos también la disminución en el número de días con lesiones activas en el grupo de tratamiento, de manera que este número disminuyó de 118 ± 153 a 56 ± 114 ($p=0.009$). Esta disminución no llegó a la significación estadística en el grupo control, en el pasó de 82 ± 123 a 65 ± 112 días ($p=0.37$) (Figura 9).

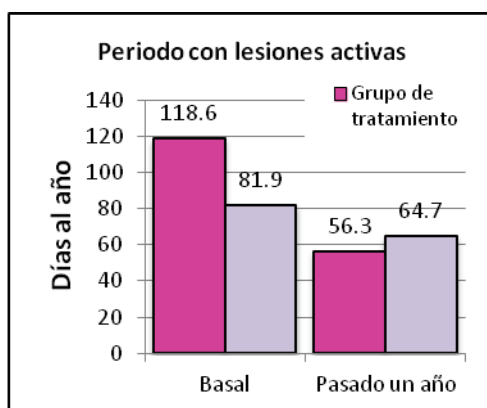


Figura 9. Evolución del número de días con lesiones activas en el grupo de tratamiento y el grupo control después del período de tratamiento.

Si nos fijamos en la valoración del paciente, observamos que en el grupo de tratamiento el 59% considera que estaba mejor después del año de tratamiento que antes de empezarlo, frente al 24% de los pacientes del grupo control (Figura 10). Al mismo tiempo, ninguno de los pacientes del grupo de tratamiento frente al 16% de los pacientes no tratados consideraba que su enfermedad había empeorado después del período de tratamiento. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($p=0.01$).

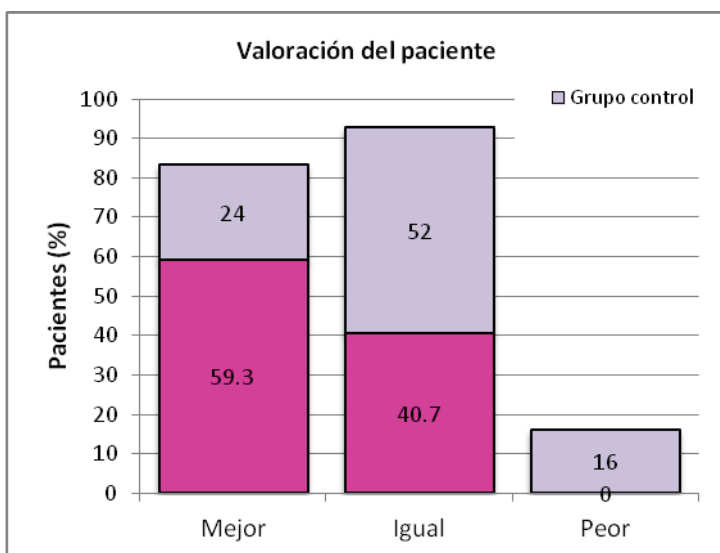


Figura 10: Valoración global de los pacientes del grupo de tratamiento y grupo control del estado de su enfermedad después del período de tratamiento.

Aunque la probabilidad de disminuir el CLASI era 2.3 veces mayor en aquellos individuos cuyos niveles de 25(OH)D aumentaron por encima de la media, esta probabilidad no alcanzó la significación estadística ($p=0.49$).

5.DISCUSIÓN

5.1. NIVELES DE VITAMINA D EN POBLACIÓN SANA (Artículos 1, 2, 3 y 4)

Nuestros resultados demuestran que es común encontrar niveles bajos de 25(OH)D en la población sana, incluso en verano y en una zona costera con tantas horas de sol al año como es el área de salud número 9 de la Agencia Valenciana de Salud. Un metaanálisis mundial mostró una tendencia hacia la relación inversa entre la latitud y el estatus de vitamina D, con excepción de Canadá y el norte de Europa³¹. Este hecho se puede explicar por el hecho de que en estas zonas los individuos tienen la piel más clara, contrarrestando el efecto pantalla de la melanina, permanecen más al sol cuando se encuentran en el exterior y tienen una mayor ingesta de alimentos fortificados y aceite de hígado de bacalao. Nuestros datos sobre prevalencia de déficit e insuficiencia de vitamina D coinciden con otros estudios publicados sobre población sana en Córdoba⁹⁰ o sobre pacientes con cardiopatía isquémica aguda en Valladolid³⁵. El hecho de que los niveles de 25(OH)D sean tan bajos en nuestro país podría explicarse por las temperaturas tan elevadas que se alcanzan en nuestro país en verano, que motivan que permanezcamos en lugares cerrados en las horas centrales del día y utilicemos protección solar con mayor regularidad que en los países nórdicos (*Artículos 1-4*).

Curiosamente, casi la mitad de los hombres incluidos en los estudios de los *artículos 2 y 3* utilizaban protector solar a diario. Más que un cambio en los hábitos de exposición solar, este hallazgo podría explicarse por el hecho de que la mayoría de los hombres que participaron en nuestro estudio vivían en la costa o en áreas rurales, donde la necesidad de usar protección solar es más evidente. Sin embargo, los niveles de 25 (OH)D fueron más altos en los hombres, en consonancia con otros estudios⁹¹. Pensamos que en nuestro estudio, el uso de protectores solares puede ser una medida del grado de exposición solar de nuestros participantes, como se ha visto en otros estudios⁹². Aunque cabría esperar que el uso de protectores solares

disminuya la síntesis de vitamina D, los estudios no siempre confirman este hecho⁵⁷, probablemente porque no solemos aplicarnos el protector solar de forma adecuada. Los test para determinar el FPS de los protectores solares se llevan a cabo in vitro, en condiciones controladas, aplicando 2 mg/cm² y con reaplicaciones regulares. Sin embargo, estas condiciones raramente se dan en el uso cotidiano del protector solar⁹³. En nuestro caso, no medimos el grado de cumplimiento de las recomendaciones en cuanto al uso del protector solar.

Se ha escrito mucho sobre la relación entre niveles de 25(OH)D y edad. En esta relación pueden verse implicados numerosos factores, incluyendo los malos hábitos dietéticos que se dan con frecuencia en la senectud, las dificultades para la movilidad, que limitan la capacidad para salir de casa y exponerse a la radiación solar, la institucionalización o el tipo de vestimenta que suelen utilizar los ancianos. Sin embargo, el hecho más relevante podría ser la reducción en la concentración de 7DHC que se da en la piel con el envejecimiento, de forma que desde la adolescencia a la senectud esta concentración se reduce a la mitad, limitando la capacidad para sintetizar previtamina D3 en la piel³⁰.

Nuestros resultados están en consonancia con estudios previos que demuestran que los fumadores tienen más riesgo de presentar niveles insuficientes de vitamina D⁹⁴⁻⁹⁷. Para Brot et al.⁹⁸ esta relación entre tabaquismo y niveles de 25(OH)D se debe a que el tabaco disminuye la absorción intestinal de calcio. De esta forma, los pacientes fumadores tendrían niveles más altos de PTH para intentar compensar la hipocalcemia. Sin embargo, la PTH, además de aumentar la absorción intestinal de calcio, aumenta la resorción ósea, por lo que los pacientes fumadores acabarían teniendo menor masa ósea que los no fumadores⁹⁸. De esta manera, cabría esperar niveles más altos de PTH en fumadores. Sin embargo, en nuestros estudios (*artículo 2, 3 y 4*) hemos observado lo contrario, es decir, los fumadores, además de presentar niveles más bajos de 25(OH)D, presentan también niveles más bajos de

PTH. Este hecho podría deberse a la supresión del eje calcitriol-PTH que ocurre con la exposición al tabaco⁹⁸. En cualquier caso, la disminución de los niveles de 25(OH)D que observamos en fumadores viene a agravar la pérdida de masa ósea que se da en este colectivo^{99,100}.

Los resultados obtenidos de nuestros estudios demuestran que la ingesta dietética habitual no garantiza niveles adecuados de vitamina D. La Academia Americana de Dermatología, de acuerdo con el IOM, recomienda la ingesta de 10-20 microgramos/día de vitamina D. Sin embargo, hemos observado que son muy pocos los individuos que llegan a tomar más de 10 mcg/d de vitamina D. Por tanto, en nuestra medio, es difícil cumplir con estos requerimientos, a diferencia de los países nórdicos, donde está más generalizado el consumo de alimentos ricos en vitamina D, aceite de hígado de bacalao y alimentos enriquecidos con vitamina D.

5.2. RELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE VITAMINA D Y COLESTEROL (Artículo 3)

Nuestros resultados indican que los individuos con niveles más bajos de 25(OH)D presentan hipercolesterolemia con más frecuencia. Creemos que esta relación no es casual, ya que el colesterol y la vitamina D siguen la misma ruta metabólica desde la hidroximetilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) hasta el 7DHC. Bogh et al.⁴⁵ demostraron que la síntesis de vitamina D tras la exposición a la radiación UVB se correlaciona positivamente con los niveles basales de colesterol total. Además, la expresión del receptor para LDL en la epidermis es mayor en la capa basal, y la actividad de este receptor va disminuyendo con la maduración del queratinocito¹⁰². Al mismo tiempo, la síntesis de vitamina D ocurre sobre todo en las capas más profundas de la epidermis¹⁰³. Este hecho sugiere que el LDL colesterol puede desempeñar un rol importante como precursor de la previtamina D3, además de la síntesis de novo. La relación inversa entre los niveles de LDL colesterol y de

25(OH)D podría explicarse por un defecto en la captación de LDL colesterol por parte de los queratinocitos. De esta forma, tanto los niveles bajos de 25(OH)D como los niveles altos de LDL colesterol serían resultado de este “defecto de retirada” del LDL circulante. Nuestros hallazgos coinciden con otros estudios previos que investigaron la relación entre vitamina D y colesterol o síndrome metabólico^{104,105}. Algunos estudios encontraron una relación inversa entre niveles de 25(OH)D y colesterol total⁵⁰, LDL colesterol⁵⁰ o triglicéridos^{51,105}, y una relación positiva con HDL colesterol^{53,106}. Nosotros no encontramos relación con las concentraciones de HDL colesterol o de triglicéridos, aunque nuestros resultados pueden estar limitados por la potencia estadística. Lo que sí que es una conclusión común en todos estos estudios es la asociación entre niveles más altos de 25(OH)D y un mejor perfil lipídico, en línea con nuestra hipótesis sobre una relación entre la síntesis de vitamina D y el metabolismo del colesterol. Dado el carácter transversal de nuestro estudio, no podemos establecer una relación causal entre las concentraciones de 25(OH)D y colesterol. Sin embargo, los ensayos clínicos llevados a cabo para este fin no han demostrado que la repleción de los niveles de vitamina D se asocie a un efecto significativo en los niveles de colesterol^{107,108}, lo que apoya nuestra hipótesis de la influencia de la captación cutánea de colesterol en el metabolismo de la vitamina D. No obstante, los estudios observacionales son escasos, heterogéneos y habitualmente administran dosis insuficientes de vitamina D^{104,107,109}.

Aunque han sido pocos los participantes en tratamiento con estatinas incluidos en nuestro estudio, los niveles de 25(OH)D han sido significativamente mayores en individuos que tomaban estatinas. Las estatinas inhiben la actividad de la HMG-CoA reductasa¹¹⁰. Esta enzima participa en la síntesis del colesterol, en una ruta metabólica que da como producto intermedio el 7DHC. Este 7DHC actúa como sustrato para la síntesis de colesterol mediante la acción de la enzima 7DHC

reductasa, o para la síntesis de previtamina D mediante una reacción de isomerización cuando nos exponemos a la radiación UVB. Aunque podría esperarse que las estatinas disminuyan la síntesis de 25(OH)D, nuestro estudio demuestra lo contrario, y otros han observado resultados similares^{35,111-114}.

El aumento de la captación celular de LDL colesterol que se consigue con las estatinas podría explicar esta aparente contradicción. Si se inhibe la ruta de síntesis de colesterol, aumenta el gradiente entre el medio intracelular y el torrente sanguíneo, lo que promovería la entrada de LDL colesterol en la célula. Además, se sabe que una consecuencia del tratamiento con estatinas es el aumento en la expresión de receptores para LDL colesterol en la membrana celular^{110,115}.

En conclusión, nuestro estudio aporta nuevas evidencias de la presencia de un perfil lipídico desfavorable en individuos con déficit de vitamina D y ofrece una posible explicación para esta asociación. Dada la prevalencia de insuficiencia de vitamina D y las consecuencias que un perfil lipídico desfavorable pueden conllevar, podría estar indicado la valoración y corrección de los niveles de 25(OH)D en población de riesgo, aunque son necesarios más estudios para establecer el efecto que los suplementos de vitamina D pueden ejercer sobre el perfil lipídico y aclarar los mecanismos de esta asociación.

5.3. NIVELES DE VITAMINA D EN PACIENTES CON LEC (Artículos 1 y 4)

Hemos encontrado niveles más bajos de 25(OH)D en pacientes con LEC con respecto a los participantes sanos, incluso en aquellos pacientes con LEC que desoyen las recomendaciones de utilizar protección solar o en los que ingieren cantidades más elevadas de vitamina D mediante la dieta. De hecho, hemos comprobado que el hecho de presentar LEC aumenta el riesgo de presentar niveles inadecuados de 25(OH)D. Los niveles medios encontrados en nuestro estudio son

más bajos que los comunicados en otros estudios^{88,116}, aunque nuestro estudio fue llevado a cabo en un área geográfica a menor latitud. Nuestros resultados son comparables a los encontrados en pacientes afro-americanos afectados de LEC en Texas¹¹⁷, a pesar de que todos nuestros participantes eran de raza blanca. Los niveles más bajos en el grupo de pacientes que recibió tratamiento puede atribuirse al hecho de que son pacientes que acudieron a la consulta antes que los que se quedaron sin tratar, teniendo en cuenta que los niveles máximos de vitamina D se alcanzan a finales del verano¹¹⁸.

Aunque algunos autores han encontrado un efecto protector de la hidroxicloroquina sobre la densidad mineral ósea¹¹⁹, nosotros hemos encontrado niveles más bajos de 25(OH)D en pacientes en tratamiento con antipalúdicos. Sin embargo, debemos ser cautos a la hora de generalizar nuestros resultados por el bajo número de pacientes con este tipo de tratamientos que fueron incluidos en nuestro estudio.

No hemos encontrado relación entre los niveles de vitamina D y el estatus de la enfermedad. Este hallazgo está en consonancia con los de otros autores^{49,117}, que tampoco encontraron relación entre los niveles de vitamina D y el estado de la enfermedad. Sin embargo, en el caso del LES sí que hay varios estudios que relacionan de forma inversa los niveles de vitamina D con la gravedad de la enfermedad¹¹⁸⁻¹²³, aunque no todos han observado esta relación^{43,48,126}.

5.4. EFECTO DE LA REPLECIÓN DE VITAMINA D EN PACIENTES CON LEC (Artículo 4)

En el estudio del *artículo 4* hemos observado la relación entre niveles de 25(OH)D y gravedad del LEC de forma prospectiva. Renne et al.⁴⁹ comunicaron cierta mejora en pacientes individuales, pero no una mejora obvia en la actividad de la

enfermedad que pueda atribuirse a la terapia de repleción de vitamina D, probablemente por el pequeño tamaño muestral. Hasta donde conocemos, no se han publicado otros estudios longitudinales que evalúen el efecto de los suplementos de vitamina D en la gravedad del LEC.

En nuestro estudio hemos observado una mejoría en la gravedad del LEC medidos por un evaluador ciego usando tanto la escala CLASI, que mide tanto la actividad como el daño debido a la enfermedad en un momento puntual, como el número de días con lesiones activas, comunicado por los pacientes, a lo largo de todo el período de tratamiento. En línea con la valoración facultativa, la impresión global de cambio en los pacientes refrenda el efecto alentador de los suplementos de vitamina D sobre la gravedad del LEC, aunque desconocemos en qué medida puede haberse dado un efecto placebo.

Aunque los pacientes han sido tratados con carbonato cálcico además de colecalciferol, no se ha comunicado ningún efecto de los suplementos de calcio en la actividad del lupus. Por otro lado, otros estudios de intervención llevados a cabo en pacientes con LES han mostrado también la mejoría en la actividad de la enfermedad¹²⁷⁻¹²⁹ y el ratio urinario proteínas/creatinina¹²⁹ tras los suplementos con vitamina D, aunque otros sólo encontraron efectos beneficiosos en algunos síntomas como la fatiga⁴⁴.

Los mecanismos por los que la vitamina D ejerce su potencial efecto beneficioso en el LE siguen sin aclararse. Se ha demostrado que la 1,25(OH)D, forma activa de esta vitamina, ejerce un efecto modulador tanto en la inmunidad innata como en la adaptativa. Los suplementos de vitamina D inhiben la diferenciación y maduración de las células dendríticas, e induce un cambio de fenotipo de las células T desde Th1 y Th17 a Th2¹²⁸. Además, los niveles bajos de 25(OH)D disminuyen la capacidad migratoria de los T-reg tanto en pacientes con LES como en controles sanos¹³¹. La

1,25(OH)D ha mostrado, asimismo, tener efectos directos potentes en la respuesta de los linfocitos B en pacientes con LES o con artritis reumatoide, inhibiendo la proliferación de los linfocitos B, el cambio de clase de los linfocitos B memoria y la diferenciación de las células B a células plasmáticas, disminuyendo así la secreción de inmunoglobulinas⁸⁰.

En línea con estos hallazgos, varios estudios epidemiológicos han sugerido una asociación entre el déficit de vitamina D y una mayor incidencia de enfermedades autoinmunes, como la esclerosis múltiple, diabetes tipo I y enfermedad inflamatoria intestinal¹¹⁸. Estudios más recientes han abordado la cuestión de si los suplementos con vitamina D pueden influir en el desarrollo y progresión de estas enfermedades autoinmunes. Una revisión sistemática reciente¹³² llegó a la conclusión de que numerosos estudios indican un rol potencial de la vitamina D en la prevención de enfermedades autoinmunes, aunque todavía no existen ensayos clínicos randomizados sobre este tema.

Nuestro estudio cuenta con ciertas limitaciones, como son el pequeño tamaño muestral, la ausencia del tratamiento con placebo del grupo contro, el carácter simple ciego en el diseño o la forma de medir el cumplimiento. Nuestros resultados pueden generalizarse sólo a pacientes de raza blanca, pues no hemos incluido pacientes de otras razas en el estudio. Teniendo en cuenta la seguridad del tratamiento con suplementos de vitamina D, pensamos que podríamos haber recomendado dosis más altas, aunque con las dosis empleadas ya hemos detectado esta mejoría en la gravedad de la enfermedad.

Sin embargo, son necesarios ensayos clínicos randomizados para establecer la dosis óptima de suplementos y su eficacia clínica en la prevención o modificación del curso de la enfermedad.

6. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de la hipovitaminosis D en población general sana del Área 9 de Salud de la Agencia Valenciana de Salud es elevada, especialmente en individuos que permanecen menos de 1 hora al día en el exterior, fumadores y ancianos.
2. Los pacientes con LEC presentan niveles más bajos de vitamina D que la población general
3. La hipercolesterolemia, a expensas tanto del colesterol total como del LDL colesterol se asocia a niveles más bajos de vitamina D.
4. La toma de estatinas se asocia a niveles más elevados de vitamina D.
5. La repleción de vitamina D en pacientes con LEC y niveles insuficientes de esta vitamina es bien tolerada y se asocia a mejoría en el estatus de su enfermedad, desde el punto de vista del dermatólogo y del paciente.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Kuhn A, Sticherling M, Bonsmann G. Clinical Manifestations of Cutaneous Lupus Erythematosus. *J Dtsch Dermatol Ges* 2007; 5: 1124-37.
2. Wallace DJ, Hahn BH. *Dubois' Lupus Erythematosus*, 6ª ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2001.
3. Werth VP, Zhang W, Dortzbach K, Sullivan K: Association of a promoter polymorphism of tumor necrosis factor-alpha with subacute cutaneous lupus erythematosus and distinct photoregulation of transcription. *J Invest Dermatol* 2000; 115: 726.
4. Fabbri P, Cardinali C, Giomi B, Caproni M. Cutaneous lupus erythematosus. Diagnosis and Management. *Am J Clin Dermatol* 2003; 4: 449-65.
5. Thudi A, Yin S, Wandstrat AE, Li QZ, Olsen NJ. Vitamin D levels and disease status in Texas patients with systemic lupus erythematosus. *Am J Med Sci* 2008; 335: 99-104.
6. Costner MI, Sontheimer RD. Lupus erythematosus. En: Wolff K, Goldsmith LA, Katz S, Gilchrest B, Paller A, Leffell D. *Fitzpatrick's Dermatology In General Medicine*. 7ª edición. Nueva York: Mc Graw-Hill; 2008. p 1515-35.
7. Oke V, Wahren-Herlenius M Karolinska Institutet, Karolinska University Hospital in Solna, Stockholm, Sweden. Cutaneous lupus erythematosus: clinical aspects and molecular pathogenesis. *J Intern Med* 2013; 273: 544-54.
8. Kuhn A, Herrmann M, Kleber S Beckmann-Welle M, Fehsel K, Martin-Villalba A, Lehmann P, Ruzicka T, Krammer PH, Kolb-Bachofen V. Accumulation of apoptotic cells in the epidermis of patients with cutaneous lupus erythematosus after ultraviolet irradiation. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 939-50.

9. Kuhn A, Sonntag M, Richter-Hintz D, Oslislo C, Megahed M, Ruzicka T, Lehmann P. Phototesting in lupus erythematosus: a 15-year experience. *J Am Acad Dermatol* 2001; 45: 86-95.
10. Roenigk HH Jr, Martin JS, Eichorn P, Gilliam JN. Discoid lupus erythematosus: diagnostic features and evaluation of topical corticosteroid therapy. *Cutis* 1980; 25: 281-5.
11. Dixon KM, Mason RS. Vitamin D. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2009; 41: 982-5.
12. Hess AF. *Rickets Including Osteomalacia and Tetany*. Philadelphia, PA: Lea & Febiger; 1929.
13. Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest* 2006 2006; 116: 2062-72.
14. Mozołowski W. Jędrzej Sniadecki (1768–1838) on the cure of rickets. *Nature* 1939; 143: 121.
15. Palm TA. The geographical distribution and etiology of rickets. *Practitioner* 1890; 45: 270–342.
16. Mellanby, T. The part played by an “accessory factor” in the production of experimental rickets. *J Physiol* 1918; 52: 11–4.
17. McCollum EF, Simmonds N, Becker JE, Shipley PG. Studies on experimental rickets; and experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium deposition. *J Biol Chem* 1922; 53: 293–312.

18. Hess AF, Weinstock M. Antirachitic properties imparted to inert fluids and to green vegetables by ultraviolet irradiation. *J Biol Chem* 1924; 62: 301–13.
19. Steenbock H, Black A. The reduction of growth-promoting and calcifying properties in a ration by exposure to ultraviolet light. *J Biol Chem* 1924; 61: 408–22.
20. Rajakumar, K. Vitamin D, Cod-Liver Oil, Sunlight, and Rickets: A Historical Perspective. *Pediatrics* 2003; 112: e132.
21. Reichrath J. The challenge resulting from positive and negative effects of sunlight: how much solar UV exposure is appropriate to balance between risks of vitamin D deficiency and skin cancer? *Prog Biophys Mol Biol* 2006; 92: 9-16.
22. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357: 266–81.
23. Webb AR. Who, what, where and when-influences on cutaneous vitamin D synthesis. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 2006; 92: 17-25.
24. Wacker M, Holick MF. Vitamin D — Effects on Skeletal and Extraskelatal Health and the Need for Supplementation. *Nutrients* 2013; 5: 111-48.
25. Holick MF, MacLaughlin JA, Parrish JA, Anderson RR. Regulation of cutaneous previtamin D3 synthesis in man: skin pigment is not an essential regulator. *Science* 1981; 211: 590-3.
26. Hossein-Nezhad A, Holick MF. Optimize dietary intake of vitamin D: an epigenetic perspective. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2012; 15: 567-79.
27. Hossein-Nezhad A, Holick MF: Vitamin D for health: A global perspective. *Mayo Clin Proc* 2013; 88 :720-55.

28. McLaughlin M, Raggatt PR, Fairney A, Brown DJ, Lester E, Wills MR. Seasonal variation in serum 25-hydroxycholecalciferol in healthy people. *Lancet* 1974; 1: 536-8.
29. Webb AR, Kline L, Holick MF. Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D3: exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D3 synthesis in human skin. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 373-8.
30. MacLaughlin JA, Holick MF. Aging decreases the capacity of the skin to produce vitamin D3. *J Clin Invest* 1985; 76: 1536-8.
31. Lips P. Worldwide status of vitamin D nutrition. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 121: 297-300.
32. Holick MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type I diabetes, heart disease and osteoporosis. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 362-71.
33. Thieden E, Philipsen PA, Sandy-Moeller J, Wulf HC. Sunscreen use related to UV exposure, age, sex and occupation based on personal dosimeter readings and sun-exposure behaviour diaries. *Arch Dermatol* 2005; 141: 967-73.
34. Paterson CR, Moody JP, Pennington CR. Skin content of 7-dehydrocholesterol in patients with malabsorption. *Nutrition* 1997; 13: 771-3.
35. Pérez- Castrillón JL, Vega G, Abad L, Sanz A, Chaves J, Hernández G, Dueñas A: Effects of Atorvastatin on vitamin D levels in patients with acute ischemic heart disease. *Am J Cardiol* 2007; 99: 903-5.

36. Klein GL, Langman CB, Herndon DN. Vitamin D depletion following burn injury in children: a possible factor in postburn osteopenia. *J Trauma* 2002; 52: 346-50.
37. Rossi M, Federico G, Corso G, Parenti G, Battagliese A, Frascogna AR, Della Casa R, Dello Russo A, Strisciuglio P, Saggese G, Andria G. Vitamin D status in patients affected by Smith-Lemli-Opitz syndrome. *J Inher Metab Dis* 2005; 28: 69-80.
38. Academy issues updated position statement on vitamin D. Accesible en URL: <http://www.aad.org/stories-and-news/news-releases/academy-issues-updated-position-statement-on-vitamin-d>. Consultada el 15 de septiembre de 2013.
39. Foz-Sala M, Vilardell-Latorre E, Goday-Arnó A, Audi-Parera A, Cano-Pérez JF, Casanueva-Freijo F, Esmatjes-Mompó E, Fernández-Tresguerres JA, Gomis de Barbarà R, Halperin-Rabinovich I, Hawkins-Carranza F, de Leiva Hidalgo A, Lucas-Martín A, Marañón-Cabello A, Sánchez-Franco F, Sanmartí-Sala A, Webb-Youdale SM. Endocrinología. En: Farreras-Rozman. *Medicina Interna*. 17ª ed. Barcelona: Elsevier; 2012. pp 2008-206.
40. Rosen CJ, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, Durazo-Arvizu RA, Gallagher JC, Gallo RL, Jones G, Kovacs CS, Manson JE, Mayne ST, Ross AC, Shapses SA, Taylor CL. Controversy in Clinical Endocrinology: IOM Committee Members Respond to Endocrine Society Vitamin D Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: 1146-52.
41. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM. Clinical Practice Guideline: Evaluation, Treatment, and

Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 1911-30.

42. Gómez-Alonso C, Naves-Díaz ML, Fernández-Martín JL, Díaz-López JB, Fernández-Coto MT, Cannata-Andía JB. Vitamin D status and secondary hyperparathyroidism: the importance of 25-hydroxyvitamin D cut-off levels. *Kidney Int* 2003; 85 (Supl): S44-8.

43. Ruiz-Irastorza G, Egurbide MV, Olivares N, Martínez-Berriotxo A, Aguirre C. Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus: prevalence, predictors and clinical consequences. *Rheumatology* 2008; 47: 920-23.

44. Ruiz-Irastorza G, Gordo S, Olivares N, Egurbide MV, Aguirre C, Changes in vitamin D levels in patients with systemic lupus erythematosus: Effects on fatigue, disease activity, and damage. *Arthritis Care Res* 2010; 62: 1160–65.

45. Bogh MK, Schmedes AV, Philipsen PA, Thieden E, Wulf HC: Vitamin D production after UVB exposure depends on baseline vitamin D and total cholesterol but not on skin pigmentation. *J Invest Dermatol* 2010; 130: 546-53.

46. Rejnmark L, Vestergaard P, Heickendorff L, Mosekilde L. Simvastatin does not affect vitamin D status, but low vitamin D levels are associated with dyslipidemia: results from a randomised, controlled trial. *Int J Endocrinol* 2010; 2010: 957174.

47. López-Robles C, Rios-Fernández R, Callejas-Rubio JL, Ortego-Centeno N. Vitamin D deficiency in a cohort of patients with systemic lupus erythematosus from the South of Spain. *Lupus* 2011; 20: 330-1.

48. Toloza SM, Cole DE, Gladman DD, Ibañez D, Urowitz MB. Vitamin D insufficiency in a large female SLE cohort. *Lupus* 2010; 19: 13-9.
49. Renne J, Werfel T, Wittmann M. High frequency of vitamin D deficiency among patients with cutaneous lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 2008; 159: 479-511.
50. Hagenau T, Vest R, Gissel TN, Poulsen CS, Erlandsen M, Mosekilde L, Vestergaard P. Global vitamin D levels in relation to age, gender, skin pigmentation and latitude: an ecologic meta-regression analysis. *Osteoporos Int* 2009; 20: 133-40.
51. García-Bailo B, Da Costa LA, Arora P, Karmali M, El-Sohemy A, Badawi A: Vitamin D and biomarkers of cardiometabolic disease risk in adult Canadians, 2007–2009. *Prev Chronic Dis* 2013; 10: E91.
52. Rajakumar K, Greenspan SL, Thomas SB, Holick MF. SOLAR ultraviolet radiation and vitamin D: a historical perspective. *Am J Public Health* 2007; 97: 1746-54.
53. Osmancevic A, Landin-Wilhelmsen K, Larkö O, Krogstad AL: Vitamin D status in psoriasis patients during different treatments with phototherapy. *J Photochem Photobiol B* 2010; 101: 117-23.
54. Wang Y, Zhu J, DeLuca HF. Where is the vitamin D receptor? *Arch Biochem Biophys* 2012; 523: 123-33.
55. Bischoff-Ferrari HA, Borchers M, Gudat F, Durmuller U, Stahelin HB, Dick W. Vitamin D receptor expression in human muscle tissue decreases with age. *J Bone Miner Res* 2004; 19: 265-9.

56. Hossein-nezhad A, Spira A, Holick MF. Influence of vitamin D status and vitamin D3 supplementation on genome wide expression of white blood cells: a randomized double-blind clinical trial. *PLoS One* 2013; 8: e58725.
57. Diehl JW, Chiu MW. Effects of ambient sunlight and photoprotection on vitamin D status. *Dermatol Ther* 2010; 23: 48-60.
58. Esteve-Palau E, Sánchez-Martínez F, Knobel-Freud H, López-Colomé JL, Díez-Pérez A. Tuberculosis: Plasma levels of vitamin D and its relation with infection and disease. *Med Clin* 2013 Diciembre 19. Doi: 10.1016/j.medcli.2013.09.036. [Publicación electrónica antes de impresión].
59. Mascitelli L, Grant WB, Goldstein MR. Obesity, Influenza Virus Infection, and Hypovitaminosis D. *J Infect Dis* 2012; 209: 1481-2.
60. Anderson JL, May HT, Horne BD, Bair TL, Hall NL; Carlquist JF, Lappé DL, Muhlestein JB. Relation of vitamin D deficiency to cardiovascular risk factors, disease status, and incident events in a general healthcare population. *Am J Cardiol* 2010; 106: 963-68.
61. Kim DH, Sabour S, Sagar U, Adams S, Whellan DJ. Prevalence of hypovitaminosis D in cardiovascular diseases (from the National Health and Nutrition Examination Survey 2001 to 2004). *Am J Cardiol* 2008; 102: 1540-4.
62. Wu PW, Rhew EY, Dyer AR, Dunlop DD, Langman CB, Price H, Sutton-Tyrrell K, McPherson DD, Edmundowicz D, Kondos GT, Ramsey-Goldman R. 25-hydroxyvitamin D and cardiovascular risk factors in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2009; 61: 1387-95.

63. Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc* 2006; 81: 353-73.
64. Bischoff-Ferrari HA, Dietrich T, Orav EJ, Hu FB, Zhang Y, Karlson EW, Dawson-Hughes B. Higher 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with better lower-extremity function in both active and inactive persons aged ≥ 60 y. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 752–58.
65. Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB, Giovannucci E, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Fracture prevention with vitamin D supplementation: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA* 2005; 293: 2257-64.
66. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Staehelin HB, Orav JE, Stuck AE, Theiler R, Wong JB, Egli A, Kiel DP, Henschkowski J. Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: A meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 2009; 339: b3692.
67. Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM, Recker RR, Heaney RP. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr*. 2007; 85: 1586-91.
68. Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR, Ochoa MT, Schaubert J, Wu K, Meinken C, Kamen DL, Wagner M, Bals R, Steinmeyer A, Zügel U, Gallo RL, Eisenberg D, Hewison M, Hollis BW, Adams JS, Bloom BR, Modlin RL. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science* 2006; 311: 1770-3.
69. Laaksi I, Ruohola JP, Tuohimaa P, Auvinen A, Haataja R, Pihlajamäki H, Ylikomi T. An association of serum vitamin D concentrations <40 nmol/L with acute respiratory tract infection in young Finnish men. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 714-7.

-
70. Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA* 2006; 296: 2832–8.
71. Stene LC, Joner G. Use of cod liver oil during the first year of life is associated with lower risk of childhood-onset type 1 diabetes: a large, population-based, case-control study. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 1128-34.
72. The EURODIAB Substudy 2 Study Group. Vitamin D supplement in early childhood and risk for Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1999; 283: 51-4.
73. Hypponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 2001; 358: 1500-3.
74. Rook GA, Steele J, Fraher L, Barker S, Karmali R, O'Riordan J, Stanford J. Vitamin D₃, γ interferon, and control of proliferation of *Mycobacterium tuberculosis* by human monocytes. *Immunology*. 1986; 57: 159-63.
75. Wang TT, Nestel FP, Bourdeau V, Nagai Y, Wang Q, Liao J, Tavera-Mendoza L, Lin R, Hanrahan JW, Mader S, White JH.. Cutting edge: 1,25-dihydroxyvitamin D₃ is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *J Immunol*. 2004; 173: 2909-12.
76. Gombart AF, Borregaard N, Koeffler HP. Human cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP) gene is a direct target of the vitamin D receptor and is strongly up-regulated in myeloid cells by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *FASEB J*. 2005; 19: 1067-77.

77. Yim S, Dhawan P, Rangunath C, Christakos S, Diamond G. Induction of cathelicidin in normal and CF bronchial epithelial cells by 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *J Cyst Fibros* 2007; 6: 403-10.
78. Weber G, Heilborn JD, Chamorro Jimenez CI, Hammarsjo A, Törmä H, Stahle M. Vitamin D induces the antimicrobial protein hCAP18 in human skin. *J Invest Dermatol* 2005; 124: 1080-2.
79. Schaubert J, Dorschner RA, Coda AB, Büchau AS, Liu PT, Kiken D, Helfrich YR, Kang S, Elalieh HZ, Steinmeyer A, Zügel U, Bikle DD, Modlin RL, Gallo RL. Injury enhances TLR2 function and antimicrobial peptide expression through a vitamin D-dependent mechanism. *J Clin Invest* 2007; 117: 803-11.
80. Chen S, Sims GP, Chen XX, Gu YY, Chen S, Lipsky PE. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human B cell differentiation. *J Immunol.* 2007; 179: 1634-47.
81. Lemire JM, Archer DC, Beck L, Spiegelberg HL. Immunosuppressive actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3: preferential inhibition of Th1 functions. *J Nutr* 1995; 125: S1704-8.
82. Boonstra A, Barrat FJ, Crain C, Heath VL, Savelkoul HF, O'Garra A. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D3 has a direct effect on naive CD4(+) T cells to enhance the development of Th2 cells. *J Immunol* 2001; 167: 4974-80.
83. Reefman E, Limburg PC, Kallenberg CG, Bijl M. Apoptosis in human skin: role in pathogenesis of various diseases and relevance for therapy. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1051: 52-63.

84. Caricchio R, Mc Phie L, Cohen PL. Ultraviolet B radiation-induced cell death: critical role of ultraviolet dose in inflammation and lupus autoantigen redistribution. *J Immunol* 2003; 171: 5778-86.
85. Herzinger T, Plewig G, Rocken M. Use of sunscreens to protect against ultraviolet-induced lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 3045-6.
86. Kamen DI, Aranow C. The link between vitamin D deficiency and systemic lupus erythematosus. *Curr Rheumatol Rep.* 2008; 10: 273-80.
87. Kamen DL, Cooper GS, Bouali H, Shaftman SR, Hollis BW, Gilkeson GS. Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity Rev* 2006; 5: 114-7.
88. Cusack C, Danby C, Fallon JC, Ho WL, Murray B, Brady J, O'Kelly P, Ambrose N, Kearns G, Murphy GM. Photoprotective behaviour and sunscreen use: impact on vitamin D levels in cutaneous lupus erythematosus. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2008; 24: 260-7.
89. Albrecht J, Taylor L, Berlin JA, et al. The CLASI (Cutaneous Lupus Erythematosus Disease Area and Severity Index): an outcome instrument for cutaneous lupus erythematosus. *J Invest Dermatol* 2005; 125: 889-94.
90. Mata-Granados JM, Luque-de Castro MD, Quesada-Gomez JM. Inappropriate serum levels of retinol, alpha-tocopherol, 25 hydroxyvitamin D3 and 24,25 dihydroxyvitamin D3 levels in healthy Spanish adults: simultaneous assessment by HPLC. *Clin Biochem* 2008; 41: 676-80.

91. Looker AC, Pfeiffer CM, Lacher DA, Schleicher RL, Picciano MF, Yetley EA, Serum 25-hydroxyvitamin D status of the US population: 1998–1994 compared with 2000–2004. *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 1519–27.
92. Kimlin M, Harrison S, Nowak M, Moore M, Brodie A, Lang C. Does a high UV environment ensure adequate vitamin D status? *J Photochem Photobiol B* 2007; 89: 139-47.
93. Norval M, Wulf HC. Does chronic sunscreen use reduce vitamin D production to insufficient levels? *Br J Dermatol* 2009; 161: 732-6.
94. Supervía A, Nogués X, Enjuanes A, Vila J, Mellibovsky L, Serrano S, Aubía J, Díez-Pérez A. Effect of smoking and smoking cessation on bone mass, bone remodelling, vitamin D, PTH and sex hormones. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2006; 6: 234-41.
95. Benjamin A, Moriakova A, Akhter N, Rao D, Xie H, Kukreja S, Barendolts E. Determinants of 25-hydroxyvitamin D levels in African-American and Caucasian male veterans. *Osteoporos Int* 2009; 20: 1795-803.
96. Krall EA, Dawson-Hughes B. Smoking increases bone loss and decreases intestinal calcium absorption. *J Bone Miner Res* 1999; 14: 215-20.
97. Pasco JA, Henry MJ, Nicholson GC, Brennan SL, Kotowicz MA. Behavioural and physical characteristics associated with vitamin D status in women. *Bone* 2009; 44: 1085-91.
98. Brot C, Jorgensen NR, Sorensen OH. The influence of smoking on vitamin D status and calcium metabolism. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 920-6.

99. Need AG, Kemp A, Giles N, Morris HA, Horowitz M, Nordin BE: Relationships between intestinal calcium absorption, serum vitamin D metabolites and smoking in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2002; 13: 83-8.
100. Ortego-Centeno N, Muñoz-Torres M, Jodar E, Hernandez-Quero J, Jurado-Duce A, de la Higuera Torres-Puchol J. Effect of tobacco consumption on bone mineral density in healthy young males. *Calcif Tissue Int* 1997; 60: 496-500.
101. Sanders S, Geraci SA. Osteoporosis in Postmenopausal Women: Considerations in Prevention and Treatment: (Women's Health Series). *South Med J* 2013; 106: 698-706.
102. Ponc M, te Pas MF, Havekes L, Boonstra J, Mommaas AM, Vermeer BJ. LDL receptors in keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1992; 98 (Supl): S50-6.
103. Holick MF, MacLaughlin JA, Clark MB, Holick SA, Potts JT Jr, Anderson RR, Blank IH, Parrish JA, Elias P. Photosynthesis of previtamin D3 in human skin and the physiologic consequences. *Science* 1980; 210: 203-5.
104. Jorde R, Grimnes G. Vitamin D and metabolic health with special reference to the effect of vitamin D on serum lipids. *Prog Lipid Res* 2011; 50: 303-12.
105. Gagnon C, Lu ZX, Magliano DJ, Dunstan DW, Shaw JE, Zimmet PZ, Sikaris K, Ebeling PR, Daly RM. Low serum 25-hydroxyvitamin D is associated with increased risk of the development of the metabolic syndrome at five years: results from a national, population-based prospective study (The Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study: AusDiab). *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: 1953-61.
106. Pacifico L, Anania C, Osborn JF, Ferraro F, Bonci E, Olivero E, Chiesa C. Low 25(OH)D3 levels are associated with total adiposity, metabolic syndrome, and

hypertension in Caucasian children and adolescents. *Eur J Endocrinol* 2011; 165: 603-11.

107. Elamin MB, Abu Elnour NO, Elamin KB, Fatourehchi MM, Alkatib AA, Almandoz JP, Liu H, Lane MA, Mullan RJ, Hazem A, et al. Vitamin D and cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 1931-42.

108. Ponda MP, Huang X, Odeh MA, Breslow JL, Kaufman HW. Vitamin D may not improve lipid levels: a serial clinical laboratory data study. *Circulation* 2012; 126: 270-7.

109. Wang H, Xia N, Yang Y, Peng DQ. Influence of vitamin D supplementation on plasma lipid profiles: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Lipids Health Dis* 2012; 11: 42.

110. Stancu C, Sima A. Statins: mechanism of action and effects. *J Cell Mol Med* 2001; 5: 378-87.

111. Sathyapalan T, Shepherd J, Arnett C, Coady AM, Kilpatrick ES, Atkin SL. Atorvastatin increases 25-hydroxy vitamin D concentrations in patients with polycystic ovary syndrome. *Clin Chem* 2010; 56: 1696-700.

112. Yavuz B, Ertugrul DT, Cil H, Ata N, Akin KO, Yalcin AA, Kucukazman M, Dal K, Hokkaomeroglu MS, Yavuz BB, et al. Increased levels of 25 hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D after rosuvastatin treatment: a novel pleiotropic effect of statins? *Cardiovasc Drugs Ther* 2009; 23: 295-9.

113. Liberopoulos EN, Makariou SE, Moutzouri E, Kostapanos MS, Challa A, Elisaf M. Effect of simvastatin/ezetimibe 10/10 mg versus simvastatin 40 mg on serum vitamin D levels. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2013; 18: 229-33.
114. Makariou SE, Liberopoulos EN, Agouridis AP, Challa A, Elisaf M. Effect of rosuvastatin monotherapy and in combination with fenofibrate or omega-3 fatty acids on serum vitamin D levels. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2012; 17: 382-6.
115. Stojadinovic O, Lebrun E, Pastar I, Kirsner R, Davis SC, Tomic-Canic M. Statins as potential therapeutic agents for healing disorders. *Expert Rev Dermatol* 2010; 5: 689-98.
116. Heine G, Lahl A, Müller C, Worm M. Vitamin D deficiency in patients with cutaneous lupus erythematosus is prevalent throughout the year. *Br J Dermatol* 2010; 163: 863-5.
117. Word AP, Perese F, Tseng LC, Adams-Huet B, Olsen NJ, Chong BF. 25-Hydroxyvitamin D levels in African-American and Caucasian/Hispanic subjects with cutaneous lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 2012; 166: 372-9.
118. Prietl B, Treiber G, Pieber TR, Amrein K. Vitamin D and immune function. *Nutrients* 2013; 5: 2502-21.
119. Ruiz-Irastorza G, Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Khamashta MA. Clinical efficacy and side effects of antimalarials in systemic lupus erythematosus: a systematic review. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 20-8.
120. Becker A, Fischer R, Schneider M. Bone density and 25-OH vitamin D serum level in patients with systemic lupus erythematosus. *Z Rheumatol* 2001; 60: 352-8.

121. Amital H, Szekanecz Z, Szücs G, Dankó K, Nagy E, Csépany T, Kiss E, Rovensky J, Tuchynova A, Kozakova D, Doria A, Corocher N, Agmon-Levin N, Barak V, Orbach H, Zandman-Goddard G, Shoenfeld Y. Serum concentrations of 25-OH vitamin D in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) are inversely related to disease activity: is it time to routinely supplement patients with SLE with vitamin D? *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 1155-7.
122. Borba VZ, Vieira JG, Kasamatsu T, et al. Vitamin D deficiency in patients with active systemic lupus erythematosus. *Osteoporos Int* 2009; 20: 427-33.
123. Bonakdar ZS, Jahanshahifar L, Jahanshahifar F, Gholamrezaei A. Vitamin D deficiency and its association with disease activity in new cases of systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2011; 20: 1155-60.
124. Yeap SS, Othman AZ, Zain AA, Chan SP. Vitamin D levels: its relationship to bone mineral density response and disease activity in premenopausal Malaysian systemic lupus erythematosus patients on corticosteroids. *Int J Rheum Dis* 2012; 15: 17-24.
125. Reynolds JA, Haque S, Berry JL, Pemberton P, Teh LS, Ho P, Gorodkin R, Bruce IN. 25-Hydroxyvitamin D deficiency is associated with increased aortic stiffness in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 2012; 51: 544-51.
126. Souto M, Coelho A, Guo C, Mendonça L, Argolo S, Papi J, Farias M. Vitamin D insufficiency in Brazilian patients with SLE: prevalence, associated factors, and relationship with activity. *Lupus* 2011; 20: 1019-26.
127. Abou-Raya A, Abou-Raya S, Helmii M. The effect of vitamin D supplementation on inflammatory and hemostatic markers and disease activity in

patients with systemic lupus erythematosus: a randomized placebo-controlled trial. *J Rheumatol* 2013; 40: 265-72.

128. Terrier B, Derian N, Schoindre Y, Chaara W, Geri G, Zahr N, Mariampillai K, Rosenzweig M, Carpentier W, Musset L, Piette JC, Six A, Klatzmann D, Saadoun D, Patrice C, Costedoat-Chalumeau N. Restoration of regulatory and effector T cell balance and B cell homeostasis in systemic lupus erythematosus patients through vitamin D supplementation. *Arthritis Res Ther* 2012; 14: R221.

129. Petri M, Bello KJ, Fang H, Magder LS. Vitamin D in systemic lupus erythematosus: modest association with disease activity and the urine protein-to-creatinine ratio. *Arthritis Rheum* 2013; 65: 1865-71.

130. Handono K, Marisa D, Kalim H. Association between the low levels of vitamin D and Treg function in systemic lupus erythematosus patients. *Acta Med Indones* 2013; 45: 26-31.

131. Antico A, Tampoia M, Tozzoli R, Bizzaro N. Can supplementation with vitamin D reduce the risk or modify the course of autoimmune diseases? A systematic review of the literature. *Autoimmun Rev* 2012; 12: 127-36.

8. ANEXO

Serum 25-hydroxyvitamin D levels in patients with cutaneous lupus erythematosus in a Mediterranean region

E. Cutillas-Marco, MM Morales-Suárez-Varela, A. Marquina-Vila and WB Grant
Lupus 2010 19: 810 originally published online 19 March 2010
DOI: 10.1177/0961203309360807

The online version of this article can be found at:
<http://lup.sagepub.com/content/19/7/810>

Published by:



<http://www.sagepublications.com>

Additional services and information for *Lupus* can be found at:

Open Access: Immediate free access via SAGE Choice

Email Alerts: <http://lup.sagepub.com/cgi/alerts>

Subscriptions: <http://lup.sagepub.com/subscriptions>

Reprints: <http://www.sagepub.com/journalsReprints.nav>

Permissions: <http://www.sagepub.com/journalsPermissions.nav>

Citations: <http://lup.sagepub.com/content/19/7/810.refs.html>

>> [Version of Record](#) - May 28, 2010

[OnlineFirst Version of Record](#) - Mar 19, 2010

[What is This?](#)

PAPER

Serum 25-hydroxyvitamin D levels in patients with cutaneous lupus erythematosus in a Mediterranean region

E Cutillas-Marco¹, MM Morales-Suárez-Varela^{2,3,4}, A Marquina-Vila¹ and WB Grant⁵

¹Department of Dermatology, University Hospital Dr Peset, Valencia, Spain; ²Unit of Public Health and Environmental Care, Department of Preventive Medicine, University of Valencia, Valencia, Spain; ³Research group CIBER CB06/02/0045 CIBER Actions-Epidemiology and Public Health; ⁴Research Foundation, University Hospital Dr Peset, Valencia, Spain; and ⁵Sunlight, Nutrition, and Health Research Center (SUNARC), San Francisco, California, USA

Low vitamin D levels have been found in patients with autoimmune diseases, including type 1 diabetes, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. The main source of vitamin D is exposure to sunlight, but the same solar radiation is known to exacerbate lupus erythematosus. We investigated the prevalence of vitamin D insufficiency in patients with cutaneous lupus erythematosus (CLE). We designed a cross-sectional study including 55 patients with CLE to measure their serum 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) by chemiluminescence immunoassay and compare it with a control group consisting of 37 healthy sex and age-matched subjects recruited from the patients' relatives as well as healthcare workers. Correlations with clinical and demographic variables were determined. Approximately 95% of patients with CLE had less than 30 ng/ml of serum 25(OH)D, which is accepted as the lower limit for vitamin D adequacy. Mean serum vitamin D values were significantly lower than controls ($p=0.038$) and were associated with higher levels of parathyroid hormone ($p=0.050$). A history of CLE was a strong predictor of insufficiency of vitamin D (odds ratio 4.2; 95% confidence interval 1.0–17.4). The results suggest a role of CLE in the metabolism of the vitamin and provide guidance for future studies looking at a potential role for vitamin D in the prevention and treatment of CLE. *Lupus* (2010) **19**, 810–814.

Key words: Cutaneous Lupus; Subacute Lupus Erythematosus; Systemic Lupus Erythematosus; Vitamin D

Introduction

Vitamin D is synthesized in human skin exposed to UV radiation.¹ A lesser amount is obtained from food, although dietary sources supply less than 20% of the body's requirement.² Vitamin D requires a first hydroxylation in the liver to 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D), which is used to determine vitamin D status, and then another hydroxylation in the kidney to its active form, 1,25-dihydroxyvitamin D₃ (1,25(OH)₂D). Definition of vitamin D insufficiency has changed over the past few years from less than 10 ng/ml to 40 ng/ml.³ Presumably, optimal levels will increase

to 60 ng/ml as new functions are attributed to vitamin D.⁴ Concentrations of vitamin D are influenced by several factors such as diet, latitude, season, time spent outdoors, skin pigmentation, clothing, tanning habits and supplementation.¹

Vitamin D has progressively become recognized as a pluripotent regulator of biological functions beyond its classical effects on bone and calcium homeostasis. The discovery that most tissues and cells in the body have a vitamin D receptor and the enzymatic machinery to activate 25(OH)D has improved our understanding of other non-classical effects of this vitamin.¹ Of great interest is the role it can play in decreasing the risk of common cancers such as breast, colorectal and prostate cancer.⁵ Furthermore, evidence from large prospective studies in patients with rheumatoid arthritis,⁶ multiple sclerosis⁷ and type 1 diabetes⁸ suggest an important role for vitamin D as a modifiable environmental factor in autoimmune diseases. A high prevalence of vitamin D insufficiency and deficiency has been

Correspondence to: María M Morales Suárez-Varela, Unit of Public Health and Environmental Care, Department of Preventive Medicine, University of Valencia, Avda Vicente Andrés Estellés s/n, 46100 Burjassot, Valencia, Spain. Email: maria.m.morales@uv.es
Received 23 September 2009; accepted 16 December 2009

seen in patients with systemic lupus erythematosus (SLE).⁹⁻¹³ The link between vitamin D deficiency and CLE has not been as widely studied: previous studies found a high prevalence of vitamin D deficiency in patients with CLE, although they included patients with extracutaneous manifestations of lupus.^{14,15} Here, we test the hypothesis that inadequate levels of vitamin D are commonly found in patients with exclusive cutaneous manifestations of lupus erythematosus. Further, we will try to identify the clinical and analytical variables associated with vitamin D insufficiency as well as the potential relationship with severity of the disease.

Materials and methods

Patients

A cross-sectional study included patients with exclusively specific cutaneous manifestations of lupus erythematosus, whether chronic or subacute, attending a dermatology outpatient clinic in a public university hospital from May to October 2008. Patients with acute CLE were excluded owing to the strong association with SLE. Both patients and controls lived in Valencia, a city in southern Europe at 39° north 0° west, 11 m above sea level, with 65% average summer relative humidity, an annual precipitation rate of 454 mm, and many sunny days all year round. Only patients with more than a 1-year history of CLE, according to clinical, analytical and histological findings,¹⁶ were enrolled in the study. Patients who fulfilled at least four of the ACR criteria for the classification of SLE and those with extracutaneous manifestations of the disease were excluded from the study. CLE patients were compared with a control group consisting of 37 healthy sex and age-matched subjects (in two year bands) who were recruited from patients' relatives as well as healthcare workers.

To participate in the study, patients and controls had to sign an informed consent, according to the Declaration of Helsinki. The local institutional review board approved the study protocol (study code CEIC 20/09).

Methods

At enrolment, all participants were asked to complete a questionnaire covering age, gender, menopause, Fitzpatrick skin phototype, weight, height, photosensitivity, use of sunscreen, usual daily sun exposure including work activities, if currently a smoker, and number of cigarettes per day. Details of

previous or current ongoing diseases, duration of lupus, type of cutaneous lupus, drugs and calcium and vitamin D supplements were obtained from their medical history. The daily average intake of vitamin D was estimated by measuring the amount of vitamin D-rich food eaten in a normal week. Assessment of CLE activity was based on the maximum number of exacerbations and days with active cutaneous lesions during the previous year, according to their medical history and interview.

Within a month of the inclusion of patients blood tests were performed: 25(OH)D, calcium, phosphorus, complement, antinuclear antibodies and intact parathyroid hormone (PTH). PTH and 25(OH)D were determined by chemiluminescence immunoassay. According to current recommendations,^{9,10,17} serum 25(OH)D levels <30 ng/ml and <10 ng/ml were defined as vitamin D insufficiency and deficiency, respectively.

Statistical analysis

Age and levels of vitamin D in patients and controls were compared. All continuous variables, age and vitamin D were evaluated for normality of distribution, and only vitamin D in patients showed a skewed distribution. The data were expressed as mean \pm standard deviation (SD) and were analysed by analysis of variance (ANOVA) test. A χ^2 test was conducted to evaluate differences in percentage in the other dichotomic or categorical variables. Pearson's correlation coefficients were calculated to describe the bivariate correlation among variables. Logistic regression models and odds ratio (OR) were also performed with deficiency of vitamin D, using a cut-off of 23.8 (mean of control group) as the outcome variable. For statistical inference, a bilateral *p*-value <0.05 was considered statistically significant. All analyses were calculated using the Statistical Package for Social Science (version 15, Chicago, Illinois, USA) for Windows.

Results

Demographic and lupus-related variables

Fifty-five patients were included in the study: the patients' profile is summarized in Table 1. Most patients had CLE (80%), with a mean duration of 8.2 years since diagnosis was made. Photosensitivity was present in 69% of men and 59% of women. Sixty-seven per cent of patients presented at least one outbreak of cutaneous lesions during the previous year. The average

Table 1 Patients' profile

Gender		Males 13 (23.6%)	Females 42 (76.4%)	<i>p</i> -value
Age (years)	Median	49.7	46.9	
	Standard deviation	11.8	13.9	0.52
	Range: minimum–maximum	35–77	23–84	
	over 50 years	7 (53.8%)	17 (40.5%)	
	over 60 years	2 (15.4%)	7 (16.7%)	0.39
				0.74
Skin type	Type II	1 (7.7%)	17 (40.5%)	0.06
	Type III	9 (69.2%)	13 (31.0%)	0.01
	Type IV	3 (23.1%)	12 (28.6%)	0.97
Body mass index	<24.9	6 (46.2%)	24 (57.1%)	0.48
	25.0–29.0	6 (46.2%)	9 (21.4%)	0.16
	>30.0	1 (7.7%)	9 (21.4%)	0.47
Cigarette smoking	Non-smokers	3 (23.1%)	16 (38.1%)	0.50
	Smokers	10 (76.9%)	26 (61.9%)	0.50
	Number of cigarettes a day (mean ± standard deviation)	15.5 ± 12.5	10.5 ± 11.3	0.17
Chronic renal disease		0 (0.0%)	1 (1.8%)	–
Chronic hepatic disease		2 (3.6%)	0 (0.0%)	–
Chronic cardiac disease		0 (0.0%)	1 (1.8%)	–
Menopause			16 (38.2%)	–
Duration of menopause	<10	–	8	–
	>10	–	8	–
Daily intake of vitamin D	<3.9	6 (46.2%)	9 (21.4%)	0.16
	3.9–6.7	5 (38.5%)	22 (52.4%)	0.38
	>6.7	2 (15.4%)	11 (26.2%)	0.66
Vitamin D levels (mean ± standard deviation)		19.67 ± 7.70	20.17 ± 9.36	0.67
Vitamin D supplements		–	3 (7.1%)	–

number of exacerbations was 2.7 ± 3.7 and the mean period with active lesions was 108 ± 14.2 days. Eight patients (14%) were taking hydroxychloroquine and three women were receiving treatment with vitamin D + calcium supplements. None of the patients were receiving treatment with immunosuppressive drugs. The average calculated daily intake of vitamin D was $5.4 \pm 2.2 \mu\text{g}$. Forty-eight patients (87%) applied sunscreen to all uncovered skin, but only 30 (54%) used it every day assuring optimal protection during the middle hours of the day. Most of these patients used 50 or higher sun protection factor. UVexposure was less than 30 min/day in 20% of patients, whereas another 20% spent more than 2 h/day outside.

Prevalence of vitamin D deficiency

The overall mean (SD) 25(OH)D level was $20.0 \pm 8.9 \text{ ng/ml}$ in patients and $23.8 \pm 7.5 \text{ ng/ml}$

in controls. Differences between vitamin D levels in patients and controls were statistically significant and remained so after adjustment for age ($p = 0.03$). CLE was the strongest predictor of insufficiency of vitamin D (OR 4.2; 95% confidence interval (CI) 1.0–17.4). 25(OH)D levels decreased in older cases ($r = -0.21$), but this did not reach statistical significance ($p = 0.12$). However, this trend was not seen in controls ($r = 0.13$). Prevalence of vitamin D insufficiency and deficiency in cases and controls are shown in Figure 1. Higher levels of PTH were associated with lower serum levels of 25(OH)D ($r = -0.27$; $p = 0.05$), but no statistical significance was seen in controls.

We looked at other disease characteristics in association with 25(OH)D inadequacy but no other characteristic was found to be statistically significant in patients with a history of more than 10 years of lupus ($p = 0.59$), fair skin ($p = 0.77$), smoking ($p = 0.56$), photosensitivity ($p = 0.39$),

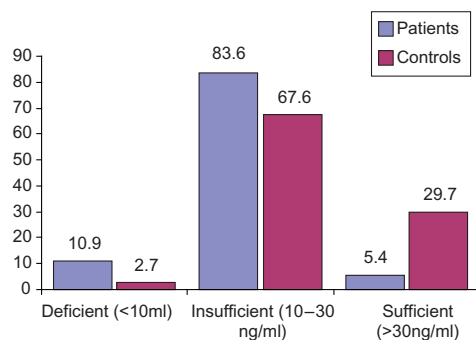


Figure 1 Prevalence of 25-hydroxyvitamin D deficiency and insufficiency in patients and controls. Serum levels of vitamin D of less than 30 ng/ml were found in 94.5% of patients, which is the range consistent with insufficiency, and includes six patients (10.9%) with less than 10 ng/ml. 25-hydroxyvitamin D levels in patients were significantly lower than controls ($p=0.03$).

detectable autoantibodies ($p=0.79$), more than 180 days with active lesions within the last year ($p=0.38$), and more than 2 h of outdoor exposure ($p=0.59$). As shown in Table 2, treatment with hydroxychloroquine (OR 7.9; 95% CI 0.9–8.8) predicted vitamin D deficiency, whereas supplements of vitamin D were associated with higher vitamin D levels ($p=0.11$).

Discussion

We found significantly lower serum 25(OH)D levels among patients with CLE compared with matched controls and a high overall prevalence of vitamin D insufficiency (<30 ng/ml) and deficiency (<10 ng/ml). Insufficiency was seen in this population from Spain in the final spring, summer and early autumn months, the period of highest sun exposure, even in those patients with CLE who do not follow recommendations for sunscreen use or appropriate daily intake of vitamin D. We have found lower mean serum levels of vitamin D in Caucasian patients with SLE in South Carolina¹⁰ and Texas,¹⁸ probably due to the lower latitude, but similar levels to other studies performed in Spain.⁹ Mean serum levels of vitamin D in controls were also lower than controls in South Carolina.¹⁰ Our results are in line with other recent research on vitamin D levels in CLE that was performed in Germany.¹⁴ However, Cusack *et al.*¹⁵ observed a lower prevalence of vitamin D inadequacy in Ireland, at higher latitudes, which could be explained by the wider use of supplements of vitamin D (40% versus 5%).

Table 2 Risk of low vitamin D levels using 23.8 ng/ml (mean levels in controls) as the cut-off, in relation to different characteristics of cutaneous lupus erythematosus

		Odds ratio crude	95% confidence interval	
Age	<30	1.0 (Reference)		
	31–40	1.0	0.2	6.5
	41–50	1.5	0.2	8.9
	51–60	1.5	0.2	8.9
	>60	2.2	0.3	16.4
Menopause	No	1.0 (Reference)		
	Yes	3.3	1.1	9.8
Skin type	II	1.0 (Reference)		
	III	0.6	0.2	2.2
	IV	0.6	0.2	2.2
Body mass index	<24.9	1.0 (Reference)		
	25–29.9	0.9	0.2	2.5
	>30.0	0.8	0.3	3.9
Smoking	no	1.0 (Reference)		
	yes	0.9	0.3	3.0
Duration of disease	<4	1.0 (Reference)		
	4–9	2.6	0.6	11.3
	>9	1.3	0.3	5.3
Type of lupus	Subacute	1.0 (Reference)		
	Chronic	1.0	0.2	4.6
Daily intake of vitamin D	<3.9	1.0 (Reference)		
	3.9–6.7	1.2	0.3	4.6
	>6.7	0.8	0.2	3.7
Severity	<1	1.0 (Reference)		
	1–2	1.0	0.3–4.1	
	3–4	1.3	0.2–8.8	
	>4	3.2	0.5–19.0	
Antimalarials	No	1.0 (Reference)		
	Yes	7.9	0.9	69.8

Although the sample size is larger than other studies on vitamin D and CLE, lack of statistical significance in most variables could be attributed to the large number of factors that determines the capacity to synthesize vitamin D in the skin. This inadequacy in vitamin D levels in patients with CLE causes secondary hyperparathyroidism, which further exacerbates 25(OH)D deficiency by increasing its conversion to 1,25(OH)₂D. Interestingly, we found an important role for the duration of the disease in lower 25(OH)D levels. The influence of age in levels of vitamin D in patients but not in controls may reflect the role of the disease in the metabolism of vitamin D.

Previous studies on CLE¹⁴ could not find a relationship with the severity of the disease based on indexes such as the European Consensus Lupus Activity Measurement (ECLAM), SLEDAI or SLICC Damaged Index (SDI), perhaps because these scales were developed and validated specifically for patients with SLE¹⁹ and not for CLE.

In view of the lack of an internationally validated index to score CLE activity, we used a clinical disease-related parameter, and a trend toward lower vitamin D levels is seen in patients with more active disease. Some studies found a negative correlation between vitamin D levels and severity of SLE,^{2,11,18} while others⁹ only found an association between vitamin D deficiency and fatigue. Interestingly, in other autoimmune disorders such as undifferentiated connective tissue disease, the probability of developing dermatological symptoms correlated with vitamin D insufficiency.¹⁷

Our data disclosed two apparent contradictions: antimalarials seemed to be a predictor of lower 25(OH)D levels; hydroxychloroquine is known to inhibit the 1 α -hydroxylation of 25(OH)D, thus decreasing the levels of 1,25(OH)2D.⁹ Our results may be due to the severity of the disease, as patients receiving treatment with hydroxychloroquine were those with active lesions in spite of photoprotection and topical therapy. The finding of lower 25(OH)D levels in patients with longer periods of active lesions and more exacerbations during a year would support this possibility. Nevertheless, the low absolute number of patients who took hydroxychloroquine represents an additional limitation on the interpretation of data related to this variable. Further research controlling for severity of the disease may clarify the influence of antimalarials on vitamin D levels in CLE patients. The other paradox was the finding of higher 25(OH)D levels in darker skin, although all our patients were Caucasians. It could be explained by the lack of photosensitivity in patients with Fitzpatrick skin type IV. Another confounding factor, time spent outdoors, could be behind this finding.

Although more studies are needed to understand the role of vitamin D as an immunomodulator, the existence of vitamin D receptors in T and B lymphocytes, macrophages and dendritic cells is well known. Perhaps the most profound effects on the immune system are on dendritic cells,¹⁰ modulating their maturational state. Furthermore, 1,25(OH)2D down-regulates dendritic cell production of interleukin-12 and augments interleukin-10, consisting of a shift towards a Th2 response. B lymphocyte differentiation is also interrupted when exposed in vitro to vitamin D. Although increasing levels of dietary vitamin D intake are not associated with a decreased risk of autoimmune diseases,¹² administration of supplementary vitamin D to mouse models of SLE resulted in a loss of dermatological manifestations.²⁰ Based on our findings and evidence in the literature, it is convenient to look for vitamin D deficiency in CLE, although further

research is necessary to demonstrate the benefits of correcting vitamin D status in these patients.

References

- Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357: 266–281.
- Cutolo M, Otsa K. Vitamin D, immunity and lupus. *Lupus* 2008; 17: 7–10.
- Grant WB, Cross HS, Garland CF, *et al.* Estimated benefit of increased vitamin D status in reducing the economic burden of disease in western Europe. *Prog Biophys Mol Biol* 2009; 99: 104–113.
- Garland CF, Gorham ED, Mohr SB, Garland FC. Vitamin D for cancer prevention: global perspective. *Ann Epidemiol* 2009; 19: 468–483.
- Grant WB, Mohr SB. Ecological studies of ultraviolet B, vitamin D and cancer since 2000. *Ann Epidemiol* 2009; 19: 446–454.
- Cutolo M, Otsa K, Paolino S, Yprus M, Veldi T, Serio B. Vitamin D involvement in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2009; 68: 446–447.
- Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA* 2006; 296: 2832–2838.
- Hyppönen E, Läärä E, Reunanen A, Järvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 2001; 358: 1500–1503.
- Ruiz-Irastorza G, Egurbide MV, Olivares N, Martínez-Berriotxo A, Aguirre C. Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus: prevalence, predictors and clinical consequences. *Rheumatology* 2008; 47: 920–923.
- Kamen D, Aranow C. Vitamin D in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 2008; 20: 532–537.
- Borba VZ, Vieira JG, Kasamatsu T, Radominski SC, Sato EI, Lazaretti-Castro M. Vitamin D deficiency in patients with active systemic lupus erythematosus. *Osteoporos Int* 2009; 20: 427–433.
- Costenbader KH, Festanich D, Holmes M, Karlson EW, Benito-García E. Vitamin D intake and risks of systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in women. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 530–535.
- Cutolo M. Vitamin D and autoimmune rheumatic diseases. *Rheumatology* 2009; 48: 210–212.
- Renne J, Werfel T, Wittmann M. High frequency of vitamin D deficiency among patients with cutaneous lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 2008; 159: 479–511.
- Cusack C, Danby C, Fallon JC, *et al.* Photoprotective behaviour and sunscreen use: impact on vitamin D levels in cutaneous lupus erythematosus. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2008; 24: 260–267.
- Fabbri P, Cardinali C, Giomi B, Caproni M. Cutaneous lupus erythematosus. Diagnosis and management. *Am J Clin Dermatol* 2003; 4: 449–465.
- Zold E, Szodoray P, Gaal J, *et al.* Vitamin D deficiency in undifferentiated connective tissue disease. *Arthritis Res Ther* 2008; 10: R123. Epub 18 October 2008.
- Thudi A, Yin S, Wandstrat AE, Li QZ, Olsen NJ. Vitamin D levels and disease status in Texas patients with systemic lupus erythematosus. *Am J Med Sci* 2008; 335: 99–104.
- Ramsay-Goldman R, Isenberg DA. Systemic Lupus Erythematosus Measures British Isles Lupus Assessment Group (BILAG), European Consensus Lupus Activity Measurement (ECLAM), Systemic Lupus Activity Measure (SLAM), Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Measure (SLEDAI), and Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology-Damage Index (SLICC/ACR-DI; SDI). *Arthritis Care Res* 2003; 49(Suppl): S225–S233.
- Lemire JM, Ince A, Takashima M. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 attenuates the expression of experimental murine lupus of MRL/l mice. *Autoimmunity* 1992; 12: 143–148.

Vitamin D deficiency in South Europe: effect of smoking and aging

Eugenia Cutillas-Marco¹, Amparo Fuertes-Prosper², William B. Grant³ & María Morales-Suárez-Varela^{4,5}

¹Department of Dermatology, Hospital de la Vega Lorenzo Guirao, Cieza, Spain, ²Department of Dermatology, Hospital Universitario Doctor Peset, Valencia, Spain, ³Sunlight, Nutrition and Health Research Center, San Francisco, CA, USA, ⁴Department of Preventive Medicine, Unit of Public Health and Environmental Care, University of Valencia, Valencia, Spain, and ⁵CIBER – Epidemiology and Public Health, Centre for Public Health Research (CSISP), Valencia, Spain

Summary

Key words:

age; diet; smoking; sun exposure; vitamin D

Correspondence:

Ms Eugenia Cutillas-Marco, Department of Dermatology, Hospital de la Vega Lorenzo Guirao, Cieza, Spain.

Tel: +34 653 640 159

Fax: +34 968 455 632

e-mail: ecutillas@aedv.es

Accepted for publication:

9 January 2012

Conflicts of interest:

None declared.

The main source of vitamin D is synthesis in the skin during exposure to ultraviolet radiation. The existence of photoaggravated diseases and the increasing incidence of skin cancer have prompted recommendations to avoid the sun. Here, we study the status of vitamin D in a healthy population and its relation to their habits of sun exposure. To do so, we designed a cross-sectional study that included 177 healthy people. We analyzed parameters about demographic data, sun exposure, and protection habits and estimated vitamin D dietary intake. We performed blood tests to measure serum 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D], calcium, phosphorus, and intact parathyroid hormone. Mean levels (\pm standard deviation) of 25(OH)D were 24.0 (\pm 8.5) ng/ml. Seventy-six percent of the population did not reach recommended levels of vitamin D (30 ng/ml), including 4.5% who were vitamin D deficient ($<$ 10 ng/ml). Levels were higher in young people ($P = 0.04$) and those with more sun exposure ($P = 0.04$). Smoking was associated with an increased risk of hypovitaminosis D (odds ratio, 1.8; 95% confidence interval, 1.00–3.35). On the basis of our findings, we should consider the risk of hypovitaminosis when we recommend sun avoidance, especially in some risk groups, because the sun is the most important source of this vitamin.

Over the last few years, several new roles have emerged for vitamin D, beyond its key role in mineral homeostasis. Researchers have found receptors for vitamin D in other organs and tissues, including brain, prostate, breast, colon, and immunological cells (1). Vitamin D deficiency might be associated with several highly prevalent diseases, including type I diabetes, multiple sclerosis, cardiovascular diseases, and many forms of cancer (e.g., colon, breast, and prostate) (1, 2).

Some experts suggest that 5–30 min of sun exposure twice a week to the face, arms, and legs is enough to synthesize adequate vitamin D (2). However, sunscreens block the ultraviolet radiation required for synthesis of this vitamin. The increasing incidence of melanoma and nonmelanoma skin cancer during the last few decades has led dermatologists to encourage patients to avoid the sun and to use sunscreens. For that reason, we designed a population-based cross-sectional study to assess the status of vitamin D in a healthy population and the relation to their sun exposure habits.

Materials and methods

We carried out this study in a seaside city in eastern Spain at a latitude of 39°N. We recruited participants from adults accompanying patients attending our clinic during the summer from 2008 to 2010. Exclusion criteria included having a personal

history of photoaggravated disease, renal failure, or hyperparathyroidism. Ultimately, 177 individuals participated and gave written informed consent. The local institutional review board approved the study protocol.

We asked study participants to complete an interview with the principal investigator about demographic data, past medical history, drugs, smoking habits, weight, height, phototype, sunscreens used, and mean daily sun exposure (including work and recreational activities and usual amount of skin exposed). We calculated mean vitamin D intake according to the amount and frequency of vitamin D-rich products consumed during the previous week. A blood test was administered within 1 week to measure levels of 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D], intact parathyroid hormone (PTH), calcium, and phosphorus. We measured 25(OH)D and PTHi levels by using a chemiluminescence immunoassay. Current recommendations define vitamin D insufficiency and deficiency as serum 25(OH)D levels of less than 30 and less than 10 ng, respectively.

We conducted statistical analysis with SPSS 14.0 for Windows (SPSS Inc, Chicago, IL, USA). We used the Student's *t*-test and the analysis of variance to compare quantitative variables, and we used the chi-squared test for categorical variables. We calculated odds ratios and 95% confidence intervals to assess the relative risks conferred. To verify the associations and interactions between variables, we used simple and adjusted logistic regression.

Table 1. Clinical and biodemographic profile of male and female participants in terms of absolute and relative frequencies

Variable	Men, n (%)	Women, n (%)	Total, n (%)
Age, year ($P = 0.51$)			
< 35	6 (13.3)	28 (21.2)	34 (19.2)
35–50	19 (42.2)	52 (39.4)	71 (40.1)
> 50	20 (44.4)	52 (39.4)	72 (40.7)
Skin phototype ($P = 0.71$)			
1–2	19 (42.2)	60 (45.5)	79 (44.6)
3	21 (46.7)	53 (40.2)	74 (41.8)
4	5 (11.1)	19 (14.4)	24 (13.6)
BMI ($P = 0.78$)			
< 30	38 (84.4)	112 (86.2)	150 (85.7)
> 30	7 (15.6)	18 (13.8)	25 (14.3)
Smoking ($P = 0.66$)			
Yes	19 (43.2)	52 (39.4)	71 (40.3)
No	25 (56.8)	80 (60.6)	105 (59.7)
Number of cigarettes/day ($P = 0.03$)			
< 10	9 (40.9)	46 (66.7)	55 (60.4)
> 10	13 (59.1)	26 (33.3)	36 (39.6)
Menopause			
Yes	–	81 (61.4)	–
No	–	51 (38.6)	–
Daily sun exposure (min) ($P = 0.81$)			
< 60	13 (30.2)	46 (35.4)	59 (34.1)
60–120	15 (34.9)	44 (33.8)	59 (34.1)
> 120	15 (34.9)	40 (30.8)	55 (31.8)
Use of sunscreen ($P = 0.002$)			
Never	6 (13.6)	56 (43.1)	62 (35.6)
Occasionally	18 (40.9)	39 (30.0)	57 (32.8)
Always	20 (45.5)	35 (26.9)	55 (31.6)
Daily intake of vit D ($\mu\text{g/day}$) ($P = 0.44$)			
< 5	24 (54.5)	59 (44.7)	83 (47.2)
5–10	19 (43.2)	66 (50.0)	85 (48.3)
> 10	1 (2.3)	7 (5.3)	8 (4.5)
Supplements of vit D ($P = 0.13$)			
Yes	1 (2.2)	12 (9.1)	13 (7.3)
No	44 (97.8)	120 (90.9)	164 (92.7)
PTH _i (pg/ml) ($P = 0.48$)			
< 55	7 (15.9)	27 (20.8)	34 (19.5)
> 55	37 (84.1)	103 (79.2)	140 (80.5)

BMI, body mass index; PTH_i, intact parathyroid hormone; vit D, vitamin D.

Results

We recruited 177 participants (74.6% female) ranging in age from 18 to 84 years, with a mean [standard deviation (SD)] age of 47 (± 13) years. Table 1 shows demographic characteristics. All participants were white. We found statistically significant difference between the sexes only in use of sunscreens, which was higher in men ($P = 0.002$).

Globally, 76.3% of participants had insufficient levels of vitamin D (< 30 ng/ml), including 4.5% with vitamin D deficiency (< 10 ng/ml). None of the participants who received supplements were vitamin D deficient. Mean (SD) of 25(OH)D level was 24.4 (± 7.7) ng/ml in men and 23.8 (± 8.8) ng/ml in women, but differences were not statistically significant ($P = 0.67$). Mean level (Table 2) was significantly higher in the youngest age group ($P = 0.04$) and those who spent more than 1 h outside each day ($P = 0.04$), although we found no significant difference in 25(OH)D levels between those who used and did not use sunscreen ($P = 0.22$). We found no relationship

between levels of 25(OH)D and menopause ($P = 0.67$), body mass index ($P = 0.88$), dietary intake of vitamin D ($P = 0.72$), or supplements of vitamin D ($P = 0.10$). We detected an increased risk of vitamin D insufficiency among smokers (odds ratio, 1.8; 95% confidence interval, 1.00–3.35). Smoking correlated negatively with levels of PTH_i ($r = -0.24$; $P < 0.001$).

Discussion

Our results showed that low vitamin D levels are common in our population – even in summer and in such a sunny area. A worldwide meta-analysis showed a tendency toward an inverse relationship between latitude and status of vitamin D, with the exceptions of Canada and Northern Europe (3). This finding may be explained by their lighter skin and sun-seeking behavior, combined with a high consumption of fortified foods and cod liver oil (3).

Curiously, nearly half of the men included in our study use sunscreen daily. Rather than indicating a change in sun

Table 2. Analysis of variance and corrected ORs of vitamin D insufficiency (< 30 ng/ml) according to biodemographic profile

25(OH) vit D			
Variable	Mean	SD	OR (95% CI)
Age (P = 0.04)			
< 35	25.13	9.18	1
35–50	23.99	7.72	1.14 (0.50–2.60)
> 50	23.38	8.97	1.17 (0.20–2.66)
Sex (P = 0.67)			
Male	24.43	7.73	1
Female	23.81	8.78	1.46 (0.74–2.88)
Menopause (P = 0.67)			
No	23.34	8.77	1
Yes	24.54	8.84	1.25 (0.61–2.55)
Skin phototype (P = 0.54)			
4	22.12	8.59	1
3	24.93	9.69	2.14 (0.20–23.72)
2	23.60	7.32	1.07 (0.42–2.72)
1	24.03	4.53	0.71 (0.28–1.81)
Body mass index (kg m ⁻²) (P = 0.88)			
< 30	23.88	8.41	1
> 30	23.60	8.75	1.00 (0.41–2.28)
Smoking (P = 0.24)			
No	24.66	6.94	1
Yes	22.82	10.33	1.80 (1.00–3.35)
Daily intake of vit D (P = 0.72) (µg/day)			
< 4	23.29	8.82	1
4–6	24.55	8.13	0.81 (0.40–1.68)
> 6	23.81	8.86	0.96 (0.45–2.09)
Supplements of vit D (P = 0.10)			
No	23.67	8.60	1
Yes	27.72	6.32	0.65 (0.21–2.03)
Use of sunscreen (P = 0.22)			
Never	25.21	7.76	1
Occasionally	24.51	9.05	2.02 (1.00–4.26)
Always	22.56	8.70	1.23 (0.60–2.60)
Daily sun exposure (min) (P = 0.04)			
> 120	26.09	8.331	1
60–120	24.06	8.522	2.17 (1.02–4.60)
< 60	22.11	8.502	1.52 (0.73–3.19)
PTHi (pg/ml) (P = 0.335)*			
< 32	22.49	7.99	1
32.1–52	24.86	7.89	1.23 (0.51–2.96)
> 52.1	23.83	10.08	0.50 (0.25–1.16)

*25th and 75th percentiles of distribution of PTHi.
 CI, confidence interval; OR, odds ratio; PTHi, intact parathyroid hormone; SD, standard deviation; vit D, vitamin D.

protection habits, this behavior could be explained by the fact that most male participants live in coastal or in rural areas, where the need to protect the skin is more evident. Even so, men had higher levels of vitamin D, in accordance with previous results (3). Although one could easily expect sunscreen to reduce vitamin D synthesis, results of large-scale studies are not

consistent with these findings, especially if adequate sunscreen use is not ensured (4).

Much has been written in the literature with regard to vitamin D deficiency in the elderly, with multiple factors implicated, such as lack of sun exposure or inadequate dietary intake. Furthermore, between adolescence and old age, the concentration of 7-dehydrocholesterol in the skin appears to decrease by approximately half (2). On the other hand, vitamin D deficiency in children has historically been a matter of great concern to clinicians because of its relation to rickets. This early-age group was not part of our study, which found an inverse relationship between the levels of 25(OH)D and age, in agreement with previous studies (3).

Our results support the findings that current smokers are at increased risk of developing vitamin D insufficiency (5), although we found no difference in total calcium serum level between smokers and nonsmokers. Along with the decreased 25(OH)D levels, one could expect an increase in PTHi levels. However, PTHi levels were also lower among smokers, as described previously (5). We have not seen a dose–response relation between number of cigarettes and PTHi or 25(OH)D levels. Although the mechanism that explains the effect of cigarette smoking in vitamin D metabolism remains unclear, it eventually aggravates bone loss in smokers.

The data from this study clearly show that usual dietary intake would not be enough to guarantee adequate vitamin D status. As the American Academy of Dermatology stated, the recommended dietary intake for vitamin D varies from 5 to 15 µg/day, depending on age, but only a few subjects achieved their vitamin D requirements through diet alone. Interestingly, none of the subjects taking supplements presented with vitamin D deficiency.

Conclusion

Dermatologists should take into account the high prevalence of vitamin D inadequacy among the patients attending our clinic, especially in smokers and the elderly. These risk groups should not be advised to strictly avoid sun exposure without also being informed about an alternative means of obtaining vitamin D. Oral supplements seem to be the most feasible means of ensuring adequate vitamin D status, although patients should do so under medical supervision.

References

- Gilbert Y, Aguilera J, Carrascosa JM, Figueroa FL, Romani de Gabriel J, Nagore E. Vitamin D: evidence and controversies. *Actas Dermosifiliogr* 2011; **102**: 572–588.
- Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; **357**: 266–281.
- Lips P. Worldwide status of vitamin D nutrition. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; **121**: 297–300.
- Diehl JW, Chiu MW. Effects of ambient sunlight and photoprotection on vitamin D status. *Dermatol Ther* 2010; **23**: 48–60.
- Supervia A, Nogués X, Enjuanes A et al. Effect of smoking and smoking cessation on bone mass, bone remodelling, vitamin D, PTH and sex hormones. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2006; **6**: 234–241.



Asunto **2013DE0247R Decision Letter Dermato-Endocrinology**
Remitente <dermatoendocrinology@landesbioscience.com>
Destinatario <ecutillas@aedv.es>
Cc <dermatoendocrinology@landesbioscience.com>
Fecha 12-12-2013 11:14

Dear Dr. Cutillas-Marco:

I am delighted to inform you that your manuscript, "Vitamin D status and hypercholesterolemia in Spanish general population," has been accepted for publication in Dermato-Endocrinology. Please be sure to share this information with all coauthors. You will receive galley proofs for your careful review from the managing editor.

Thank you for submitting an article that will make a positive contribution to the advancement of our field. If you have any questions, please contact kristen@landesbioscience.com or 512.637.6050.

Thank you once again for submitting your manuscript to Dermato-Endocrinology and we hope you will consider sending other manuscripts in the future.

Sincerely,

Prof. Jorg Reichrath
Leitender Oberarzt und stndiger Vertreter
des Klinikdirektors
Klinik fr Dermatologie, Venerologie und
Allergologie
Universitätsklinikum des Saarlandes
Kirrberger Str.
66421 Homburg/Saar
Germany
joerg.reichrath@uks.eu

- TITLE:

Vitamin D status and hypercholesterolemia in Spanish general population

- RUNNING TITLE:

Vitamin D and cholesterol

- AUTHORS:

Eugenia Cutillas-Marco,¹ Amparo Fuertes Prosper,² William B Grant,³ and María M. Morales-Suárez-Varela⁴⁻⁶

1. Department of Dermatology, Hospital de la Vega Lorenzo Guirao, Cieza, Murcia, Spain
2. Department of Dermatology, Hospital Universitario Doctor Peset, Valencia, Spain
3. Sunlight, Nutrition, and Health Research Center, San Francisco, California, USA
4. CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Spain
5. Unit of Public Health and Environmental Care, Department of Preventive Medicine, University of Valencia, Valencia, Spain
6. Center for Public Health Research (CSISP), Valencia, Spain

- CORRESPONDING AUTHOR: Eugenia Cutillas-Marco, Hospital de la Vega Lorenzo Guirao, Department of Dermatology, Carretera de Abarán, s/n, 30530 Cieza, Murcia, Spain. Phone: +34968775550; fax: +34968455632; e-mail: ecutillas@aedv.es

- DISCLOSURE STATEMENT: None of the authors had any conflicts of interest.

ABSTRACT

Low serum 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] levels have been associated with increased prevalence of cardiovascular diseases. A possible relation between lipids and 25(OH)D might explain this association. This investigation aimed to determine the association between vitamin D and cholesterol, as well as the influence of statins on this association. This was a cross-sectional population-based study with 177 subjects aged 18–84 years. We collected demographics and data on sun exposure, sun protection habits, current medication including lipid-lowering drugs, and estimated vitamin D intake. Serum measurements included levels of 25(OH)D, parathyroid hormone (PTH), calcium, phosphorus, total cholesterol, high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, low-density lipoprotein (LDL) cholesterol, triglycerides, and fasting glucose. The mean 25(OH)D level was 24 ± 9 ng/ml. Young age ($p = 0.04$) and spending more than 1 hour outdoors ($p = 0.04$) were independently associated with higher 25(OH)D levels. The 25(OH)D concentrations correlated negatively with total cholesterol ($p = 0.01$) and LDL cholesterol ($p = 0.04$) levels. The adjusted OR with 25(OH)D <15 ng/ml for total cholesterol >200 mg/ml was 2.8 (range, 1.1–7.5). Receiving statins was associated with higher 25(OH)D levels ($p = 0.04$). In conclusion, this study supports an association between 25(OH)D levels and cholesterol. Further studies are required to explain this association.

ABBREVIATIONS: 7DHC, 7-dehydrocholesterol; 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D; BMI, body mass index; CI, confidence interval; HDL, high-density lipoprotein; HMG-CoA, hydroxymethylglutaryl-coenzyme A; LDL, low-density lipoprotein; OR, odds ratio; PTH, parathyroid hormone; SD, standard deviation.

KEYWORDS: vitamin D, cholesterol, statins, lipids, 25-hydroxyvitamin D, LDL cholesterol

BACKGROUND

Although vitamin D can be obtained from diet or supplements, exposure to sunlight is the main source of this vitamin.¹ Solar UV radiation penetrates the skin and converts 7-dehydrocholesterol (7DHC) into previtamin D₃, which is rapidly transformed into vitamin D₃. Vitamin D from diet and from skin is hydroxylated in the liver to 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D], the main determinant of vitamin D status. It is then metabolized in the kidneys in its active form, 1,25-dihydroxyvitamin D, in a tightly regulated process controlled by plasma parathyroid hormone (PTH) levels and serum calcium and phosphorus levels, among others.

Health promotion messages to limit UV exposure may lead to a growing prevalence of inadequate vitamin D status.² Low 25(OH)D levels have been linked to several conditions beyond a critical role in the development of osteoporosis. Vitamin D insufficiency has been associated with type 1 and type 2 diabetes, multiple sclerosis, autoimmune diseases, and infectious diseases.¹ Recently, researchers have identified vitamin D insufficiency as a possible risk factor for cardiovascular diseases, either directly or through a relation with other cardiovascular risk factors, including diabetes, hypertension, or obesity.³⁻⁵ The effect of vitamin D status on serum lipids is especially interesting considering that vitamin D and cholesterol share a common precursor, 7DHC, although previous studies yielded divergent results.³ The aim of this study was to investigate the association of vitamin D status with lipid profile, particularly on cholesterol levels.

RESULTS

Of the 177 subjects who participated in this study, 132 (75%) were females. Their mean age was 47 ± 13 years and 40% of the participants were smokers. Sixteen percent of participants were obese (body mass index [BMI] > 30) and mean BMI was 25.3. Table 1 summarizes baseline characteristics of all participants according to serum 25(OH)D tertiles. The lipid-lowering therapies considered were (*n*, mean daily dose) atorvastatin (6, 35 mg), simvastatin (3, 23 mg), fluvastatin (2, 40 mg), and pravastatin (1, 20 mg).

Globally, mean 25(OH)D level was 24 ± 9 ng/ml (to convert to nanomoles per liter, multiply by 2.496), and it was significantly higher in the youngest age group (18–35 years) ($p = 0.04$) and for

those who spent more than 1 hour outdoors each day ($p = 0.04$). We detected an increased risk of vitamin D insufficiency (<30 ng/ml) among smokers (odds ratio [OR], 1.80; 95% confidence interval [CI], 1.00–3.35). Smoking correlated negatively with PTH levels ($r = -0.24$; $p < 0.001$). An inverse correlation existed between 25(OH)D and PTH levels, which reached significance only in nonsmokers ($r = -0.220$; $p < 0.025$).

The 25(OH)D levels correlated negatively with total cholesterol concentrations ($r = -0.196$; $p = 0.01$). This association remained essentially unaltered after adjustment for sun exposure ($p = 0.03$). Their adjusted OR with 25(OH)D < 15 ng/ml for total cholesterol > 200 mg/dl was 2.83 (95% CI, 1.06–7.51) after adjustment for lipid-lowering therapy, age, and smoking. We found no correlation between the 25(OH)D and HDL cholesterol concentrations ($p = 0.73$) or the HDL/LDL cholesterol ratio ($p = 0.61$). Participants with 25(OH)D < 15 presented higher LDL cholesterol levels (125 ± 28 vs. 138 ± 39 mg/dl) ($p = 0.04$) (Table 2). No significant association existed between 25(OH)D and BMI ($p = 0.88$) or triglycerides ($p = 0.29$). No subjects receiving statins presented 25(OH)D < 15 ng/ml.

Subjects with untreated high cholesterol presented lower 25(OH)D levels than participants without high cholesterol (Table 3). The highest serum 25(OH)D levels occurred in hypercholesterolemic subjects receiving statins ($p = 0.04$). Those participants being treated with statins displayed similar vitamin D levels, irrespective of whether they achieved their goal of achieving total cholesterol of < 200 mg/dl (28.0 ± 4.1 vs. 28.0 ± 5.9) ($p = 0.98$).

DISCUSSION

The results of this study indicate that vitamin D insufficiency is prevalent in our study population and that living in such a sunny area as Spain does not necessarily guarantee an adequate vitamin D status, even in summer. This fact must be taken into account when recommending sun avoidance in high-risk populations. In agreement with previous studies,⁶ we found that elderly people and smokers have insufficient vitamin D levels more often than young adults and nonsmokers, even when immunoassay methods—which often overestimate 25(OH)D levels in smokers—are used to measure these levels.^{7,8} PTH levels are also lower in smokers because tobacco suppresses the PTH–calcitriol axis.⁹ We did

not find a significant relationship between BMI and 25(OH)D levels, in contrast to previous studies³ that reported lower 25(OH)D concentrations in obese subjects. This lack of statistical significance might be due to our study's small number of obese subjects.

Our results suggest that high cholesterol is more frequent in people with lower 25(OH)D levels. This relation cannot be accidental if we consider that cholesterol and vitamin D follow the same metabolic pathway from hydroxymethylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) to 7DHC. Bogh and colleagues¹⁰ showed that vitamin D synthesis after UVB exposure correlates positively with baseline total cholesterol level. Furthermore, LDL receptor expression in the epidermis is higher in the basal layer, whereas keratinocyte differentiation is accompanied by loss of plasma membrane LDL receptor activity.¹¹ Notably, vitamin D₃ synthesis occurs mainly in deeper epidermis layers.¹² This finding suggests that LDL cholesterol plays an important role as a precursor of previtamin D, besides de novo biosynthesis. The inverse relation between serum LDL cholesterol and vitamin D status might be explained by a defect in LDL cholesterol uptake by keratinocytes. Therefore, both low levels of 25(OH)D and high levels of LDL cholesterol may be the result of this defect in LDL cholesterol uptake. Our findings coincide with those of previous studies that investigated the relation between vitamin D and cholesterol or metabolic syndrome.^{3,13} Some studies found an inverse relation between serum 25(OH)D and total cholesterol,¹⁴ LDL cholesterol,¹⁴ or triglycerides^{13,14}, and a positive association with HDL cholesterol^{15,16} and apolipoprotein A1.¹⁷ We found no relation with either triglycerides or HDL cholesterol, although statistical power may have limited our analysis. A common conclusion of all these studies is the association between higher 25(OH)D levels and a better lipid profile, in agreement with our idea of a relation between vitamin D synthesis and cholesterol metabolism. We could not establish the causal relation between cholesterol and 25(OH)D because of the cross-sectional nature of this study. However, vitamin D repletion in clinical trials did not demonstrate a significant effect on cholesterol levels,^{18,19} supporting our hypothesis of the influence of skin uptake of cholesterol on vitamin D metabolism. Nevertheless, interventional studies are scarce, heterogeneous, and usually with insufficient doses of vitamin D supplementation.^{3,18,20}

Although few participants in our study were being treated with statins, serum vitamin D was significantly higher among those taking statins. Statins inhibit HMG-CoA reductase activity.²¹ This

enzyme participates in the cholesterol synthesis pathway, which leads to 7DHC synthesis. At the same time, 7DHC can be transformed into cholesterol by the action of 7DHC reductase or into previtamin D by isomerization when people are exposed to UVB radiation. Although one might expect reduced 25(OH)D synthesis with statins, this study shows the opposite, and others have reported similar results.^{22–26}

The effect of statins on increasing LDL cholesterol uptake in cells can account for this apparent contradiction. Inhibiting this pathway increases the gradient between cells and the bloodstream to promote penetration of LDL cholesterol into the cell.²¹ Furthermore, statins increase LDL cholesterol receptor expression in the membrane cell.^{21,27}

In conclusion, our study yields further evidence for the unfavorable lipid profile among vitamin D-deficient individuals and offers a new possible explanation for this association. Given the prevalence of vitamin D insufficiency and the detrimental consequences of an unfavorable lipid profile, investigation and correction of vitamin D status may be indicated in high-risk populations. Further research needs to be done to establish the effect of vitamin D supplementation on the lipid profile and elucidate the mechanisms that explain the link between vitamin D and lipids.

PATIENTS AND METHODS

- Study design and subjects

This was a cross-sectional study carried out in a seaside city in eastern Spain at a latitude of 39°N. We recruited participants from the adults accompanying patients who came to our hospital clinic in the summers during 2008–2010. Exclusion criteria included having a previous diagnosis of renal failure, hyperparathyroidism, familial hypercholesterolemia, preexisting heart disease, taking medication that causes photosensitivity, and pregnancy. Ultimately, 177 individuals participated and gave written informed consent. The hospital's ethics committee approved the study protocol.

We asked study participants to complete an interview with the principal investigator about demographic data, medical history and current medical status, drugs, treatment duration, smoking habits, weight and height (from which we calculated BMI), and Fitzpatrick skin phototype.²⁸ We recorded sun exposure by estimating the mean number of hours spent outdoors, and we divided

subjects into three groups: (1) ≤ 1 h daily, (2) 1–2 h daily, and (3) > 2 h daily. We asked participants about sun protection and sun avoidance in the last month and divided them into three categories: (1) “always” wearing protective clothing or applying sunscreen of factor 15 or above at least 75% of the time, (2) “occasionally” wearing protective clothing or applying sunscreen of factor 15 or above 25%–75% of the time, and (3) “never” wearing protective clothing or applying sunscreen of factor 15 or above $< 25\%$ of the time. We measured vitamin D intake by using a food frequency questionnaire and self-reported supplemental intake during a visit as part of the study. Participants with high cholesterol were defined as those having a total cholesterol level of > 200 mg/dl and/or those receiving lipid-lowering therapy.

- Biochemical measurements

We used a blood test to measure the following levels: 25(OH)D, PTH, calcium, phosphorus, fasting blood glucose, total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, and triglycerides. We determined 25(OH)D levels by using the Liaison 25OH vitamin D TOTAL (Diasorin Inc., Stillwater, MN, USA), a chemiluminescence immunoassay with an interassay coefficient of variation of 7.0% at 18 ng/ml and 6.3% at 37 ng/ml. We measured total cholesterol and triglycerides by means of enzymatic assays, and we recorded HDL cholesterol concentrations with a Beckman LX-20 autoanalyzer (Beckman Coulter, La Brea, CA, USA) by using a direct method. We calculated LDL cholesterol values by using the Friedewald equation.

Statistical Analysis

Continuous variables with normal distribution are expressed as mean \pm standard deviation (SD), and categorical variables are expressed as a percentage. We evaluated differences in baseline characteristics across tertiles of 25(OH)D levels by using a chi-square test for categorical variables and analysis of variance for continuous variables. We assessed the correlation between 25(OH)D and lipid levels with the Pearson correlation coefficient. We used partial correlation and linear regression coefficients to examine the relationship between variables. We included those variables associated with 25(OH)D levels in the univariate analyses in the regression models for the multivariate analysis. These variables were age, sun exposure, smoking, and lipid-lowering therapy. We calculated crude

ORs, adjusted ORs, and corresponding 95% confidence intervals by univariate and conditional multivariate logistic regression. We analyzed data by using SPSS package procedures (SPSS v19; Chicago, IL, USA). All tests were two-tailed and a p -value threshold of <0.05 was set for statistical significance.

ACKNOWLEDGMENTS

This study has been supported by Valencian Healthcare Agency funds. We would like to express our sincere appreciation to all participants, as well as the staff of the Department of Dermatology of University Hospital Doctor Peset for their assistance in this study.

References

1. Hossein-Nezhad A, Holick MF. Vitamin D for health: A global perspective. *Mayo Clin Proc* 2013; 88:720-755; PMID:23790560; <http://dx.doi.org/10.1016/j.mayocp.2013.05.011>
2. Cutillas-Marco E, Fuertes-Prosper A, Grant WB, Morales-Suárez-Varela M. Vitamin D deficiency in South Europe: effect of smoking and aging. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2012; 28:159–161; PMID:22548399; <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0781.2012.00649.x>
3. Jorde R, Grimnes G. Vitamin D and metabolic health with special reference to the effect of vitamin D on serum lipids. *Prog Lipid Res* 2011; 50:303-312; PMID:21640757; <http://dx.doi.org/10.1016/j.plipres.2011.05.001>
4. Kienreich K, Tomaschitz A, Verheyen N, Pieber T, Gaksch M, Grübler MR, Pilz S. Vitamin D and cardiovascular disease. *Nutrients* 2013; 5:3005-21; PMID:23912328; <http://dx.doi.org/10.3390/nu5083005>
5. Lips P. Worldwide status of vitamin D nutrition. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 121:297-300; PMID:20197091; <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2010.02.021>
6. Van Holten TC, Waanders LF, de Groot PG, Vissers J, Hoefler IE, Pasterkamp G, Prins MW, Roest M. Circulating biomarkers for predicting cardiovascular disease risk; a systematic review and comprehensive overview of meta-analyses. *PLoS One* 2013; 8:e62080; PMID:23630624; <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0062080>
7. Grimnes G, Almaas B, Eggen AE, Emaus N, Figenschau Y, Hopstock LA, Hutchinson MS, Methlie P, Mihailova A, Sneve M, Torjesen P, Wilsgaard T, Jorde R. Effect of smoking on the serum levels of 25-hydroxyvitamin D depends on the assay employed. *Eur J Endocrinol.* 2010; 163:339-48; PMID:20479012; <http://dx.doi.org/10.1530/eje-10-0150>
8. Brot C, Jorgensen NR, Sorensen OH. The influence of smoking on vitamin D status and calcium metabolism. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53:920-6; PMID:10602348
9. Need AG, Kemp A, Giles N, Morris HA, Horowitz M, Nordin BE. Relationships between intestinal calcium absorption, serum vitamin D metabolites and smoking in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2002; 13:83-88; PMID: 11883410

10. Bogh MK, Schmedes AV, Philipsen PA, Thieden E, Wulf HC. Vitamin D production after UVB exposure depends on baseline vitamin D and total cholesterol but not on skin pigmentation. *J Invest Dermatol* 2010; 130:546-553; PMID: 19812604; <http://dx.doi.org/10.1038/jid.2009.323>
11. Ponc M, te Pas MF, Havekes L, Boonstra J, Mommaas AM, Vermeer BJ. LDL receptors in keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1992; 98(Suppl 6):50S-56S; PMID: 1588124
12. Holick MF, MacLaughlin JA, Clark MB, Holick SA, Potts JT Jr, Anderson RR, Blank IH, Parrish JA, Elias P. Photosynthesis of previtamin D3 in human skin and the physiologic consequences. *Science* 1980; 210:203-205; PMID: 6251551
13. Gagnon C, Lu ZX, Magliano DJ, Dunstan DW, Shaw JE, Zimmet PZ, Sikaris K, Ebeling PR, Daly RM. Low Serum 25-Hydroxyvitamin D Is Associated with Increased Risk of the Development of the Metabolic Syndrome at Five Years: Results from a National, Population-Based Prospective Study (The Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle Study: AusDiab). *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97:1953-1961; PMID: 22442263; <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2011-3187>
14. García-Bailo B, Da Costa LA, Arora P, Karmali M, El-Sohehy A, Badawi A. Vitamin D and biomarkers of cardiometabolic disease risk in adult Canadians, 2007–2009. *Prev Chronic Dis* 2013; 10:E91; PMID: 23742939; <http://dx.doi.org/10.5888/pcd10.120230>
15. Pacifico L, Anania C, Osborn JF, Ferraro F, Bonci E, Olivero E, Chiesa C. Low 25(OH)D3 levels are associated with total adiposity, metabolic syndrome, and hypertension in Caucasian children and adolescents. *Eur J Endocrinol* 2011; 165:603-611. PMID: 21753070; <http://dx.doi.org/10.1530/EJE-11-0545>
16. Osmancevic A, Landin-Wilhelmsen K, Larkö O, Krogstad AL. Vitamin D status in psoriasis patients during different treatments with phototherapy. *J Photochem Photobiol B* 2010; 101:117-123; PMID:20579901; <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2010.05.008>
17. Hajas A, Sandor J, Csathy L, Csipo I, Barath S, Paragh G, Seres I, Szegedi G, Shoenfeld Y, Bodolay E. Vitamin D insufficiency in a large MCTD population. *Autoimmun Rev.* 2011; 10:317-24; PMID:21156217; <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2010.11.006>.

18. Elamin MB, Abou Elnour NO, Elamin KB, Fatourech MM, Alkatib AA, Almandoz JP, Liu H, Lane MA, Mullan RJ, Hazem A, Erwin PJ, Hensrud DD, Murad MH, Montori VM. Vitamin D and cardiovascular Outcomes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96:1931-1942; PMID:21677037; <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2011-0398>
19. Ponda MP, Huang X, Odeh MA, Breslow JL, Kaufman HW. Vitamin D may not improve lipid levels: a serial clinical laboratory data study. *Circulation* 2012; 126:270-7; PMID:22718799; <http://dx.doi.org/10.1161/circulationaha.111.077875>.
20. Wang H, Xia N, Yang Y, Peng DQ. Influence of vitamin D supplementation on plasma lipid profiles: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Lipids Health Dis.* 2012; 11:42; PMID:22433171; <http://dx.doi.org/10.1186/1476-511X-11-42>.
21. Stancu C, Sima A. Statins: mechanism of action and effects. *J Cell Mol Med* 2001; 5:378-387; PMID:12067471
22. Pérez- Castrillón JL, Vega G, Abad L, Sanz A, Chaves J, Hernandez G, Dueñas A. Effects of Atorvastatin on vitamin D levels in patients with acute ischemic heart disease. *Am J Cardiol* 2007; 99:903-905; PMID:17398180; <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjcard.2006.11.036>
23. Sathyapalan T, Shepherd J, Arnett C, Coady AM, Kilpatrick ES, Atkin SL. Atorvastatin increases 25-hydroxy vitamin D concentrations in patients with polycystic ovary syndrome. *Clin Chem* 2010; 56:1696-1700; PMID:20817794; <http://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2010.144014>
24. Yavuz B, Ertugrul DT, Cil H, Ata N, Akin KO, Yalcin AA, Kucukazman M, Dal K, Hokkaomeroglu MS, Yavuz BB, Tural E. Increased levels of 25 hydroxyvitamin D and 1,25 hydroxyvitamin D after rosuvastatin treatment: a novel pleiotropic effect of statins? *Cardiovasc Drugs Ther* 2009; 23:295-299; PMID:19543962; <http://dx.doi.org/10.1007/s10557-009-6181-8>
25. Liberopoulos EN, Makariou SE, Moutzouri E, Kostapanos MS, Challa A, Elisaf M. Effect of simvastatin/ezetimibe 10/10 mg versus simvastatin 40 mg on serum vitamin D levels. *J*

- Cardiovasc Pharmacol Ther 2013; 18:229-33; PMID:23288870;
<http://dx.doi.org/10.1177/1074248412470513>
26. Makariou SE, Liberopoulos EN, Agouridis AP, Challa A, Elisaf M. Effect of rosuvastatin monotherapy and in combination with fenofibrate or omega-3 fatty acids on serum vitamin D levels. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2012; 17:382-6; PMID:22431864;
<http://dx.doi.org/10.1177/1074248412439470>
27. Stojadinovic O, Lebrun E, Pastar I, Kirsner R, Davis SC, Tomic-Canic M. Statins as potential therapeutic agents for healing disorders. *Expert Rev Dermatol* 2010; 5:689-698;
<http://dx.doi.org/10.1586/edm.10.60>
28. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol* 1988; 124:869–871; PMID:3377516

Table 1. Baseline characteristics of participants according to serum 25(OH)D tertile categories [data expressed as *n* (%) or mean \pm SD]

Category	Serum 25(OH)D tertile			<i>p</i>
	I (<20.00 ng/ml)	II (20.01– 27.00 ng/ml)	III (>27.01 ng/ml)	
Participants	61 (35)	54 (31)	62 (35)	0.62
Female sex	50 (82)	36 (67)	46 (74)	0.17
Age (yrs)	48 \pm 13	47 \pm 13	47 \pm 13	0.76
Skin phototype				
1–2	29 (37)	24 (30)	26 (33)	
3	22 (30)	24 (32)	28 (38)	
4	10 (42)	6 (25)	8 (33)	0.81
BMI (kg/m ²)	25 \pm 4	26 \pm 5	25 \pm 4	0.51
Sun protection				
Always	27 (44)	18 (29)	17 (27)	
Occasionally	18 (32)	17 (30)	22 (40)	
Never	14 (25)	18 (33)	23 (42)	0.32
Sun exposure (h/d)				
>2	15 (26)	18 (31)	25 (43)	
1–2	19 (32)	19 (32)	21 (36)	
<1	26 (44)	17 (32)	16 (26)	0.32
Current smokers	31 (51)	22 (29)	18 (31)	0.11
Vitamin D intake (μ g/d)	5.5 \pm 3.4	5.5 \pm 1.9	5.2 \pm 1.8	0.85
Menopause	17 (28)	15 (28)	19 (31)	0.37
Vitamin D supplements	—	7 (13)	6 (10)	0.02
Lipid-lowering drugs	—	4 (7)	8 (13)	0.02
Serum 25(OH)D ₃ (ng/ml)	15 \pm 4	24 \pm 2	33 \pm 6	0.001
PTH (pg/ml)	46 \pm 24	41 \pm 15	44 \pm 12	0.22
Calcium (mg/dl)	9.5 \pm 0.3	9.5 \pm 0.4	9.4 \pm 0.9	0.51
Total cholesterol (mg/dl)	206 \pm 37	205 \pm 31	195 \pm 10	0.09
HDL cholesterol (mg/dl)	53 \pm 12	59 \pm 19	54 \pm 12	0.18
LDL cholesterol (mg/dl)	129 \pm 37	132 \pm 28	122 \pm 26	0.32
Triglycerides (mg/dl)	106 \pm 53	104 \pm 78	93 \pm 38	0.44
Glucose (mg/dl)	99 \pm 15	95 \pm 10	97 \pm 12	0.36

—, no data.

Table 2. Serum levels of total cholesterol and serum lipoprotein cholesterol fractions (using the cutoff of 15 ng/ml vitamin D deficiency)

Category	25(OH)D (ng/ml)	<i>n</i>	Total cholesterol (mg/dl)	HDL cholesterol (mg/dl)	LDL cholesterol (mg/dl)
All participants	>15	148	199 ± 33	56 ± 15	125 ± 28
	<15	25	216 ± 36	54 ± 13	138 ± 39
	<i>p</i>	0.008	0.008	0.64	0.04
With statins	<15	—			
	>15	12	190 ± 21	54 ± 9	113 ± 16
	<i>p</i>				
Without statins	<15	26	218 ± 36	54 ± 13	138 ± 39
	>15	139	199 ± 33	56 ± 15	125 ± 28
	<i>p</i>	0.009	0.007	0.61	0.22

—, no data.

Table 3. Serum levels of total cholesterol and 25(OH)D (mean ± SD) across cholesterol status and lipid-lowering agents

Serum total cholesterol > 200 mg/dl	Current lipid-lowering therapy	<i>n</i>	25(OH)D (ng/ml) (<i>P</i> = 0.04)	Total cholesterol (mg/dl) (<i>P</i> = 0.23)
No	No	86	24 ± 9	175 ± 17
Yes	No	79	23 ± 9	231 ± 24
Yes	Yes	3	28 ± 8	217 ± 14
No	Yes	9	28 ± 6	181 ± 14

Asunto **Lupus - Manuscript ID LUP-13-434.R1**
Remitente <editorial@lupusjournal.co.uk>
Destinatario <ecutillas@aedv.es>
Fecha 17-12-2013 10:45



17-Dec-2013

Dear Miss Cutillas-Marco:

Your revised manuscript entitled "Vitamin D and Cutaneous Lupus Erythematosus: Effect of Vitamin D Replacement on Disease Severity" has been successfully submitted online and is presently with the editors for re-evaluation.

Your manuscript ID is LUP-13-434.R1.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to Manuscript Central at <http://mc.manuscriptcentral.com/lupus> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <http://mc.manuscriptcentral.com/lupus>.

Thank you very much for submitting your revised manuscript.

Kind regards.

Yours sincerely

Denzil Fletcher
Lupus Editorial Office

- Title: Vitamin D and Cutaneous Lupus Erythematosus: Effect of Vitamin D Replacement on Disease Severity
- Running head: Vitamin D and Cutaneous Lupus Erythematosus
- Manuscript word count: 2971
- Number of tables: 3
- Number of figures: 4
- Authors: Eugenia Cutillas-Marco¹, Amparo Marquina-Vila², William B Grant³, Juan J. Vilata-Corell⁴, María M. Morales-Suárez-Varela⁵⁻⁷
 1. Department of Dermatology. Hospital de la Vega Lorenzo Guirao. Cieza, Murcia, Spain
 2. Department of Dermatology. Hospital Universitario Doctor Peset. Valencia, Spain
 3. Sunlight, Nutrition, and Health Research Center, San Francisco, California (USA)
 4. Department of Dermatology. Hospital General Universitario de Valencia, Spain
 5. CIBER Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Spain
 6. Unit of Public Health and Environmental Care, Department of Preventive Medicine, University of Valencia, Valencia, Spain
 7. Centre for Public Health Research (CSISP), Valencia, Spain
- Corresponding author: Eugenia Cutillas-Marco, Hospital de la Vega Lorenzo Guirao, Department of Dermatology, Carretera de Abarán, s/n, 30530 Cieza, Murcia, Spain email: ecutillas@aedv.es, Telephone number: +34968775550; Fax number: +34968455632

Summary

Background: The main vitamin D source is exposure to ultraviolet radiation, which aggravates cutaneous lupus erythematosus (CLE).

Objectives: The aims of this study were to identify variables associated with lower serum 25-hydroxvitamin D [25(OH)D] levels in CLE patients and assess the effect of vitamin D restoration on disease severity.

Methods: Vitamin D status in 60 CLE patients and 117 apparently healthy subjects was compared. We recommended oral vitamin D3 to 27 CLE patients. After 1 year of treatment, changes in disease severity were assessed and compared to 25 untreated CLE patients. Disease severity was measured by the Cutaneous Lupus Erythematosus Disease Area and Severity Index (CLASI), number of exacerbations, duration of active lesions and patient assessment.

Results: Presence of CLE raised the odds of having vitamin D deficiency (OR 3.47, 95%CI 1.79-6.69). Increasing age and disease duration were associated with higher odds of having vitamin D deficiency. After a 1-year follow-up, disease activity improved in the treatment group (CLASI A 2.7 ± 2.9 vs. 0.9 ± 1.4) ($p=0.003$), as confirmed by the patient assessment ($p=0.01$).

Conclusions: Vitamin D inadequacy is more prevalent in CLE participants than in healthy controls. Treating vitamin D insufficiency is associated with improved disease severity according to physician and patient assessments.

Introduction

Although vitamin D can be obtained through food, skin is the main source of this vitamin. Ultraviolet radiation penetrates into the skin to convert 7-dehydrocholesterol, synthesised in keratinocytes, into previtamin D₃ and finally into vitamin D₃ in a heat-dependant reaction¹. Vitamin D₃ is transported in the bloodstream to the liver, where it is hydroxylated to 25-hydroxy-cholecalciferol [25(OH)D]. Then it moves on to the kidneys, where it is secondly hydroxylated to the active form, 1,25-dihydroxy-vitamin D [1,25(OH)₂D]. Vitamin D status is assessed by 25(OH)D levels, which have a half-life of about 3 weeks¹. Vitamin D is well-known for its function in calcium and phosphorus homeostasis and bone mineralisation. However, mounting evidence has appeared in recent years about the ubiquity of the vitamin D receptor. The discovery of the vitamin D receptor in most cells of the immune system² suggests that vitamin D plays an important role in regulating the immune response. Vitamin D has been studied as a modifiable environmental factor in autoimmune diseases, including type 1 diabetes mellitus, multiple sclerosis, rheumatoid arthritis and inflammatory bowel disease³. Moreover, various studies report an association between serum 25(OH)D levels and susceptibility and severity of some autoimmune disorders⁴.

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a prototypical autoimmune disease, and patients with SLE are known to have lower levels of 25(OH)D⁴⁻⁶. Lack of sunlight exposure to avoid photosensitivity from SLE, renal insufficiency and chronic use of photoprotection and glucocorticoids may result in vitamin D deficiency⁷. Although the exact physiological and clinical significance of vitamin D deficiency in SLE is not yet clear, lower levels of serum 25(OH)D have been shown to correlate with increased SLE disease activity⁸ (Amital). Moreover, some manifestations of SLE may attenuate after vitamin D replacement^{9,10}. Studies done in patients with cutaneous lupus erythematosus (CLE) are scarce and have not investigated the possible relation between serum 25(OH)D levels and disease activity.

In summer 2008, we conducted a cross-sectional study to assess the prevalence of inadequate serum 25(OH)D levels in patients with exclusively specific cutaneous manifestations of lupus erythematosus¹¹. Our results showed that vitamin D insufficiency is highly prevalent in patients with CLE, who presented lower levels than controls. Therefore, we extended the control group and treated patients with insufficient serum 25(OH)D levels for the following objectives: to identify those variables associated with lower serum 25(OH)D levels; to assess the association of serum 25(OH)D levels with CLE disease activity and to assess the effect of vitamin D supplementation on CLE disease activity.

Material and Methods

Study design and subjects recruitment

The study consisted of two stages: the first stage represents a cross-sectional study of 60 patients with CLE who were compared to 117 age- and sex-matched unaffected subjects recruited from healthcare workers and adults accompanying the patients who attended our clinic in summer 2008; the second stage, or the longitudinal phase, includes only participants with CLE. This second phase is a prospective observational study to compare disease severity in CLE patients with vitamin D insufficiency who receive vitamin D supplements (treated group) to those without treatment (untreated group). The hospital's Ethics Committee approved the study protocol and all the participants gave written informed consent. A detailed description of the recruitment process has been previously described¹¹. Patients in treatment with vitamin D metabolism-modifying drugs, including corticosteroids, were excluded from the study.

Baseline clinical evaluation and laboratory studies in patients and controls

All the participants were asked to attend an interview with the principal investigator to ascertain demographic characteristics, chronic diseases, medication, dietary supplements, current sunscreen use, smoking habits, menopause, weight and height (from which body mass index [BMI] was calculated), and Fitzpatrick skin type. All the subjects were Caucasians. Sun exposure was recorded by estimating the

mean number of hours spent outdoors, and by dividing subjects into three groups: (i) 1 h daily or less; (ii) 1-2 h daily; and (iii) > 2 h daily. We calculated mean vitamin D intake according to the amount and frequency of vitamin D-rich products consumed the previous week.

CLE subjects were also asked about photosensitivity, disease duration and current treatment. The clinical evaluation was based on the Cutaneous Lupus Erythematosus Disease Area and Severity Index (CLASI), performed by a dermatologist, and flares frequency and duration during the previous year, reported by patients. CLASI is a validated tool to assess disease severity in CLE, and it quantifies disease activity (erythema, scale) (CLASI A score) and damage (dyspigmentation, scar) (CLASI D score) on 13 body areas. It provides two scores, one for activity and one for damage, with higher scores representing more severe disease¹².

A blood test was done with cases and controls to measure 25(OH)D, parathyroid hormone (PTH), calcium and phosphorus. 25(OH)D and PTH levels were measured by a chemiluminescence immunoassay. In accordance with the US Endocrine Society, vitamin D deficiency was defined as 25(OH)D level of 20 ng/ml or less, vitamin D insufficiency as 21-29 ng/ml, and vitamin D sufficiency as 30 ng/ml or higher⁹. Additionally, presence of antinuclear and antiDNA antibodies, and complement C3 and C4 levels, were evaluated in cases with CLE.

Intervention

Oral vitamin D₃ was recommended to cases who attended our clinic in June and July 2008, and who did not present optimal levels of 25(OH)D at or above 30 ng/ml. They were placed in the following oral vitamin D supplementation schedule: 1,400 IU of cholecalciferol, plus 1,250 mg of calcium carbonate, per day for 40 days, followed by a tablet twice a day of a fix combination of 1,250 mg of calcium carbonate and 400 IU of cholecalciferol for 1 year of treatment, according to drug labelling. In order to create a control group, replacement therapy was not indicated to the patients attending our clinic in August and September. The patients treated with vitamin D supplements at the baseline were excluded

from this second study phase and those with sufficient 25(OH)D levels at baseline were assigned to the control group. All the participants were advised to not make any nutritional or lifestyle changes that could interfere with the results during the treatment period.

Effects of therapeutic intervention

The cases in the treatment group were contacted by telephone or came to our clinic every four months. During each visit, we assessed treatment compliance and adverse effects by focusing on hypercalcemia or hypercalciuria symptoms and, if required, by measuring serum or urine calcium. Treatment compliance was self-reported and participants were deemed “compliant” if they had taken 75% or more of the tablets. One year after treatment began, all the cases with CLE were re-evaluated by a blinded outcome assessor, who was the same dermatologist as at the baseline. The results were evaluated by: (i) CLASI; (ii) frequency and duration of exacerbations, as reported by patients; (iii) global patient assessment, recorded as “better”, “no different” or “worse” than the previous year. Another blood test was done only with the cases in the treatment group in order to assess changes in serum 25(OH)D levels.

Statistical analysis

During the first stage, differences among qualitative results were compared using the χ^2 test between CLE patients and controls. Quantitative data sets were also tested for normality with the Kolmogorov–Smirnov test. All the parameters were normally distributed. The results were presented as mean \pm SD. A Student’s paired *t*-test was used for the quantitative variables.

In the second step, we compared the CLE patients with and without replacement therapy. Descriptive statistics were used to describe the distributions of both patient groups, the baseline disease characteristics and follow-up evaluations (CLASI A and D, and the sum of the A+D score). Pearson’s χ^2 was used to assess associations between nominally scaled variables.

The correlation among the CLASI A, D and A+D scores with the serum 25(OH)D level at the beginning and the end of the follow-up was assessed by a Spearman’s rank correlation test. The outcome

dichotomous variable was set to define those patients whose clinical situation had improved at the end of the follow-up period (patients with and without improvement). Logistic regression models were determined to account for outcome that was better than expected by chance ($P < 0.001$) with a Wald test and a χ^2 odds ratio test. Crude ORs, adjusted ORs plus the corresponding 95% confidence intervals (95% CIs) were calculated by univariate and conditional multivariate logistic regression, respectively. Multivariate logistic regression was also applied, including gender and age as covariables. A P value of < 0.05 was considered significant. Statistical calculations were performed with the SPSS 19.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Results

Demographic variables

The characteristics of the CLE subjects and the unaffected age- and sex-matched controls are summarised in Table 1. It is noteworthy that the CLE subjects were more likely to present a darker skin type ($p=0.001$), shorter daily sun exposure ($p=0.03$) used sunscreens more ($p=0.001$), and that there were more smokers among the CLE subjects ($p=0.001$).

Baseline clinical and laboratory evaluations

In all, 81% of CLE subjects presented chronic CLE, while photosensitivity was present in 63% of the CLE participants. Globally, the average number of exacerbations was 2.7 ± 3.7 , and the mean period with active lesions was 108 ± 14 days. Of all the patients, the blood test revealed that 25% of those with CLE presented autoantibodies. The mean CLASI A score was 2.17 ± 2.48 and the CLASI D score was 0.61 ± 1.51 .

Serum 25(OH)D levels were higher in unaffected participants than in the CLE subjects (mean \pm SD) (26 ± 8 vs. 20 ± 9) ($p=0.001$). PTH levels were also higher in the non-CLE participants (49 ± 16 vs. 34 ± 17) ($p=0.001$). CLE was associated with an increased odds of having 25(OH)D levels under 20 ng/ml (OR 3.5, 95% CI 1.8-6.7), consistent with deficiency. This association, be it reduced, persisted after adjusting

for age, smoking, sun exposure and sunscreen use (adjusted OR 2.3, 95%CI 1.2-5.8) (data not shown). Increasing age in the CLE group was significantly associated with lower 25(OH)D levels ($p=0.02$), while those with a disease duration of ≥ 5 years presented higher odds of vitamin D deficiency (OR 3.1, 95%CI 1.0-9.3) (Table 2). Serum 25(OH)D levels were lower in the patients treated with antimalarials (21 ± 9 vs. 14 ± 6) ($p=0.04$). We found no correlation between serum 25(OH)D levels and score ($r=-0.04$, $p=0.87$) (data not shown). No differences were observed in the baseline characteristics between treated and untreated patients, apart from serum 25(OH)D levels, which were lower in the treatment group (mean \pm SD: 17 ± 7 vs. 23 ± 10) ($p=0.01$), duration of menopause, which was longer in women from the untreated group ($p=0.03$), and the higher number of smokers among treated cases (Table 3). There was a trend, although not significant, towards higher severity scores in the treatment group (Table 3). None of the patients who came in June-July and three of those attending in August-September presented sufficient 25(OH)D levels at baseline.

Laboratory assessment

The mean 25(OH)D levels of the treatment group increased from 17 ± 7 to 30 ± 9 ($p=0.001$), with a mean increment of 13 ng/ml. Of the 27 patients with 25(OH)D levels < 30 ng/ml at the baseline who received replacement therapy, 60% reached optimal levels after 1 year of treatment. It should be noted that the 25(OH)D levels in three patients (11%) remained at < 20 ng/ml after 1 year of treatment.

Effects of therapeutic intervention

Supplements were well-tolerated with no serious adverse events recorded. Two patients in the control group (7%) were lost during follow-up and four patients in the treatment group (12%) were considered non-compliant. Two additional patients from the treatment group (6%) stopped medication because of pregnancy. All these patients were excluded from the analysis. One patient in the treatment group presented new onset pruritus, which improved after adding antimalarials without discontinuing vitamin D supplements. Significant clinical improvement was seen after 1 year in the treatment group (Figure 1).

CLASI A decreased from 2.7 ± 2.9 to 0.9 ± 1.4 ($p=0.003$), but CLASI D did not significantly change (from 0.4 ± 1.0 to 0.6 ± 1.3) ($p=0.26$). In the control group participants, CLASI did not significantly alter (CLASI A from 1.4 ± 1.6 to 2.2 ± 2.4 , $p=0.18$; CLASI D from 0.8 ± 2.0 to 0.9 ± 2.0 , $p=0.33$). Similarly, there was a consistent trend towards a lower number of exacerbations per year in the treatment group ($p=0.17$) (Figure 2), but it was not statistically significant. The number of days with active lesions also lowered in the treatment group from 118 ± 153 to 56 ± 114 ($p=0.009$), but not in the control group (82 ± 123 to 65 ± 112 , $p=0.37$) (Figure 3). Of the patients in the treatment group, 59% vs. 24% of untreated patients considered that their disease status was better than it was 1 year before (Figure 4). Nonetheless, none of the treated participants vs. 16% of the untreated participants thought their disease status was worse than at the baseline, and these differences were statistically significant ($p=0.01$).

Although the odds of reducing CLASI were 2.3 times higher in those individuals whose levels of 25(OH)D increased above the mean change, they were not statistically significant ($p=0.49$).

Our data show that the 25(OH)D levels in the CLE patients are significantly lower than in the controls, and that having CLE increases the odds of inadequate serum 25(OH)D levels, even after adjusting for sun exposure and sunscreen use. However, the most important finding of this study is that vitamin D supplementation may have improved disease activity scores in our patients with vitamin D insufficiency.

The mean levels in our sample are lower than those reported in previous studies,^{14,15} although our investigation was performed in a city at a lower latitude. Our results are in line with those found in African-American subjects with CLE in Texas¹⁶, even though all our participants were Caucasians. Other studies performed in Spain either with healthy population¹⁷ or patients with acute ischemic heart disease¹⁸ have shown similar 25(OH)D levels than our controls. This finding could be explained by the high temperatures reached in summer in Spain, which encourage sun protection and midday sun avoiding, and the low consumption of cod liver oil and vitamin D-enriched foods in our area¹⁹. The lower serum

25(OH)D levels in the treatment group can be explained by the seasonal variation of this vitamin, which peaks at the end of summer³.

Although a protective effect of hydroxychloroquine on bone mineral density has been demonstrated²⁰, we found lower levels of 25(OH)D among the patients being treated with antimalarials. However, it is difficult to draw general conclusions about this as only eight subjects were on treatment with such drugs.

Our previous study did not find a relation between baseline disease severity and vitamin D status. This coincides with former studies showing no association between vitamin D status and disease activity^{16,21}.

Interestingly, some cross-sectional studies have shown an inverse relationship between serum 25(OH)D levels and SLE disease activity^{8,23-27}, but not all of them^{5,6,8}. Herein we show this association prospectively. Renne et al²¹ reported some clinical improvement in individual patients, but no obvious alteration to disease activity which can be linked to replacement therapy, possibly due to small sample size. To the best of our knowledge, no other longitudinal studies have been carried out to assess the effect of vitamin D supplementation on CLE severity. We observed an improvement in CLE severity measured by a blinded assessor using both the CLASI, which measure activity and damage due to the disease at a timely moment, and the number of days with active lesions reported by patients over the whole treatment period. In accordance with the physician assessment, patients' global impression of change also supports an encouraging effect of vitamin D supplementation on CLE severity, although a potential placebo-effect cannot be ruled out. While treated patients receive not only vitamin D supplements but also calcium carbonate, there have been no reports of an effect of calcium carbonate supplements on lupus activity. On the other hand, other interventional studies performed in patients with SLE also found improvement in both disease activity^{9,10,29} and the urine protein-to-creatinine ratio²⁹ after vitamin D supplementation, although others reported only a beneficial effect on fatigue³⁰.

The mechanisms by which vitamin D exerts its potential beneficial effects on lupus erythematosus remain unclear. 1,25(OH)2D, the active form of vitamin D, has shown a modulator effect in both innate and

adaptive immune responses³¹. Vitamin D supplements inhibit the differentiation and maturation of dendritic cells, and induce a shift in T-cells from Th1 and Th17 to a Th2 phenotype¹⁰. In addition, low serum 25(OH)D levels diminish Treg migratory capacity in SLE patients and healthy controls³². Furthermore, 1,25(OH)2D has shown potent direct effects on B-cell responses in patients with SLE or rheumatoid arthritis by inhibiting B-cell proliferation, generating class-switched memory B-cells, and leading to the differentiation of B-cells into plasma cells and immunoglobulin secretion^{10,33}.

Consistently with these findings, various epidemiological studies have suggested associations between vitamin D deficiency and a higher incidence of immune-mediated diseases, such as multiple sclerosis, type 1 diabetes mellitus and inflammatory bowel disease³. More recent clinical studies have addressed the question as to whether development and progression of autoimmune diseases can be influenced by vitamin D supplementation. A recent systematic review³⁴ reached the conclusion that several studies indicate a potential role of vitamin D in the prevention of autoimmune diseases, but randomised controlled trials are still lacking in this field.

This study is not without its limitations, which include the small sample size, lack of a placebo-controlled group, a non-randomised partial blind trial design, and compliance measurement. The generalisability of our results may pertain to only Caucasians as our study did not include other ethnic groups. When considering safety of vitamin D supplementation³ and insufficient vitamin D repletion in many patients, we believe that higher doses of cholecalciferol should be recommended. Despite the limitation of insufficient vitamin D repletion, an improvement in disease severity was noted after vitamin D supplementation.

However, randomised controlled trials are necessary to establish the optimal level of vitamin D supplementation and its clinical efficacy in preventing CLE or modifying the course the disease.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Funding

This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not -for-profit sectors.

References:

1. Hossein-Nezhad A, Holick MF: Vitamin D for health: A global perspective. *Mayo Clin Proc* 2013; 88: 720-755.
2. Kamen D, Aranow C. Vitamin D in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 2008; 20: 532-537.
3. Prietl B, Treiber G, Pieber TR, Amrein K. Vitamin D and immune function. *Nutrients* 2013; 5: 2502-2521.
4. Kamen DL, Cooper GS, Bouali H, Shaftman SR, Hollis BW, Gilkeson GS. Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2006; 5: 114-117.
5. Ruiz Irastorza G, Egurbide MV, Olivares N, Martinez-Berriotxo A, Aguirre C. Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus: prevalence, predictors and clinical consequences. *Rheumatology* 2008; 47: 920-923.
6. Toloza SM, Cole DE, Gladman DD, Ibañez D, Urowitz MB. Vitamin D insufficiency in a large female SLE cohort. *Lupus* 2010; 19: 13-19.
7. Singh A, Kamen DL. Potential benefits of vitamin D for patients with systemic lupus erythematosus. *Dermatoendocrinol* 2012; 4: 146-151.

8. Amital H, Szekanecz Z, Szücs G, *et al.* Serum concentrations of 25-OH vitamin D in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) are inversely related to disease activity: is it time to routinely supplement patients with SLE with vitamin D? *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 1155-1157.
9. Abou-Raya A, Abou-Raya S, Helmii M. The effect of vitamin D supplementation on inflammatory and hemostatic markers and disease activity in patients with systemic lupus erythematosus: a randomized placebo-controlled trial. *J Rheumatol* 2013; 40: 265-272.
10. Terrier B, Derian N, Schoindre Y, *et al.* Restoration of regulatory and effector T cell balance and B cell homeostasis in systemic lupus erythematosus patients through vitamin D supplementation. *Arthritis Res Ther* 2012; 14: R221.
11. Cutillas-Marco E, Morales-Suárez-Varela M, Marquina-Vila A, Grant W. Serum 25-hydroxyvitamin D levels in patients with cutaneous lupus erythematosus in a Mediterranean region. *Lupus* 2010; 19: 810-814.
12. Albrecht J, Taylor L, Berlin JA, *et al.* The CLASI (Cutaneous Lupus Erythematosus Disease Area and Severity Index): an outcome instrument for cutaneous lupus erythematosus. *J Invest Dermatol* 2005; 125: 889-894.
13. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, *et al.* Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 1911-1930.
14. Heine G, Lahl A, Müller C, Worm M. Vitamin D deficiency in patients with cutaneous lupus erythematosus is prevalent throughout the year. *Br J Dermatol* 2010; 163: 863-865.
15. Cusack C, Danby C, Fallon JC, *et al.* Photoprotective behaviour and sunscreen use: impact on vitamin D levels in cutaneous lupus erythematosus. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2008; 24: 260-267.

16. Word AP, Perese F, Tseng LC, Adams-Huet B, Olsen NJ, Chong BF. 25-Hydroxyvitamin D levels in African-American and Caucasian/Hispanic subjects with cutaneous lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 2012; 166: 372-379.
17. Mata Granados JM, Luque de Castro MD, Quesada Gomez JM. Inappropriate serum levels of retinol, alpha-tocopherol, 25 hydroxyvitamin D3 and 24,25 dihydroxyvitamin D3 levels in healthy Spanish adults: simultaneous assessment by HPLC. *Clin Biochem* 2008; 41: 676-80.
18. Pérez Castrillón JL, Vega G, Abad L, Sanz A, Chaves J, Hernandez G, Dueñas A. Effects of atorvastatin on vitamin D levels in patients with acute ischemic heart disease. *Am J Cardiol* 2007; 99: 903-5.
19. Lips P. Worldwide status of vitamin D nutrition. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 121: 297-300.
20. Ruiz Irastorza G, Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Khamashta MA. Clinical efficacy and side effects of antimalarials in systemic lupus erythematosus: a systematic review. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 20-28.
21. Renne J, Werfel T, Wittmann M. High frequency of vitamin D deficiency among patients with cutaneous lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 2008; 159: 479-511.
22. Becker A, Fischer R, Schneider M. Bone density and 25-OH vitamin D serum level in patients with systemic lupus erythematosus. *Z Rheumatol* 2001; 60: 352-358.
23. Borba VZ, Vieira JG, Kasamatsu T, Radominski SC, Sato EI, Lazaretti-Castro M. Vitamin D deficiency in patients with active systemic lupus erythematosus. *Osteoporos Int* 2009; 20: 427-433.
24. Bonakdar ZS, Jahanshahifar L, Jahanshahifar F, Gholamrezaei A. Vitamin D deficiency and its association with disease activity in new cases of systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2011; 20: 1155-1160.
25. Yeap SS, Othman AZ, Zain AA, Chan SP. Vitamin D levels: its relationship to bone mineral density response and disease activity in premenopausal Malaysian systemic lupus erythematosus patients on corticosteroids. *Int J Rheum Dis* 2012; 15: 17-24.

26. Reynolds JA, Haque S, Berry JL, Pemberton P, *et al.* 25-Hydroxyvitamin D deficiency is associated with increased aortic stiffness in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 2012; 51: 544-551.
27. Souto M, Coelho A, Guo C, *et al.* Vitamin D insufficiency in Brazilian patients with SLE: prevalence, associated factors, and relationship with activity. *Lupus* 2011; 20: 1019-1026.
28. Petri M, Bello KJ, Fang H, Magder LS. Vitamin D in systemic lupus erythematosus: modest association with disease activity and the urine protein-to-creatinine ratio. *Arthritis Rheum* 2013; 65: 1865-1871.
29. Ruiz Irastorza G, Gordo S, Olivares, Egurbide MV, Aguirre C. Changes in vitamin D levels in patients with systemic lupus erythematosus: Effects on fatigue, disease activity, and damage. *Arthritis Care Res* 2010; 62: 1160-1165.
30. Mok CC. Vitamin D and systemic lupus erythematosus: an update. *Expert Rev Clin Immunol* 2013; 9: 453-463.
31. Handono K, Marisa D, Kalim H. Association between the low levels of vitamin D and Treg function in systemic lupus erythematosus patients. *Acta Med Indones* 2013; 45: 26-31.
32. Chen S, Sims GP, Chen XX, Gu YY, Chen S, Lipsky PE. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human B cell differentiation. *J Immunol* 2007; 179: 1634-1647.
33. Antico A, Tampoia M, Tozzoli R, Bizzaro N. Can supplementation with vitamin D reduce the risk or modify the course of autoimmune diseases? A systematic review of the literature. *Autoimmun Rev* 2012; 12: 127-136.

Table 1: Demographics and baseline characteristics of all the participants

Variables	Cases (n=60)	Controls (n=117)	p-value
<i>Gender</i>			
Male n (%)	15 (25)	30 (57)	0.54
Female n (%)	45 (75)	87 (74)	
<i>Age (years) (mean±SD)</i>			
Median	46.8±13.5	47.7±12.9	0.65
<i>Fitzpatrick skin type</i>			
Type I- II	20 (33)	59 (50)	0.001
Type III	23 (38)	51 (44)	
type IV	17 (28)	7 (6)	
<i>Daily sun exposure</i>			
<60 units?			0.03
60-120	27 (45)	32 (27)	
>120	21 (35)	38 (33)	
	12 (20)	46 (39)	
<i>Sunscreen use</i>			
Always	33 (55)	29 (25)	0.001
Occasionally	18 (30)	39 (33)	
Never	6 (10)	49 (42)	
<i>BMI (mean±SD)</i>	25.4±5.1	25.2±4.0	0.801
<i>Cigarette smoking</i>			
non-smokers	21 (35)	84 (72)	0.001
smokers	39 (65)	32 (27)	
<i>Number of cigarettes/day (mean±SD)</i>	11.4±11.4	12.9±9.4	0.55
<i>Menopause (n and %yes)</i>	16 (27)	35 (30)	0.87
<i>Duration of menopause</i>			
<10 years	8 (50)	27 (75)	0.08
>10years	8 (50)	9 (25)	
<i>Daily vitamin D intake (mcg/d) (mean±SD)</i>	5.4±2.2	5.4±2.6	0.99
<i>Calcium (mean±SD)</i>	9.5±0.3	9.4±0.7	0.46
<i>PTH (mean±SD)</i>	34.1±17.3	48.7±15.9	0.001
<i>25(OH)D levels (Mean±SD)</i>	19.9±8.7	26±7.7	0.001
<i>Vit D supplements</i>	5 (8)	8 (7)	0.72

BMI: Body Mass Index

Table 2: Risk of vitamin D deficiency (<20 ng/ml) in patients with CLE in relation to the demographic features and status of their disease.

25(OH) Vitamin D			
	Mean	SD	ORc (95% CI)
Age (p=0.02)			
<35	25.8	12	1
35-50	18.8	5.5	0.32 (0.08-1.32)
>50	17.7	8.4	1.11 (0.35-3.56)
Gender (p=0.95)			
Male	20	7.2	1
Female	19.9	9.3	0.49 (0.15-1.60)
Menopause (p=0.98)			
No	19.7	9.9	1
Yes	20.2	8.1	1.45 (0.43-4.89)
Fitzpatrick skin type (p=0.89)			
IV	20.8	8.4	1
III	20.6	9.5	0.48 (0.13-1.80)
I-II	19.5	8.8	0.49 (0.14-1.69)
BMI, kg m⁻² (p=0.80)			
<25	20.1	9.2	1
>25	19.6	8.3	0.91 (0.33-2.55)
Smoking (p=0.63)			
No	20.7	5.8	1
Yes	19.5	10	1.91 (0.65-5.61)
Daily intake of vitamin D (mcg/day) (p=0.58)			
>5	20.5	7.8	1
<5	19.2	9.7	1.98 (0.71-5.57)
Sunscreen use (p=0.42)			
Always	19.1	8	1
Occasionally	19.6	9	2.53 (0.40-15.75)
Never	25.6	12	2.50 (0.36-17.31)
Daily sun exposure (min) (p=0.49)			
>120	22.1	8.5	1
60-120	20.3	9.4	0.42 (0.10-1.68)
<60	18.6	8.4	0.53 (0.17-1.70)
PTH (pg/ml) (p=0.06)			
<32	22.2	9.5	1

25(OH) Vitamin D			
	Mean	SD	ORc (95% CI)
32.1 – 52	18.1	7.5	-
>52.1	13.5	6.1	-
Photosensitivity (p=0.98)			
No	19.9	6.5	1
Yes	19.9	10	1.18 (0.40-3.45)
Disease duration (years) (p=0.32)			
<5	21.3	7	1
≥5	18.8	11	3.09 (1.03-9.30)
Type of lupus (p=0.94)			
Subacute	20	9.6	1
Chronic	20.2	5.6	1.44 (0.38-5.42)
Antimalarials (p=0.04)			
Yes	14.2	6.2	1
No	21.1	9	0.13 (0.01-1.10)
Autoantibodies (p=0.69)			
Yes	19.5	5.7	1
No	21.5	9	0.81 (0.23-2.86)
Exacerbations in previous year (p=0.41)			
0	21.5	9	1
≥1	19.4	8.9	1.64 (0.53-5.10)
CLASI baseline (p=0.99)			
0	20.3	11	1
≥1	20.2	9.4	1.01 (0.25-4.03)
Period with active lesions (p=0.41)			
0	21.5	9	1
≥1	19.4	8.9	1.64 (0.53-5.10)

SD, Standard deviation; ORc, Odds Ratio crude; CI, confidence interval; CLASI, Cutaneous Lupus Erythematosus Disease Area and Severity Index

Table 3. Baseline characteristics of treated and untreated cases

	Treated cases (n=27)	Untreated cases (n=25)	p-value
Sex			
Male n(%)	7 (25.9)	5 (20.0)	0.43
Female n(%)	20(74.1)	20 (80.0)	
Age (years) (mean±SD)	45.52±10.80	50.04±15.89	0.23
Fitzpatrick skin type			
Type I- II	10 (37.0)	7 (28.0)	0.78
Type III	10 (37.0)	11 (44.0)	
type IV	7 (25.9)	7 (28.8)	
Daily sun exposure			
<60	11 (40.7)	12 (48.0)	0.64
60-120	12 (44.4)	8 (32.0)	
>120	4 (14.8)	5 (20.0)	
Use of sunscreens			
Always	15 (55.6)	15 (60.0)	0.94
Occasionally	8 (29.6)	7 (28.0)	
Never	4 (14.8)	3 (12.0)	
BMI (mean±SD)	24.92±5.19	25.84±4.38	0.49
Cigarette smoking			
non-smokers	4 (14.8)	14 (56.0)	0.002
smokers	23 (85.2)	11 (44.0)	
Menopause (n and %yes)	7 (25.9)	9 (36.0)	0.88
Duration of menopause	5.86±4.34	15.44±9.39	0.03
Daily Intake of vitamin D (mcg/d) (mean±SD)	5.54±2.68	5.38±1.90	0.80
Calcium (mean±SD)	27	25	
PTH (mean±SD)	33.23±13.40	32.24±11.33	0.78
25(OH)D levels (Mean±SD)	17.10±7.16	23.40±10.01	0.01
Photosensitivity (% yes)	18 (66.7)	15 (60.0)	0.48
Duration of the disease (mean±SD)	8.04±11.06	7.24±8.37	0.77
Type of lupus			
Subacute	6 (22.2)	4 (16.0)	0.42
Chronics	21 (77.8)	21 (84.0)	
Antimalarials (% yes)	5 (18.5)	3 (12.0)	0.40
Autoantibodies(% yes)	6 (22.2)	7 (28.0)	0.80
Exacerbations during the previous year (mean±SD)	2.81±3.71	2.36±3.45	0.65
Period with active lesions (mean±SD)	118.59±152.94	93.96±130.97	0.54
CLASI (A+D score) (mean±SD)	2.87±3.03	2.12±2.34	0.40

