

EDITORIAL**LA VITAMINA D Y SUS EFECTOS “NO CLÁSICOS”****Alfonso L. Calle Pascual (1) y María J Torrejón (2).**

(1) Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Clínico San Carlos. Madrid

(2) Laboratorio de Análisis Clínicos. Hospital Clínico San Carlos. Madrid

La vitamina D es una de las principales hormonas implicadas en el metabolismo óseo y la homeostasis del calcio. La presencia de receptores de la vitamina D en una amplia variedad de células, sugiere que también juega un papel muy importante en diferentes procesos fisiológicos y de diferenciación y proliferación celular¹.

La vitamina D activa ejerce sus efectos a través de la unión a su receptor, que se encuentra no solo en los tejidos que definen sus acciones llamadas “clásicas”, que incluyen el hueso, el aparato digestivo y el riñón, sino que está ampliamente distribuido en el resto de tejidos de la economía. Además muchos tejidos disponen del enzima CYP27B1 que es capaz de producir 1-25(OH)₂D desde sus precursores circulantes, y son potencialmente tejidos diana que modulan las denominadas acciones “no clásicas”. Estos aspectos han recibido atención en los últimos años¹⁻². El receptor de la vitamina D forma parte de una superfamilia de receptores nucleares que actúan como un heterodímero que interacciona con secuen-

cias específicas del ADN (promotor de genes diana) e inducen represión o activación de la transcripción. El control de la transcripción requiere correguladores que difieren en cada tejido y suministran la especificidad de la respuesta a la vitamina D₃.

Las acciones “no clásicas” de la vitamina D las podemos agrupar en 3 tipos diferentes con intención de simplificarlas, aunque pueda ser artificial:

-regulación de la secreción hormonal

-regulación de la respuesta inmune y

-regulación de la proliferación y diferenciación celular.

La vitamina D puede ejercer acciones diferentes en un mismo tejido .

Su capacidad para regular la secreción hormonal no solo se refiere a la inhibición de la síntesis y secreción de parathormona (PTH), también a otras hormonas entre las que se incluyen la insulina, estimulando su secreción y también disminuyendo la apoptosis de la célula beta mediada por citoquinas. Estos aspectos han hecho que su déficit se pueda asociar a la aparición de síndrome metabólico, diabetes tipo 2, diabetes gesta-

Correspondencia

Alfonso Calle Pascual
Hospital Clínico San Carlos
Madrid
acalle.hcsc@salud.madrid.org

cional. También determinados polimorfismos del gen del receptor de la vitamina D se ha asociado a la diabetes tipo 1⁴⁻⁸.

Su capacidad para modular la respuesta inmune se conoce desde hace casi 30 años, cuando se describió la presencia de su receptor en las células inflamatorias⁹ y su capacidad para inhibir la proliferación de las células T¹⁰. La capacidad de los macrófagos activados para generar vitamina D se describió de forma simultánea¹¹. Por lo tanto, puede jugar un papel importante en la inmunidad innata y adquirida. Así, un déficit de vitamina D se ha asociado a varias enfermedades infecciosas, como la tuberculosis, pero también a enfermedades autoinmunes, como la diabetes tipo 1, la enfermedad de Crohn y la esclerosis múltiple. El origen de esta asociación radica en la capacidad de la vitamina D para inhibir la proliferación de inmunoglobulinas, retardar la diferenciación de los precursores de las células beta e inhibir la proliferación de células T-helper (Th-1) capaces de producir citocinas y activar a los macrófagos. Esta asociación ha demostrado ser causal en la diabetes tipo 1 después del estudio de cohortes finlandés, en el que se suministraron 20.000 UI de vitamina D a niños en riesgo para desarrollar diabetes tipo 1 en el primer año de vida y se redujo un 80% su incidencia¹². Más interés ha generado el papel de la vitamina D en diferentes enfermedades en las que subyace una situación inflamatoria crónica, como la obesidad y las enfermedades cardiovasculares. Recientemente ha sido revisada la literatura y se han publicado varios meta-análisis, demostrándose una asociación inversa entre los niveles de vitamina D y la enfermedad cardiovascular¹³⁻¹⁴. Sin embargo, la conclusión de estos estudios es que la evidencia es baja para establecer una relación causal y generar una recomendación aplicable a la población.

Por último su capacidad para regular la proliferación y diferenciación celular también es conocido desde hace más de 30

años¹⁵ y sus posibles acciones anticancerígenas han recibido atención recientemente¹⁶. La base de sus hipotéticos efectos anticancerígenos se basa en su acción antiproliferativa en muchos tipos celulares y la lista de tejidos tumorales que expresan el receptor de la vitamina D se ha ampliado sustancialmente en los últimos años.

En resumen, aunque existen bases para considerar relevante los efectos denominados “no clásicos” de la vitamina D en diferentes enfermedades, no hay evidencias concluyentes en la literatura para establecer una relación causal, por lo que recientemente se han acordado unas recomendaciones para realizar una evaluación de los niveles de vitamina D en determinadas situaciones de riesgo de déficit y para tratar con el objetivo de alcanzar sus beneficios “clásicos”¹⁷ y los “no clásicos”¹⁸.

La mayor parte de las discrepancias existentes en la literatura y los resultados no conclusivos se pueden deber inicialmente a la forma de evaluar los niveles de vitamina D. Por lo tanto, inicialmente hay que considerar algunos aspectos cruciales sobre la forma de su determinación y la interpretación de los resultados. Está totalmente establecido que la deficiencia de vitamina D causa raquitismo, osteomalacia, osteoporosis, y recientemente ha sido relacionada con múltiples enfermedades como diabetes, hipertensión, enfermedad cardiovascular, enfermedades autoinmunes y cáncer. Todo ello ha producido un aumento en el interés para su determinación D a nivel mundial.

La principal fuente de vitamina D proviene de la exposición de la piel a la luz solar y sólo una pequeña parte proviene de la ingesta. Existen 2 formas de vitamina D, la vitamina D3, o colecalciferol, y la vitamina D2, o ergocalciferol. La relación entre ambas formas varía dependiendo de la suplementación o enriquecimiento de los alimentos. Así por ejemplo, en España y Europa, donde los suplementos son de colecalciferol, los nive-

les de vitamina D2 son muy bajos, mientras que en Estados Unidos los suplementos son fundamentalmente de ergocalciferol. Es importante por tanto, que los métodos utilizados para la medida de vitamina D sean capaces de detectar ambas formas.

El indicador más importante del estado nutricional de la vitamina D es la medida en suero o plasma de la 25-OH Vitamina D [25 (OH) D] producida en el hígado por hidroxilación a nivel del carbono 25, precursor de la forma activa 1-25 Dihidroxitamina D y con una vida media de 3 semanas. Se encuentra también en 2 formas 25 (OH)D2 y 25 (OH)D3. Recientemente ha sido descrita una tercera forma: 3-epi-25-hidroxitamina D3 (3-epi-25-OHD3), presente en alta concentración en el suero de neonatos y cuya actividad biológica no ha sido aclarada, pero que puede ser causa de interferencias en la medida de Vitamina D.

La medida de 25 (OH) D presenta dificultades dada la naturaleza hidrofóbica de la molécula, su unión de alta afinidad con la proteína transportadora (DBP), la baja concentración (nanomolar) presente en la muestra y por existir en 2 formas estructuralmente muy similares. Esto, unido a la detección no equimolar de vitaminas D2 y D3, a las interferencias producidas por otros metabolitos hidroxilados y a la ausencia de un método de referencia definido, causa una alta variabilidad entre los resultados obtenidos por diferentes metodologías, ensayos y laboratorios¹⁹.

Existen 2 grandes grupos de metodologías para la medida de 25 (OH) D:

1. Ensayos competitivos (inmunoensayos y ensayos de unión a proteínas)
2. Ensayos basados en separación cromatográfica y detección directa (HPLC, LC-MS/MS) que presentan una alta sensibilidad y permiten cuantificar por separado 25 (OH)3 y 25 (OH)2.

La cromatografía líquida asociada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) es considerada la mejor opción como método de referencia para la medida de 25 OH D, pero requiere una instrumentación costosa, personal especializado, no es automatizable y es lento, lo que hace difícil su implementación en la rutina de los laboratorios clínicos.

Dentro de los ensayos competitivos, el RIA ha sido anteriormente el más utilizado, pero necesita disponer de instalaciones radioactivas.

En los últimos años se ha producido una demanda exponencial de estos análisis, lo que unido a la aparición en el mercado de diferentes inmunoensayos automatizados (Abbott, Liason, IDS- iSYS, Roche, Siemens...) que utilizan anticuerpos o proteínas de unión como ligandos, y quimioluminiscencia (CMIA) o electroquimioluminiscencia (ECLIA) como marcador de señal, y que pueden ser integrados en plataformas analíticas, ha hecho que la mayoría de los laboratorios clínicos utilicen estos métodos, que ofrecen el mejor rendimiento. Según el informe DEQAS (D External Quality Assessment Scheme) de Julio de 2012 el 72 % de los laboratorios participantes utilizaban alguno de estos inmunoensayos.

En la medida de 25 OH D cuando comparamos diferentes ensayos, existen los siguientes problemas: falta de estandarización frente a material de referencia, falta de trazabilidad de los estándares empleados por los diferentes fabricantes, diferente especificidad de los anticuerpos empleados y diferente afinidad por D3 y D2. Todo ello hace que exista variabilidad en los resultados encontrados²⁰⁻²². Según G. Carter los errores de calibración de los ensayos son un problema que podría solucionarse si todos los ensayos usaran el mismo calibrador²³.

En 2008 el National Institute of Standards and Technology (NIST) desarrolló un mate-

rial de referencia (SRM 972) que contiene 25 (OH) D₂, 25 (OH) D₃ y el metabolito 3-epi-25(OH) D₃ con valor asignado por LC-MS/MS que puede ayudar a mejorar la exactitud de los métodos²⁴. En 2010 el National Center for Environmental Health (NCEH) propuso el uso del SRM 2972 como material de referencia para la comparación y el ajuste de los calibradores de las casas comerciales, lo cual mejora tanto la variabilidad en los resultados obtenidos entre diferentes inmunoensayos como entre éstos y el método de referencia (LC-MS/MS).

Desde el punto de vista analítico las especificaciones de calidad que debe tener el método utilizado son una imprecisión menor del 10%, una desviación frente al valor asignado inferior al 15%, una sensibilidad funcional por debajo de los 20 nmol/L (8 ng/mL) para tener una buena precisión en los valores más bajos y su calibración debería estar referenciada al SRM 972.

En general, la mayoría de los inmunoensayos infravaloran las concentraciones de Vitamina D respecto a LC/MS-MS. En el Informe DEQAS correspondiente a Enero 2011-Abril 2012, se observa una desviación frente a la media asignada inferior al 10% entre los métodos más utilizados.

Diferentes estudios²⁵⁻²⁷ muestran que la prevalencia de insuficiencia de Vitamina D es diferente según el método utilizado, lo que implicaría que algunos sujetos podrían ser tratados innecesariamente. Para evitarlo se ha sugerido el uso de rangos de referencia y puntos de corte ensayo-específico, así como la urgente estandarización de todos los ensayos frente al material de referencia. De hecho la adopción de un punto de corte es problemática mientras exista incertidumbre en la medida.

En el año 2010 el Institute of Medicine²⁸ estableció como Deficiencia valores de 25(OH) D < 30nmol/L (12 ng/mL) y como inadecuados valores entre 30-72,5 nmol/L (12-29 ng/mL).

En el año 2011, la Sociedad Americana de Endocrinología en su Guía de práctica Clínica¹⁷ definió como deficiencia valores de 25 OH D < 50 nmol/L (20 ng/mL) y como insuficiencia valores de 52,5-72,5 nmol/L (21-29 ng/mL).

En la actualidad no existe un consenso para definir el estatus de Vitamina D, aunque se considera que los niveles deseables estarían en torno a los 75 nmol/L (30 ng/ml), dado que es a partir de esta cifra cuando la administración exógena de vitamina D no consigue aumentar los niveles de 1,25(OH) 2D ni reducir la concentración de PTH²⁸.

Para identificar población de riesgo de deficiencia / insuficiencia podríamos utilizar los siguientes valores de 25(OH) Vitamina D (28,29):

- Menor de 25 nmol/L (10 ng/ml): deficiencia, con riesgo de raquitismo en los niños y osteomalacia en los adultos.

- Entre 27,5-72,5 nmol/L (11-29 ng/ml): insuficiencia, que significa sustrato insuficiente para la síntesis de 1,25(OH) 2D y que puede ser evaluada también por el aumento de los niveles de PTH.

- Mayor de 75 nmol/L (30 ng/ml): Suficiencia/Niveles Óptimos/Deseables.

En resumen, las diferencias entre los resultados obtenidos por diversas metodologías puede causar discrepancias en la valoración de cada sujeto y en la decisión terapéutica, haciendo difícil la realización de estudios epidemiológicos. Por todo ello se hace urgente la trazabilidad de todos los ensayos frente al material de referencia propuesto para conseguir una menor variabilidad en los resultados. Mientras esto llega quizás sería recomendable medir conjuntamente la PTH para confirmar niveles subóptimos de vitamina D (insuficientes), así como para valorar la respuesta y adhesión al tratamiento.

La situación en España

Existen escasos datos en España, utilizando la metodología recomendada. En un estudio reciente realizado en Málaga y Asturias se evalúa a más de 1.200 personas, determinando los niveles de 25 OH vitamina D y PTHi simultáneamente para determinar los niveles óptimos de vitamina D que no inducen incremento en los niveles de PTH³⁰. Según sus datos, unos niveles menores de 30 ng/mL se asocian a un incremento progresivo en los valores de PTHi que desaparece a partir de unos niveles >35 ng/ml. Los autores consideran que el nivel de 30 ng/mL puede utilizarse para excluir a las personas en riesgo de presentar un déficit de vitamina D. Independientemente de encontrar niveles superiores en verano, las personas de edad avanzada presentan un riesgo mayor para presentar elevación de PTHi, estimándose que 1 de cada 3 personas son susceptibles de presentar déficit de vitamina D. Después de realizar una regresión logística, los autores sugieren que se deben alcanzar unos valores de vitamina D >30 ng/mL para que se asocie a valores de PTHi < 60 pg/mL, que es la mejor forma de asegurar que no existe un hiperparatiroidismo compensador. Sin embargo, el 50% de las personas presentaban niveles inferiores a 22 ng/mL de 25 OH vitamina D, lo que nos habla de la magnitud de la deficiencia de vitamina D en nuestro entorno. Resultados similares se obtuvieron en un estudio realizado por nuestro grupo en mujeres embarazadas⁸. A pesar de haberse realizado durante el verano, coincidiendo con la máxima exposición solar, el 59% de las mujeres presentaron valores de 25 OH vitamina D < 20 ng/mL, que se asoció a unos valores mayores de glucemia en ayunas y tras la sobrecarga oral de glucosa junto con un incremento en la resistencia a la insulina. El déficit de vitamina D se asoció también a una menor duración de la gestación, mayor frecuencia de cesáreas y recién nacidos con menor pH. Sin embargo, utilizando las curvas ROC, el máximo rendi-

miento se obtiene con niveles de 14 y 16 ng/mL que se asociaron a mayor riesgo de cesárea y de recién nacido pretérmino respectivamente.

Ambos estudios concluyen que la deficiencia de vitamina D en España es más frecuente de lo que sería esperable en función de la exposición solar de nuestro país. La mediana del tiempo estimado en actividades al aire libre era superior a las 3 horas diarias en las personas que presentaban unos niveles >20 ng/mL en comparación con las 2 horas entre las que los tenían inferiores. Llama la atención el escaso tiempo en el que la población española está sometida a la exposición solar. Las recomendaciones de los dermatólogos y autoridades sanitarias para prevenir el cáncer de piel, evitando la exposición solar en las horas centrales del día y el uso de cremas de alta protección solar, probablemente, están siendo seguidas de una forma estricta. La piel morena de la población española también puede jugar un papel para justificar que más de la mitad de la población puede estar en riesgo de ser deficitaria en vitamina D. Probablemente, recomendar mantener al menos 3 horas diarias de exposición solar no directa, evitando las horas centrales del día, y con ropa usual puede ser suficiente para alcanzar unos valores adecuados de vitamina D sin incrementar el riesgo de cáncer de piel.

¿Cuáles son las recomendaciones que se pueden aplicar?

Mientras se desarrollan estudios para estimar el tiempo óptimo de exposición solar para evitar la deficiencia de vitamina D, y se demuestran los beneficios "no clásicos" de tener unos niveles óptimos de vitamina D, existen evidencias contrastadas de que diferentes enfermedades y situaciones deben ser consideradas de riesgo para presentar deficiencia de vitamina D, y se recomienda realizar una evaluación de los niveles de vitamina D (25 OH vitamina D).

Estas situaciones fundamentales incluyen:

- Osteoporosis
- Enfermedad hepática y renal crónica.
- Enfermedades que cursan con malabsorción, como la fibrosis quística, la enfermedad inflamatoria intestinal, la cirugía bariátrica y el tratamiento con radioterapia.
- Hiperparatiroidismo.
- Sarcoidosis, tuberculosis, histoplasmosis y otras enfermedades granulomatosas.
- Linfomas.

Otros factores de riesgo para tener deficiencia de vitamina D incluyen:

- Piel morena ó negra
- Embarazo y lactancia
- Determinados tratamientos farmacológicos, como anticomociales, glucocorticoides, antifúngicos y retrovirales
- Personas de edad avanzada
- Obesidad

La recomendación de ingesta diaria mínima de vitamina D para evitar su deficiencia en la población general se encuentra en 600 UI de vitamina D diarias en personas menores de 70 años y 800 UI en mayores de esa edad. Esta ingesta se debe de incrementar al menos un 50 % en personas susceptibles y un 150% durante la gestación y la lactancia.

BIBLIOGRAFÍA

1.Rosen, Clifford J. «Clinical practice. Vitamin D insufficiency». *N Engl J Med.* 2011;364: 248–254.

2.Bikle D. Nonclassic actions of vitamin D *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94:26-34

3.Sutton AL, MacDonald PN. Vitamin D: more than a bone-a-fide hormone. *Mol Endocrinol.* 2003;17:777-791

4.Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:2017-2029.

5.Mathieu C, Gysemans C, Giuletti A, Bouillon R. Vitamin D and diabetes. *Diabetologia.* 2005;48:1247-1257

6.Liu S, Song Y, Ford ES, Manson JE, Buring JE, Ridker PM. Dietary calcium, vitamin D, and the prevalence of metabolic syndrome in middle-aged and older U.S. women. *Diabetes Care.* 2005;28:2926-2932.

7.Knekt P, Laaksonen M, Mattila C, et al. Serum vitamin D and subsequent occurrence of type 2 diabetes. *Epidemiology.* 2008;19:666-671

8. Perez-Ferre N, Torrejon MJ, Fuentes M, Fernandez MD, Ramos A, Bordiu E, del Valle L, Rubio MA, Bedia AR, Montañez C, Calle-Pascual AL. Association of low serum 25-Hydroxyvitamin D levels in pregnancy with glucose homeostasis and obstetric and newborn outcomes. *Endocr Pract.* 2012 (in press) (doi:10.4158/EP12025.OR)

9. Provvedini DM, Tsoukas CD, Deftos LJ, Manolagas SC 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors in human leukocytes. *Science.* 1983;221:1181-1183.

10.Rigby WF, Stacy T, Fanger MW. Inhibition of T lymphocyte mitogenesis by 1,25 dihydroxyvitamin D (calcitriol) *J Clin Invest.* 1984;74:1451-1455.

11.Adams JS, Sharma OP, Gacad MA, Singer FR Metabolism of 25-hydroxyvitamin D3 by cultured pulmonary alveolar macrophages in sarcoidosis. *J Clin Invest.* 1983;72:1856-1860.

12. Hyponen 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;358:1500-1503.

13 .Elamin MB, Elnour NOA, Elamin KB et al. Vitamin D and cardiovascular outcomes: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:1931-1942.

14. Chowdhury R, Stevens S, Ward H, Chowdhury S, Sajjad A, Franco OH. Circulating vitamin D, calcium and risk of cerebrovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Epidemiol.* 2012;27:581-591.

15. Eisman JA, Martin TJ, MacIntyre I, Moseley JM. 1,25-dihydroxyvitamin-D-receptor in breast cancer cells. *Lancet*. 1979;2:1335-1336.
16. Ingraham BA, Bragdon B, Nohe A. Molecular basis of the potential of vitamin D to prevent cancer. *Current Med Res Opin*. 2008;24:139-149.
17. Dawson-Hughes B, Mithal A, Bonjour JP, Boonen S, Burckhardt P, Fuleihan GE et al. IOF position statement: vitamin D recommendations for older adults. *Osteoporos Int*. 2010; 21:1151-4.
18. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:1911-30.
19. Roth HJ, Schmidt-Gayk H, Weber H, Niederau C. Accuracy and clinical implications of seven 25-hydroxyvitamin D methods compared with liquid chromatography-tandem mass spectrometry as a reference. *Ann Clin Biochem*. 2008;45:153-9.
20. Janssen M, Wielders J, Bekker C, Boesten L, Buijs M, Heijboer A, et al. Multicenter comparison study of current methods to measure 25-hydroxyvitamin D in serum. *Steroids*. 2012. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.steroids.2012.07.013>
21. Ong L, Saw S, Sahabdeen N, Teng Tey K, Shun Ho Ch, Kumar Sethi S. Current 25-hydroxyvitamin D assays: Do they pass the test?. *Clin Chim Acta*. 2012;413:1127-34
22. Wagner D, Hanwell H, Vieth R. An evaluation of automated methods for measurement of serum 25-hydroxyvitamin D. *Clin Biochem*. 2009;42:1549-56
23. Carter Graham. 25-Hydroxyvitamin D Assays; The Quest for Accuracy. *Clin Chem*. 2009;55: 1300-1302.
24. Phinney Karen W. Development of a standard reference material for vitamin D in serum. *Am J Clin Nutr*. 2008; 88 (suppl): 511S-512S.
25. Granada-Lorencio F, Salazar J, Herrero-barbudo C, Donoso E, Blanco-Navarro I, Pérez- Sacristán B. 25-OH-Vitamin D assay variation and subject management in clinical practice. *Clin Biochem*. 2010; 43:531-33
26. Hee-Won Moon, Jin-Hee Cho, Mina Hur, Junghan Song, Gwi Young Oh, Chul Min Park, Yeo-Min Yun, Jin Q Kim. Comparison of four current 25-hydroxyvitamin D assays. *Clin Biochem*. 2012; 45: 326-330.
27. Tahsin-Swafiri S, Blanco-Navarro I, Pérez-Sacristán B; Millán I, Granada-Lorencio F. The prevalence of vitamin deficiency in clinical practice is assay-dependent. *Clin Nutr*. 2012. *Clin Nutr*. 2012. Jun 6. [Epub ahead of print]. doi:10.1016/j.clnu.2012.04.009
28. Institute of Medicine. Dietary reference intakes for calcium and Vitamin D. Washington, DC: National Academies Press;2010
29. Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, et al. Estimates of optimal Vitamine D status. *Osteoporosis Int*; 16: 713-716, 2005.
30. Gonzalez-Molero I, Morcillo S, Valdes S, Pérez-Valero V et al. Vitamin D deficiency in Spain: a population-based cohort study. *Eur J Clin Nutr*. 2011;65:321-328.