

Asociación del polimorfismo RS4404254 del gen ICOS con la severidad de las manifestaciones renales en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico de la población mestiza Venezolana

Association of the ICOS gene polymorphism RS4404254 with the severity of renal manifestations in patients with systemic lupus erythematosus in the Venezuelan mestizo population

Mariana Fuentes^{1a}, Jiomarlyn Guilarte M^{2a}, Christian Medina^{3a}, Félix Toro^{4a},
Gisselle Gil Z^{5a}, Cristina Najm^{6a}, María del Pilar Fortes^{7a}, Juan De Sanctis^{8b},
Mercedes Fernández-Mestre^{9c}, Mercedes Zabaleta Lanz^{10a*}

RESUMEN

Introducción: El Lupus Eritematoso Sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune de inmunopatogenia compleja. El gen ICOS codifica el coestimulador inducible de células T, cuya desregulación se asocia con autoinmunidad, aunque no existen reportes previos en la población mestiza venezolana. **Objetivo:** Evaluar la asociación del polimorfismo rs4404254 del gen ICOS con la severidad de las manifestaciones renales en pacientes con LES de la población mestiza venezolana. **Metodología:** Estudio exploratorio, observacional y descriptivo de 64 pacientes con LES y 62 controles

sanos, captados en el Instituto de Inmunología “Dr. Nicolás Bianco” de la U.C.V. La genotipificación del polimorfismo de nucleótido único (SNP) se realizó mediante PCR-RFLP. Se utilizó el programa SNPstats para evaluar los modelos de herencia y seleccionar el de mejor ajuste según el valor de AIC. **Principales desenlaces estudiados:** Asociación genética con la susceptibilidad al LES y su relación con indicadores de severidad clínica, específicamente con la proteinuria en rango nefrótico. **Resultados:** No se encontró asociación entre el SNP rs4404254 y la susceptibilidad general al LES. Sin embargo, al evaluar la severidad renal, el modelo de herencia sobredominante presentó el menor valor de AIC, lo que indica al genotipo heterocigoto T/C como el de mejor ajuste para la asociación con proteinuria en rango nefrótico (OR: 4,33; IC 95%: 1,28-14,72). Asimismo, este genotipo se asoció con la necesidad de terapia biológica o de ciclofosfamida. **Conclusión:** El modelo de mejor ajuste estadístico identifica el genotipo T/C del SNP rs4404254 como un marcador de riesgo para complicaciones renales severas y para el requerimiento de terapia inmunosupresora agresiva en esta serie de casos.

Palabras clave: Lupus eritematoso sistémico, Nefritis lúpica, Polimorfismo de nucleótido único, Coestimulador inducible de células T, Síndrome nefrótico, Población mestiza

ORCID:

¹ [0009-0008-1254-7800](https://orcid.org/0009-0008-1254-7800)

² [0009-0007-5868-0765](https://orcid.org/0009-0007-5868-0765)

³ [0000-0003-2056-0075](https://orcid.org/0000-0003-2056-0075)

⁴ [0000-0002-8044-3279](https://orcid.org/0000-0002-8044-3279)

⁵ [0000-0002-5191-4617](https://orcid.org/0000-0002-5191-4617)

⁶ [0009-0006-4028-1945](https://orcid.org/0009-0006-4028-1945)

⁷ [0000-0002-2412-154X](https://orcid.org/0000-0002-2412-154X)

⁸ [0000-0002-5480-4608](https://orcid.org/0000-0002-5480-4608)

⁹ [0000-0001-6227-5884](https://orcid.org/0000-0001-6227-5884)

¹⁰ [0000-0002-9540-7318](https://orcid.org/0000-0002-9540-7318)

***Autor de correspondencia:** Mercedes Zabaleta Lanz.
Dirección: Ciudad Universitaria, Caracas, Venezuela.
Teléfono: +584142183260. E-mail: mercedeszabaleta@hotmail.com

Recibido: 16 de mayo 2026

Aceptado: 8 de julio 2026

a. Instituto de Inmunología “Dr. Nicolás Bianco”, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela (U.C.V.). Caracas, Venezuela.

b. University of Palacky, Olomouc, Czech Republic.

c. Sección Inmunogenética, Laboratorio de Fisiopatología, Centro de Medicina Experimental, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (I.V.I.C.). Altos de Pipe, Venezuela.

SUMMARY

Introduction: *Systemic Lupus Erythematosus (SLE) is an autoimmune disease with a complex immunopathogenesis. The ICOS gene encodes the Inducible T-cell Co-stimulator, whose dysregulation is associated with autoimmunity; however, there are no prior reports in the mixed-ancestry (mestizo) Venezuelan population.* **Objective:** *To evaluate the association of the ICOS gene rs4404254 polymorphism with the severity of renal manifestations in SLE patients from the Venezuelan mestizo population.* **Design and methods:** *An exploratory, observational, and descriptive study of 64 patients with SLE and 62 healthy controls, recruited at the "Dr. Nicolas Bianco" Institute of Immunology, U.C.V., Caracas, Venezuela. Genotyping of the single-nucleotide polymorphism (SNP) was performed using PCR-RFLP. The SNPstats program was used to evaluate inheritance models, selecting the best fit based on the Akaike Information Criterion (AIC). Main outcome measures: Genetic association with SLE susceptibility and its relationship with renal severity indicators, specifically nephrotic-range proteinuria.* **Results:** *The ICOS rs4404254 SNP was not associated with overall SLE susceptibility. However, when evaluating renal severity, the overdominant inheritance model presented the lowest AIC value, identifying the T/C heterozygous genotype as the best fit for the association with nephrotic-range proteinuria (OR: 4.33; 95% CI: 1.28-14.72). Additionally, this genotype was linked to the requirement for biological therapy or cyclophosphamide.* **Conclusion:** *The best-fit statistical model (lowest AIC) identifies the T/C genotype at rs4404254 as a risk marker for severe renal complications and the need for aggressive immunosuppressive therapy in this case series.*

Keywords: *Lupus erythematosus, systemic, Lupus nephritis, Polymorphism, single nucleotide, Inducible T-cell co-stimulator, Nephrotic syndrome, Mestizo population*

INTRODUCCIÓN

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune multisistémica caracterizada por la producción de autoanticuerpos, cuya compleja inmunopatogenia involucra interacciones entre factores genéticos y ambientales. El factor más fuertemente asociado con el desarrollo de la enfermedad es la presencia de antecedentes familiares de LES o de enfermedades del tejido conectivo en familiares de primer grado. La influencia genética se evidencia por la agregación familiar (10% - 20%) y la alta

concordancia en gemelos monocigóticos (24% - 58%), aproximadamente 10 veces mayor que en gemelos dicigóticos (2% - 5%) (1). Estudios de agregación familiar han estimado que la heredabilidad del LES es de aproximadamente el 66%. Además, el riesgo de que los hermanos de un individuo afectado desarrollen la enfermedad es considerablemente elevado en comparación con otras condiciones autoinmunes (2). Sin embargo, datos de estudios genéticos recientes en la población de Taiwán estimaron la heredabilidad en un 43,9% (3), lo que evidencia la variabilidad según el grupo poblacional estudiado.

La magnitud del efecto de las variantes genéticas en el riesgo de enfermedades autoinmunes varía entre diferentes grupos étnicos y puede diferir sustancialmente entre poblaciones caucásicas, africanas, amerindias o mestizas (4). La población venezolana mestiza, resultado de una mezcla genética de europeos (60,6%), amerindios (23%) y africanos (16,3%) (5), representa una diversidad genética relevante para estudios de asociación. No obstante, hasta la fecha, no se han reportado estudios de asociación de polimorfismos de nucleótido único (SNP) para genes candidatos en relación con el LES en esta población.

Las estrategias de asociación genómica han identificado más de 90 loci asociados con el riesgo de LES (6). Dentro de su inmunopatogenia, la interacción entre células T y B juega un papel crucial; las células T actúan como un punto de control para las células B autorreactivas, induciendo el cambio de clase que favorece la producción de autoanticuerpos IgG de alta afinidad. En consecuencia, varios SNP en genes que codifican proteínas relacionadas con las funciones linfocitarias se han identificado como loci de susceptibilidad (7). La evidencia señala el papel central de la sobreactivación de células T autorreactivas, en la que la alteración de las moléculas coestimuladoras promueve la progresión de la inflamación. En este contexto, el coestimulador inducible de células T (*ICOS*) ha emergido como una molécula de interés particular (8).

ICOS es un receptor esencial para la activación de las células T y para la función humoral de la

respuesta inmunitaria. Se ha observado una elevada expresión de esta molécula en pacientes con LES, lo que sugiere su relevancia en la patogénesis (9). Asimismo, desempeña un papel crítico en la diferenciación de las células B en células de memoria y plasmáticas dentro de los centros germinales (10). Se ha documentado su relevancia en diversas patologías, como la esclerosis sistémica (11), y se sugiere que los polimorfismos en el gen *ICOS* pueden afectar la señalización y contribuir a la susceptibilidad a la diabetes mellitus tipo 1, el pénfigo y la artritis reumatoide (12). En la población mestiza venezolana, Fortes y col. (2017) describieron asociaciones entre el SNP rs4404254 de *ICOS* y la hepatitis autoinmune (13). Por el contrario, un estudio en población taiwanesa no halló asociación entre este SNP y el LES (14), mientras que investigaciones en población tunecina sí reportaron vínculos entre variantes de *ICOS* y la enfermedad (15). Estas discrepancias subrayan la necesidad de realizar estudios en diversas poblaciones para comprender el papel de *ICOS* en el LES.

Dado que la incidencia y prevalencia del LES son notablemente mayores en poblaciones afroamericanas, asiáticas e hispanas (16), el presente estudio representa una contribución relevante al ser el primero en investigar la asociación genética entre el polimorfismo rs4404254 de *ICOS* y el LES en la población mestiza venezolana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional de casos y controles en individuos mestizos con ancestros venezolanos hasta la tercera generación, no relacionados entre sí. El grupo de casos estuvo conformado por 64 pacientes con LES, diagnosticados según los criterios EULAR/ACR 2019 (17), cuya actividad clínica se evaluó mediante el índice SLEDAI-2K (18). Los pacientes fueron reclutados en la consulta de inmunorreumatología del Instituto de Inmunología (I.D.I.) de la Universidad Central de Venezuela (U.C.V.), entre junio de 2023 y junio de 2024. El protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética

del I.D.I. y todos los participantes otorgaron su consentimiento informado. El grupo control consistió en 62 individuos sanos, emparejados por sexo y edad, seleccionados de la base de datos de la Sección de Inmunogenética del I.D.I.

El ADN genómico se extrajo de leucocitos de sangre periférica utilizando el kit comercial gMAX (IBI Scientific), según las especificaciones del fabricante. La genotipificación del SNP rs4404254 se realizó mediante la técnica de PCR-RFLP, utilizando los iniciadores y el protocolo descritos por Haimila y col. (19).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo utilizando medias y desviaciones estándar para variables continuas y frecuencias con porcentajes para variables categóricas. Para la comparación de variables categóricas se empleó la prueba de Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher, según correspondiera a la frecuencia esperada en cada casilla. La fuerza de las asociaciones se determinó mediante el cálculo del Odds Ratio (OR) y sus respectivos intervalos de confianza del 95 % (IC 95 %). Los análisis clínicos se realizaron con el software SPSS versión 27.

Para el análisis genético, se utilizó el programa SNPstats (20) para determinar las frecuencias alélicas y genotípicas, verificar el equilibrio de Hardy-Weinberg y evaluar los modelos de herencia (codominante, dominante, recesivo, sobredominante y log-aditivo). La selección del modelo de mejor ajuste para las asociaciones encontradas se basó en el menor valor del Criterio de Información de Akaike (AIC).

RESULTADOS

De los 126 individuos incluidos, 64 eran pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES), todos de sexo femenino, con una edad media de 47 ± 16 años al inicio del estudio. El 15% de los pacientes fueron diagnosticados en la

edad pediátrica. Las manifestaciones clínicas predominantes, presentes en más del 80% de los casos, fueron articulares y mucocutáneas. Estos hallazgos son consistentes con reportes epidemiológicos de series más amplias, tanto a nivel local como global (21, 22). Las manifestaciones renales se observaron en el 50% de nuestra serie de casos, un porcentaje relativamente alto en comparación con otros estudios (23). De estos pacientes con afectación renal, aproximadamente el 30% tenía diagnóstico histológico de nefritis lúpica y el 25% presentaba proteinuria mayor a 500 mg/24 horas.

Según el índice SLEDAI (*Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*), el 95% de los pacientes se clasificaron con severidad moderada o grave de la enfermedad. Asimismo, un 80% presentaba severidad desde el punto de vista inmunoserológico, evidenciada por títulos de anticuerpos antinucleares (ANA) 3+ y 4+. En cuanto al tratamiento, más del 80% de los pacientes respondieron a la terapia inmunosupresora convencional, mientras que un pequeño porcentaje se mantuvo estable con antimaláricos. Solo el 12,5 % requirió escalar a terapia biológica.

Entre las características clínico-epidemiológicas destacadas, se observó una alta comorbilidad en la población estudiada. Hasta el 70% de los pacientes presentaron condiciones asociadas, como hipertensión arterial (HTA), dislipidemia, sobrepeso o enfermedades alérgicas, datos consistentes con otros estudios publicados (24). En cuanto a las condiciones autoinmunes asociadas, el síndrome antifosfolípido (SAF) fue el predominante, en concordancia con metaanálisis y grandes series a nivel global (25). Sin embargo, en nuestra serie, la tiroiditis autoinmune presentó una alta frecuencia, similar a la del SAF, seguida del síndrome de Sjögren. Las características clínico-epidemiológicas del grupo de pacientes se detallan en el Cuadro 1.

Con respecto a la distribución de frecuencias alélicas y genotípicas del SNP rs4404254 del gen *ICOS*, se observó en la población total una mayor frecuencia del genotipo homocigoto para el alelo de referencia T/T (60 %; n=75), seguida

Cuadro 1. Características clínico-epidemiológicas del grupo de pacientes con LES

Características	n = 64
Sexo, femenino (%)	64 (100)
Edad, media (DE), años	47 (16)
Diagnóstico en edad pediátrica, sí (%)	10 (15,6)
Manifestaciones clínicas (%)	
Articulares, sí	58 (90,6)
Mucocutáneas, sí	52 (81,3)
Renales, sí	32 (50)
Hematológicas, sí	29 (45,3)
Neurológicas, sí	11 (17,2)
Serositis, sí	8 (12,5)
Complicaciones órgano específicas (%)	
Nefritis lúpica, sí	19 (29,7)
Proteinuria en rango nefrótico, sí	16 (25)
Severidad por SLEDAI	
Leve, sí	3 (4,8)
Moderada, sí	29 (46)
Grave, sí	31 (49,2)
Severidad inmunoserológica (%)	
ANA positivo hasta 2+, sí	10 (20)
ANA positivo 3+, sí	18 (36)
ANA positivo 4+, sí	22 (44)
Anti-ADN positivo, sí	56 (88,9)
Consumo de complemento, sí	47 (75,8)
Respuesta al tratamiento (%)	
Tratamiento inmunosupresor convencional, sí	52 (81,3)
Requerimiento de ciclofosfamida o terapia biológica, sí	8 (12,5)
Respuesta con tratamiento antimalárico, sí	8 (12,5)
Presencia de condiciones no autoinmunes asociadas, sí	45 (70,3)
Hipertensión arterial sistémica, sí	24 (37,5)
Obesidad/Sobrepeso, sí	10 (15,6)
Dislipidemia, sí	26 (40,6)
Enfermedades alérgicas, sí	9 (14,1)
Otras enfermedades autoinmunes, sí	40 (62,5)
Síndrome antifosfolípido, sí	16 (25)
Artritis reumatoide, sí	6 (9,4)
Tiroiditis autoinmune, sí	16 (25)
Síndrome de Sjögren, sí	13 (20,3)
Otras condiciones autoinmunes, sí	11 (17)

DE: Desviación Estándar

del genotipo heterocigoto T/C (33%; n=41) y del genotipo homocigoto C/C (8%; n=10). Esta misma tendencia se observó tanto en el grupo de pacientes como en el grupo control (Cuadro 2). El análisis demostró que la distribución genotípica del SNP rs4404254 se ajusta al equilibrio de Hardy-Weinberg en ambos grupos estudiados (Cuadro complementario).

El Cuadro 3 detalla la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas del SNP rs4404254, que mostró una distribución similar entre los pacientes con LES y el grupo de control. Esta similitud se mantuvo de manera consistente en todos los modelos de herencia evaluados (codominante, dominante, recesivo, sobredominante y log-aditivo), con estimadores de asociación cuyos intervalos de confianza incluyeron la unidad en todos los casos analizados.

Al analizar las características clínico-epidemiológicas en relación con la distribución genotípica del SNP rs4404254, se observó una tendencia hacia una mayor severidad de la enfermedad, según el índice SLEDAI, en los portadores de los genotipos C/C (75 %) y T/C (64,7%), en comparación con el genotipo T/T (40,5%). No obstante, los intervalos de confianza de estos estimadores incluyeron la unidad, lo que sugiere una distribución similar entre los grupos.

En la evaluación de las manifestaciones clínicas, se observó una mayor prevalencia de afectación renal en pacientes con genotipos C/C (75%) y T/C (58,8%) en comparación con el genotipo T/T (42,2%). La proteinuria en rango nefrótico (n=16; 25%) se destacó como el principal desenlace asociado a la variante genética. Esta manifestación predominó en los pacientes con el genotipo heterocigoto T/C (n=8; 47%), con un OR de 4,33 (IC 95%: 1,28-14,72). Asimismo, se observó una mayor frecuencia de requerimiento de terapia biológica o de ciclofosfamida en los portadores de dicho genotipo (29,4%) frente a los portadores del genotipo T/T (7%) ((OR: 6,25; IC 95%: 1,29-30,31) (Cuadros 4 y 5).

El análisis con SNPstats mostró que el modelo de herencia sobredominante presentó el menor valor de AIC, por lo que fue el de mejor ajuste para la asociación entre el genotipo T/C y la proteinuria nefrótica. En cuanto al tratamiento, de los 8 pacientes (12,5 %) que requirieron terapia biológica y/o ciclofosfamida debido a la gravedad de sus manifestaciones, 5 presentaban el genotipo heterocigoto T/C. El análisis del modelo de herencia sobredominante confirmó la asociación entre el genotipo T/C del SNP rs4404254 de *ICOS* y la necesidad de este esquema terapéutico, lo cual se sustenta en los estimadores de riesgo y los intervalos de confianza previamente descritos.

Cuadro 2. Frecuencias alélicas y genotípicas del SNP rs4404254 del gen *ICOS* en los grupos de pacientes y controles

Frecuencias alélicas del SNP rs4404254 del gen <i>ICOS</i> (n=126)						
	TODOS		GRUPO CONTROL		GRUPO PACIENTES	
Alelo	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
T	191	0,76	88	0,71	103	0,8
C	61	0,24	36	0,29	25	0,2
Frecuencias genotípicas del SNP rs4404254 del gen (OR: 6,25; IC 95%: 1,29-30,31 (n=126)						
	TODOS		GRUPO CONTROL		GRUPO PACIENTES	
Genotipo	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
C/C	10	0,08	6	0,1	4	0,06
T/C	41	0,33	24	0,39	17	0,27
T/T	75	0,6	32	0,52	43	0,67

Fuente: datos propios

Cuadro complementario. Distribución genotípica del SNP rs4404254 del gen *ICOS* de acuerdo con las características clínico-epidemiológicas del grupo de pacientes

Características (%)	Total 64(100%)	Genotipo del gen <i>ICOS</i>		
		T/T 43 (67,2%)	T/C 17(26,6%)	C/C 4 (6,2%)
Edad, media (DE), años	47 (16)	47 (16)	49 (15)	45 (12)
Sexo, femenino	64 (100)	43 (100)	17 (100)	4 (100)
Diagnóstico en edad pediátrica, sí	10 (15,6)	6 (14)	3 (17,6)	1 (25)
Manifestaciones Articulares, sí	58 (90,6)	39 (90,7)	15 (88,2)	4 (100)
Manifestaciones mucocutáneas, sí	52 (81,3)	34 (79,1)	14 (82,4)	4 (100)
Manifestaciones hematológicas, sí	29 (45,3)	17 (39,5)	9 (52,9)	3 (75)
Serositis, sí	8 (12,5)	5 (11,6)	3 (17,6)	0 (0)
Manifestaciones Neurológicas, sí	11 (17,2)	8 (18,6)	2 (11,8)	1 (25)
Manifestaciones renales, sí	32 (50)	19 (44,2)	10 (58,8)	3 (75)
Nefritis lúpica, sí	19 (29,7)	11 (25,6)	7 (41,2)	1 (25)
Proteinuria en rango nefrótico, sí	16 (25)	7 (16,3)	8 (47,1)	1 (25)
ANA positivo 2+, sí	10 (20)	5 (15,2)	4 (28,6)	1 (33,3)
ANA positivo 3+, sí	18 (36)	12 (36,4)	4 (28,6)	2 (66,7)
ANA positivo 4+, sí	22 (44)	16 (48,5)	6 (42,9)	0 (0)
Anti-ADN positivo, sí	56 (88,9)	35 (83,3)	17 (100)	4 (100)
Consumo de complemento, sí	47 (75,8)	32 (76,2)	12 (75)	3 (75)
SLEDAI Leve, sí	3 (4,8)	3 (7,1)	0 (0)	0 (0)
SLEDAI Moderada, sí	29 (46)	22 (52,4)	6 (35,3)	1 (25)
SLEDAI Grave, sí	31 (49,2)	17 (40,5)	11 (64,7)	3 (75)
Respuesta con tratamiento inmunosupresor convencional, sí	52 (81,3)	33 (76,7)	15 (88,2)	4 (100)
Requerimiento de ciclofosfamida o terapia biológica, sí	8 (12,5)	3 (7)	5 (29,4)	0 (0)
Respuesta con tratamiento antimalárico, sí	8 (12,5)	8 (18,6)	0 (0)	0 (0)
Presencia de condiciones no autoinmunes, sí	45 (70,3)	32 (74,4)	12 (70,6)	1 (25)
Hipertensión arterial sistémica, sí	24 (37,5)	17 (39,5)	7 (41,2)	0 (0)
Obesidad/Sobrepeso, sí	10 (15,6)	8 (18,6)	2 (11,8)	0 (0)
Dislipidemia, sí	26 (40,6)	17 (39,5)	6 (35,3)	3 (75)
Enfermedades alérgicas, sí	9 (14,1)	5 (11,6)	3 (17,6)	1 (25)
Otras enfermedades autoinmunes, sí	40 (62,5)	28 (65,1)	9 (52,9)	3 (75)
Síndrome antifosfolípido, sí	16 (25)	11 (25,6)	3 (17,6)	2 (50)
Artritis reumatoidea, sí	6 (9,4)	4 (9,3)	2 (11,8)	0 (0)
Tiroiditis autoinmune, sí	16 (25)	10 (23,3)	4 (23,5)	2 (50)
Síndrome de Sjögren, sí	13 (20,3)	10 (23,3)	2 (11,8)	1 (25)

DE: desviación estándar; Fuente: datos propios

Cuadro 3. Análisis del riesgo del SNP rs4404254 del gen *ICOS* para el LES según el modelo de herencia

Modelo	Genotipo	CONTROL	PACIENTES	OR (IC 95%)	AIC	BIC
Codominante	T/T	32 (51,6%)	43 (67,2%)	1,00	145,8	157,1
	T/C	24 (38,7%)	17 (26,6%)	0,44 (0,18-1,09)		
	C/C	6 (9,7%)	4 (6,2%)	0,54 (0,12-2,50)		
Dominante	T/T	32 (51,6%)	43 (67,2%)	1,00	143,9	152,4
	T/C-C/C	30 (48,4%)	21 (32,8%)	0,46 (0,20-1,07)		
Recesivo	T/T-T/C	56 (90,3%)	60 (93,8%)	1,00	147	155,5
	C/C	6 (9,7%)	4 (6,2%)	0,72 (0,16-3,19)		
Sobredominante	T/T-C/C	38 (61,3%)	47 (73,4%)	1,00	144,4	152,9
	T/C	24 (38,7%)	17 (26,6%)	0,48 (0,20-1,15)		
Ad-log	---	---	---	0,60 (0,31-1,14)	144,7	153,2

Fuente: datos propios

DISCUSIÓN

En este estudio exploratorio, no se encontró asociación entre el genotipo del SNP rs4404254 de *ICOS* y la susceptibilidad o la protección frente al desarrollo de lupus eritematoso sistémico (LES), independientemente del modelo de herencia evaluado. Al comparar la distribución genotípica entre pacientes y controles, se observaron frecuencias diferenciales, con una mayor prevalencia del genotipo T/T en pacientes; no obstante, los estimadores de asociación presentaron intervalos de confianza que incluyeron la unidad. De manera similar, la prevalencia del genotipo T/T en pacientes con inicio pediátrico de la enfermedad mostró una distribución similar a la del grupo general, con intervalos de confianza que no sugieren una asociación de riesgo. Estos hallazgos son consistentes con estudios previos en población asiática (14). La composición genética

específica de la población venezolana (60,6 % europea, 23 % amerindia y 16,3 % africana) fundamenta la importancia de estos resultados, que permiten establecer comparaciones con lo reportado en poblaciones asiáticas o caucásicas.

El análisis de las manifestaciones clínicas en relación con los genotipos del SNP rs4404254 mostró que los pacientes con mayor severidad, según el índice SLEDAI, y aquellos con nefritis lúpica, presentaban una mayor frecuencia de genotipos portadores del alelo C (T/C o C/C). No obstante, el desenlace principal asociado a la variante genética fue la proteinuria en rango nefrótico, en la que el genotipo heterocigoto T/C resultó predominante. En un estudio previo sobre hepatitis autoinmune en población mestiza venezolana, se observó que los individuos con el genotipo heterocigoto T/C presentaban mayores concentraciones de IgG y una mayor frecuencia de

Cuadro 4. Análisis de riesgo del SNP *rs4404254* del gen *ICOS* para la presencia de proteinuria en rango nefrótico según el modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Proteinuria, No	Proteinuria, Sí	OR (IC 95%)	AIC	BIC
Codominante	T/T	36 (75%)	7 (43,8%)	1,00	74,2	82,8
	T/C	9 (18,8%)	8 (50%)	4,57 (1,31-16,01)		
	C/C	3 (6,2%)	1 (6,2%)	1,71 (0,15-18,98)		
Dominante	T/T	36 (75%)	7 (43,8%)	1,00	72,9	79,4
	T/C-C/C	12 (25%)	9 (56,2%)	3,85 (1,18-12,60)		
Recesivo	T/T-T/C	45 (93,8%)	15 (93,8%)	1,00	78	84,4
	C/C	3 (6,2%)	1 (6,2%)	1,01 (0,10-10,44)		
Sobredominante	T/T-C/C	39 (81,2%)	8 (50%)	1,00	72,4	78,9
	T/C	9 (18,8%)	8 (50%)	4,33 (1,28-14,72)		
Ad-log	---	---	---	2,20 (0,90-5,36)	75	81,4

Fuente: datos propios

Cuadro 5. Análisis de riesgo del SNP *rs4404254* del gen *ICOS* para el requerimiento de ciclofosfamida o de terapia biológica en pacientes con LES, según el modelo de herencia

Modelo	Genotipo	Requerimiento de ciclofosfamida o terapia biológica = No	Requerimiento de ciclofosfamida o terapia biológica = Sí	OR (IC 95%)	AIC	BIC
Codominante	T/T	40 (71,4%)	3 (37,5%)	1,00	50,3	58,9
	T/C	12 (21,4%)	5 (62,5%)	5,68 (1,17-27,61)		
	C/C	4 (7,1%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		
Dominante	T/T	40 (71,4%)	3 (37,5%)	1,00	50,8	57,2
	T/C-C/C	16 (28,6%)	5 (62,5%)	4,21 (0,89-19,83)		
Recesivo	T/T-T/C	52 (92,9%)	8 (100%)	1,00	53,1	59,6
	C/C	4 (7,1%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)		
Sobredominante	T/T-C/C	44 (78,6%)	3 (37,5%)	1,00	48,8	55,3
	T/C	12 (21,4%)	5 (62,5%)	6,25 (1,29-30,31)		
Ad-log	---	---	---	1,89 (0,64-5,60)	53	59,4

Fuente: datos propios

anticuerpos antinucleares en comparación con los individuos con el genotipo T/T (26). De manera similar, en el presente trabajo, el predominio de manifestaciones clínicas graves en pacientes con el genotipo T/C sugiere una correlación entre esta variante y la actividad de la enfermedad en el LES.

La asociación observada entre el genotipo heterocigoto T/C y la necesidad de terapia biológica o de ciclofosfamida, respaldada por el modelo de herencia sobredominante, que resultó el de mejor ajuste según el valor de AIC, sugiere un papel relevante de este genotipo en la gravedad de las complicaciones renales. Estos hallazgos permiten hipotetizar que el genotipo T/C podría estar asociado con una mayor expresión de la molécula *ICOS*. Esto favorecería la coestimulación sostenida entre linfocitos T activados y células B autorreactivas en el centro germinal, promoviendo la polarización de la respuesta inmunitaria hacia un perfil Th2. La consecuente sobreproducción de anticuerpos conduciría al depósito de inmunocomplejos a nivel glomerular, lo que resultaría en daño orgánico. Por lo tanto, el genotipo heterocigoto T/C, asociado a complicaciones renales en el LES, podría inducir una sobreexpresión del gen *ICOS*, lo que plantea la necesidad de ampliar los estudios de expresión de ARNm. Si bien la molécula *ICOS* participa en la regulación de la respuesta inflamatoria y de la producción de autoanticuerpos, su papel específico en la gravedad de las manifestaciones renales es complejo y, según modelos murinos y humanos, podría no depender exclusivamente de su presencia.

A pesar de la afectación multisistémica del LES, la nefritis lúpica se destaca como la principal causa de morbilidad y mortalidad, asociada a un pronóstico desfavorable y a una reducción de la esperanza de vida (27). La enfermedad renal, caracterizada por inflamación y depósitos de inmunocomplejos glomerulares, afecta al 30 % - 60 % de los adultos y hasta al 70 % de los pacientes pediátricos con LES. La patogénesis de la nefritis lúpica involucra la hiperactivación de células B, la producción de autoanticuerpos y la formación de inmunocomplejos, procesos mediados en parte por la interacción *ICOS-ICOSL* (28). En modelos

murinos (*MRL/lpr*), se ha demostrado que *ICOS* es esencial para la función inflamatoria local de las células T CD4+ autorreactivas en el riñón, aunque no resulta indispensable para la expresión de los receptores de tráfico renal (29).

La eliminación de *ICOS* en estos modelos no altera de manera sustancial la arquitectura patológica renal, aunque sí reduce la producción de autoanticuerpos y la proliferación de células T intrarenales (30,31). Además, la expresión de *ICOS* en células T periféricas se encuentra aumentada en pacientes con nefritis lúpica en comparación con aquellos sin manifestaciones renales, lo que sugiere que esta vía de coestimulación es relevante en la patogénesis de la nefropatía (32). Por otro lado, la eliminación selectiva del ligando de *ICOS* (*ICOSL*) en células CD11c+ de modelos murinos de lupus (*MRL.FasIpr*), a pesar de no mostrar efectos sobre la producción de autoanticuerpos circulantes, ha evidenciado una mejoría de la inflamación local renal. En dichos modelos, la expresión de *ICOSL* en células CD11c+ de órganos inflamados no incrementó la apoptosis de las células T invasoras tras el aumento de actividad de la vía de señalización PI3K-Akt, facilitando así su acumulación. Esto sugiere que la vía *ICOS* desempeña un papel crítico en la persistencia de las células T en los órganos con inflamación activa (33).

Nuestros hallazgos sugieren que el gen *ICOS*, y específicamente el SNP rs4404254, se asocia con la gravedad de las manifestaciones renales. La identificación del genotipo heterocigoto T/C como factor de riesgo de proteinuria nefrótica abre la posibilidad de implementar la medicina de precisión en el LES. La genotipificación permitiría la estratificación de pacientes y la personalización del tratamiento, incluyendo el uso de anticuerpos monoclonales anti-*ICOSL* en individuos con genotipo T/C y alto riesgo de complicaciones renales. En este sentido, el bloqueo de la vía de coestimulación *ICOS-ICOSL* ha sido investigado en modelos murinos de nefritis lúpica, donde se ha demostrado que puede retrasar la progresión de la enfermedad y mejorar la arquitectura renal (34).

Asimismo, diversos ensayos clínicos han explorado el bloqueo de esta vía en pacientes con

lupus. Un estudio relevante de fase Ib evaluó el AMG 557, un anticuerpo humano dirigido contra *ICOSL*, en pacientes con LES y artritis lúpica activa (35). En este ensayo aleatorizado, doble ciego y controlado, los resultados indicaron que el AMG 557 fue seguro y mostró eficacia potencial, con mejoras en los índices de actividad SLEDAI y BILAG (*British Isles Lupus Assessment Group Index*); no obstante, los estimadores de efecto mostraron una amplia variabilidad en algunos de los parámetros evaluados. La selección de pacientes basada en sus características genotípicas podría optimizar estos resultados. Nuestros hallazgos aportan una base biológica que podría explicar la variabilidad de la respuesta terapéutica observada en dichos ensayos, lo que refuerza la importancia de la medicina de precisión en el tratamiento del LES.

Aunque estudios iniciales sugirieron que la asociación de *ICOS* con enfermedades autoinmunes no se debía a variaciones estructurales en la proteína (19), investigaciones posteriores han demostrado que variantes genéticas pueden modular su expresión. Polimorfismos funcionales como rs11889031 y rs10932029 pueden alterar los sitios de unión del ADN y, por ende, los niveles de ARNm y de la proteína *ICOS* (15). Si bien la región promotora influye en la transcripción, la regulación postranscripcional mediada por microARN también es crucial para la respuesta inmunitaria. Estos reguladores, al unirse a la región 3'UTR del ARNm diana, pueden silenciar la expresión génica, un proceso ya documentado en el LES (36).

La selección del SNP rs4404254, ubicado en la región 3'UTR, se fundamenta en su potencial regulador y en su asociación previa con la autoinmunidad. En alopecia areata, se ha demostrado que los SNP rs4404254 y rs4675379 participan en la represión postranscripcional de *ICOS* mediada por *miR-101* y *miR-27b*, los cuales se encuentran sobreexpresados en los pacientes (37). Dada la complejidad genética de estas patologías, debe considerarse que *ICOS* se localiza en una región cromosómica rica en genes de coestimulación, donde otros SNP en genes como *CTLA4* también podrían estar asociados

con el LES (38). El marcado desequilibrio de ligamiento en esta región dificulta la identificación de los polimorfismos causales definitivos. Estudios funcionales con variantes en el intrón 1 y en la región 3'UTR han evidenciado una afectación de la expresión de *CTLA4* y *ICOS* tras la activación *in vitro* de células T (39). Por lo tanto, la investigación de los efectos funcionales de estas variaciones genéticas resulta crucial para identificar genes candidatos de relevancia clínica.

CONCLUSIONES

No existe asociación entre el polimorfismo rs4404254 del gen *ICOS* y la susceptibilidad general al Lupus Eritematoso Sistémico en la muestra de la población mestiza venezolana estudiada, independientemente del modelo de herencia analizado. El modelo de herencia sobredominante presentó el mejor ajuste estadístico (el menor valor de AIC) para explicar la relación entre el SNP rs4404254 y la severidad renal. Bajo este modelo, el genotipo heterocigoto T/C se identifica como un marcador de riesgo para el desarrollo de proteinuria en rango nefrótico.

La presencia del genotipo T/C se asocia con una mayor necesidad de escalamiento terapéutico hacia ciclofosfamida o terapia biológica, lo que sugiere que esta variante genética podría predecir un curso clínico más agresivo de la enfermedad. Estos hallazgos fundamentan la utilidad potencial de la genotipificación del gen *ICOS* como herramienta de medicina de precisión en pacientes venezolanos con LES, lo que permite una estratificación temprana y una personalización del abordaje terapéutico en quienes presentan un alto riesgo de complicaciones renales severas.

Contribución de los autores

Mariana Fuentes: Conceptualización, investigación (recolección de datos clínicos, procesamiento de muestras), análisis formal y redacción (borrador original). Jiomarlyn Guilarte: Investigación (recolección de datos clínicos y seguimiento

de pacientes, procesamiento de muestras). Christian Medina: Investigación (procesamiento de muestras, PCR-RFLP). Félix Toro: Metodología, supervisión, validación, redacción - revisión y edición. Gisselle Gil Z.: Investigación (ensayos de laboratorio y PCR-RFLP), redacción - revisión. Cristina Najm: Curación de datos, investigación (análisis de laboratorio). María del Pilar Fortes: Recursos, investigación. Juan De Sanctis: supervisión, redacción, revisión y edición. Mercedes Zabaleta Lanz: Administración del proyecto, recursos, conceptualización, análisis formal, supervisión, redacción - revisión y edición. Mercedes Fernández-Mestre: Conceptualización, metodología, supervisión, redacción - revisión y edición.

AGRADECIMIENTO

A todo el personal de trabajo del Instituto de Inmunología “Dr. Nicolás Bianco”, por su apoyo técnico durante la realización del proyecto.

Financiación

La siguiente investigación se pudo llevar a cabo gracias al apoyo financiero del FONACIT, ente adscrito al Ministerio de Ciencia y Tecnología de la República Bolivariana de Venezuela (MENCYT), bajo la coordinación y asesoría de la Dra. Mercedes Zabaleta, directora del I.D.I.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

REFERENCIAS

- Kelly JA, Moser KL, Harley JB. The genetics of systemic lupus erythematosus: putting the pieces together. *Genes Immun.* 2002;3(S1):S71–85.
- Harley ITW, Kaufman KM, Langefeld CD, Harley JB, Kelly JA. Genetic susceptibility to SLE: new insights from fine mapping and genome-wide association studies. *Nat Rev Genet.* 2009;10(5):285–90.
- Kuo CF, Grainge MJ, Valdes AM, See LC, Luo SF, Yu KH, et al. Familial Aggregation of Systemic Lupus Erythematosus and Coaggregation of Autoimmune Diseases in Affected Families. *JAMA Intern Med.* 2015;175(9):1518–26.
- Velázquez-Cruz R, Jiménez-Morales S, Ramírez-Bello J, Aguilar-Delfín I, Salas-Martínez G, Ruiz VB. Lupus eritematoso sistémico (LES): genómica de la enfermedad. *Gac Med Mex.* 2012;148(4):371–380.
- Del Pilar Fortes M, Tassinari P, Blanca I, Machado I. Allele and haplotype frequencies at Human leukocyte antigen class I and II genes in Venezuela's population. *Ann Biol Clin.* 2012;70(2):175–181.
- Chen L, Wang YF, Liu L, Bielowska A, Ahmed R, Zhang H, et al. Genome-wide assessment of genetic risk for systemic lupus erythematosus and disease severity. *Hum Mol Genet.* 2020;29(10):1745–56.
- Guga S, Wang Y, Graham DC, Vyse TJ. A review of genetic risk in systemic lupus erythematosus. *Expert Rev Clin Immunol.* 2023;19(10):1247–58.
- Kobata T, Azuma M, Yagita H, Okumura K. Role of costimulatory molecules in autoimmunity. *Rev Immunogenet.* 2000;2(1):74–80.
- Hutloff A, Büchner K, Reiter K, Baelde H, Odendahl M, Jacobi A, et al. Involvement of inducible costimulator in the exaggerated memory B cell and plasma cell generation in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2004;50(10):3211–3220.
- Xiao ZX, Olsen N, Zheng SG. The essential role of costimulatory molecules in systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2019;28(5):575–82.
- Orvain C, Cauvet A, Prudent A, Guignabert C, Thuillet R, Ottaviani M, et al. Acazicolcept (ALPN-101), a dual ICOS/CD28 antagonist, demonstrates efficacy in preclinical mouse models of systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther.* 2022;24:13.
- Higuchi T, Oka S, Furukawa H, Nakamura M, Komori A, Abiru S, et al. Association of a single nucleotide polymorphism upstream of ICOS with Japanese autoimmune hepatitis type 1. *J Hum Genet.* 2017;62(4):481–4.
- Fortes del PM. CTLA-4, ICOS, PD1 and PTPN22 Gene Polymorphisms and Susceptibility to Autoimmune Hepatitis Type 1. *Int J Immunol.* 2017;5(4):66.
- Chen DP, Lin WT, Yu KH. Investigation of the association between the genetic polymorphisms of the co-stimulatory system and systemic lupus erythematosus. *Front Immunol.* 2022;13:946456.
- Houssaini H, Bouallegui E, Abida O, Tahri S, Elloumi N, Hachicha H, et al. ICOS gene polymorphisms in systemic lupus erythematosus:

- A case-control study. *Int J Immunogenet.* 2023;50(4):194–205.
16. Barber MRW, Falasinnu T, Ramsey-Goldman R, Clarke AE. The global epidemiology of SLE: narrowing the knowledge gaps. *Rheumatology (Oxford).* 2023;62(1):i4–9.
 17. Aringer M, Costenbader KH, Daikh D, Brinks R, Mosca M, Ramsey-Goldman R, et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheumatol.* 2019;71(9):1400–1412.
 18. Gladman DD, Ibañez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol.* 2002;29(2):288–91.
 19. Haimila KE, Partanen JA, Holopainen PM. Genetic polymorphism of the human ICOS gene. *Immunogenetics.* 2002;53(12):1028–32.
 20. Solé X, Guinó E, Valls J, Iñesta R, Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics.* 2006;22(15):1928–1929.
 21. Abadí I, González N. Epidemiología del lupus eritematoso sistémico en Venezuela. *Arch Reum.* 1993;8–14.
 22. Duarte-García A, Hocaoglu M, Valenzuela-Almada M, Osei-Onomah SA, Dabit JY, et al. The Rising Incidence and Prevalence of Systemic Lupus Erythematosus. A Population-based Study over Four Decades. *Ann Rheum Dis.* 2022;81(9):1260–1266.
 23. Gergianaki I, Bortoluzzi A, Bertias G. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2018;32(2):188–205.
 24. Sánchez-Zuno GA, Oregón-Romero E, Hernández-Bello J, González-Estévez G, et al. Enfermedades reumáticas y alergias: la dualidad del sistema inmunológico. *Rev Alerg Mex.* 2021;68(4):264–75.
 25. Wang Z, Wang Y, Zhu R, Tian X, Xu D, Wang Q, et al. Long-Term Survival and Death Causes of Systemic Lupus Erythematosus in China: A Systematic Review of Observational Studies. *Medicine (Baltimore).* 2015;94(17):e794.
 26. Fortes M, Tassinari P, Blanca I, Machado I. Association of ICOS (c.1564 T/C) gene polymorphism with autoimmune hepatitis type 1 in Venezuelan mestizo population. *Gen.* 2013;67(4):194–198.
 27. Toro-Domínguez D, Martorell-Marugán J, Martínez-Bueno M, Alarcón-Riquelme ME, Carmona-Sáez P. Scoring personalized molecular portraits identifies systemic lupus erythematosus subtypes and predicts individualized drug responses, symptomatology and disease progression. *Brief Bioinform.* 2022;23(5):bbac332.
 28. Davidson A. What is damaging the kidneys in lupus nephritis? *Nat Rev Rheumatol.* 2016;12(3):143–53.
 29. Odegard JM, DiPlacido LD, Greenwald L, Kashgarian M, Kono DH, Dong C, et al. ICOS Controls Effector Function but Not Trafficking Receptor Expression of Kidney-Infiltrating Effector T Cells in Murine Lupus. *J Immunol.* 2009;182(7):4076–84.
 30. Zeller GC, Hirahashi J, Schwarting A, Sharpe AH, Kelley VR. Inducible Co-Stimulator Null MRL-Fas^{lpr} Mice: Uncoupling of Autoantibodies and T Cell Responses in Lupus. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17(1):122–30.
 31. Tada Y, Koarada S, Tomiyoshi Y, Morito F, Mitamura M, Haruta Y, et al. Role of Inducible Costimulator in the Development of Lupus in MRL/lpr Mice. *Clin Immunol.* 2006;120(2):179–88.
 32. Li WX, Pan HF, Chen GP, Tao JH, Li XP, Long Y. Expression of Inducible Co-Stimulator on Peripheral Blood T Lymphocytes in Patients with Lupus Nephritis. *Rheumatol Int.* 2012;32(7):2051–5.
 33. Teichmann LL, Cullen JL, Kashgarian M, Dong C, Craft J, Shlomchik MJ. Local Triggering of the ICOS Coreceptor by CD11c(+) Myeloid Cells Drives Organ Inflammation in Lupus. *Immunity.* 2015;42(3):552–65.
 34. Iwai H, Abe M, Hirose S, Tsushima F, Tezuka K, Akiba H, et al. Involvement of inducible costimulator-B7 homologous protein costimulatory pathway in murine lupus nephritis. *J Immunol.* 2003;171(6):2848–54.
 35. Cheng LE, Amoura Z, Cheah B, Hiepe F, Sullivan BA, Zhou L, et al. Brief Report: A Randomized, Double-Blind, Parallel-Group, Placebo-Controlled, Multiple-Dose Study to Evaluate AMG 557 in Patients with Systemic Lupus Erythematosus and Active Lupus Arthritis. *Arthritis Rheumatol.* 2018;70(7):1071–1076.
 36. Amarilyo G, La Cava A. miRNA in systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol.* 2012;144(1):26–31.
 37. Conteduca G, Rossi A, Megiorni F, Parodi A, Ferrera F, Tardito S, et al. Single-nucleotide polymorphisms in 3'-untranslated region inducible costimulator gene and the important roles of miRNA in alopecia areata. *Skin Health Dis.* 2021;1(2):e34.
 38. Ihara K, Ahmed S, Nakao F, Fukuyama T, Sato S, Matsuura N, et al. Association studies of

- CTLA-4, CD28, and ICOS gene polymorphisms with type 1 diabetes in the Japanese population. Immunogenetics. 2001;53(6):447-54.
39. Kaartinen T, Lappalainen J, Haimila K, Autero M, Partanen J. Genetic variation in ICOS regulates mRNA levels of ICOS and splicing isoforms of *CTLA4*. Mol Immunol. 2007;44(7):1644-51.