



# **VITAMINA D Y SU CRECIENTE INTERÉS EN EL LABORATORIO CLÍNICO**

**[Con la colaboración de Reference Laboratory]**

## **INTRODUCCIÓN**

Vitamina D es el nombre conjunto que reciben históricamente un grupo de secosteroides, con estructura similar a la del colesterol, que realizan una misma actividad biológica relacionada históricamente con el metabolismo óseo.

De esta forma, tenemos que bajo el término Vitamina D se agrupan los siguientes compuestos: Vitamina D<sub>2</sub>, Vitamina D<sub>3</sub>, 25-OH vitamina D (calcidiol) y 1,25 (OH)<sub>2</sub> vitamina D (calcitriol), siendo estos dos últimos metabolitos activos de los dos primeros.

La Vitamina D, por sus efectos fisiológicos, es a menudo considerada más una hormona que una vitamina. Una de sus funciones primordiales es la regulación del metabolismo óseo por su efecto sobre la regulación del mecanismo fosfocálcico. No obstante, recientemente se ha visto que la vitamina D tiene un creciente interés por sus actividades endocrina y autocrina: la presencia de receptores de vitamina D en numerosos órganos como el cerebro, músculo, páncreas y células del sistema inmunitario así lo certifican.

Si además se tiene en cuenta el aumento de la prevalencia mundial del déficit de vitamina D y su efecto potencialmente beneficioso sobre la salud, se entenderá perfectamente porqué está “de moda”.

## **METABOLISMO**

Curiosamente la dieta no nos aporta la vitamina activa, sino que de los alimentos obtenemos solo los precursores inertes: el dehidrocolesterol, a partir de la carne, y el ergosterol, a partir de leche, pescado y vegetales. Estos precursores son absorbidos en el intestino y circulan de forma inactiva hacia la piel donde se almacenan. Con la exposición a los rayos UV de la luz solar se produce una rotura en el anillo de la molécula: el dehidrocolesterol se convierte en vitamina D<sub>3</sub> (colecalfiferol) y el ergosterol en vitamina D<sub>2</sub> (ergocalciferol).

Las vitaminas D2 y D3 circulan por el plasma ligadas a una proteína de fijación y son llevadas al hígado donde serán hidroxiladas en posición 25 dando lugar a la 25-hidroxivitamina D. Esta forma constituye el depósito más importante de vitamina D. Una segunda hidroxilación de la forma 25-hidroxi en los riñones dará lugar a la 1.25-dihidroxivitamina D, que es la forma realmente activa en la absorción intestinal del calcio.

Hay que hacer notar que la vitamina D2 y D3 no contribuyen por igual a la actividad biológica en nuestro organismo. La vitamina D3 aporta el 80 – 90 % de la Vitamina D usada, siendo por tanto escasa la contribución de la D2.

## Mantenimiento de la homeostasis mineral

La vitamina D regula la homeostasis del calcio y del fósforo mediante básicamente cuatro mecanismos:

1. Aumenta la reabsorción intestinal de calcio y fósforo, lo que logra con la síntesis de unas proteínas específicas llamadas calbindinas.
2. Moviliza el calcio y el fósforo en el tejido óseo produciéndose una activación de la resorción ósea. Esto es debido a que actúa sobre los receptores de vitamina D de los osteoclastos, responsables de la eliminación de calcio y fósforo de los huesos, manteniendo concentraciones adecuadas de calcio y fósforo séricos.
3. Aumenta la reabsorción ósea de calcio y fosfato del filtrado glomerular
4. Inhibe la síntesis de parathormona con lo que contrarresta el desarrollo de hiperparatiroidismo

Por supuesto también otras hormonas como la PTH y la osteocalcina están directamente implicadas en el metabolismo fosfocálcico.

En general una deficiencia de vitamina D deteriora el metabolismo del calcio y del fósforo, causando raquitismo en niños y osteomalacia en adultos.

## Déficit de vitamina D

Cuando hablamos del estado nutricional y el déficit de vitamina D, nos referimos a la 25 (OH) vitamina D.

No existe consenso ni sobre los valores de referencia poblacionales de la vitamina D, ni sobre cuando debe entenderse que existe una deficiencia o un “estado normal” de vitamina D.

- Como **insuficiencia de vitamina D** se acepta en la mayoría de las publicaciones cifras entre 15-20 ng/mL (37,5-50 nmol/L). Algunos autores hablan de **insuficiencia relativa** entre 21-29 ng/mL (52-72 nmol/L).
- Como **déficit de vitamina D** se aceptan valores entre 5-15 ng/mL (12,5-37,5 nmol/L). Se asocian a **raquitismo u osteomalacia**.

- Valores por debajo de 5 ng/mL se consideran **déficit severo**. Es un **trastorno de la mineralización**.
- El **rango recomendable** es de 30-60 ng/mL (75-150 nmol/L).

En base a estas premisas se puede estimar que mil millones de personas en el mundo presentan al menos insuficiencia de vitamina D. Más del 40 % de la población geriátrica de Europa y Estados Unidos de América estarían con niveles subóptimos de vitamina D.

No sólo el colectivo mayor de 70 años está afectado, también se ha comprobado que más del 50 % de las mujeres postmenopáusicas tienen niveles inferiores a 30 ng/mL (75 nmol/L), y que niños y jóvenes también constituyen grupos de riesgo potencial de insuficiencia de vitamina D. El 34 % de la población española está en riesgo de padecer déficit de Vitamina D.

En la **tabla 1**, se puede ver el contenido de vitamina D de ciertos alimentos.

ALIMENTO	CANTIDAD	UI	Vit D
Aceite hígado bacalao	10 ml	2300	(medicinal)
Salmón	100 g	625	
Sardinas	100 g	300	
Atún	100 g	270	
Caballa	100 g	225	
Camarones, langostinos	100 g	150	
Arenque	100 g	120	
Setas	100 g	100	
Leche	200 cc	90	
Queso tipo suizo	100 g	50	
Queso tipo parmesano	100 g	30	
Huevo (yema)	unidad	25	

Equivalencia:

1 (mcg - microgramo) de vitamina D = 40 UI (unidades Internacionales)  
 1UI vitamina D = 0,025 ( mcg) de vitamina D (colecalciferol )

**Tabla 1.** Fuentes dietéticas de vitamina D

Existen medicamentos que incrementan el metabolismo de la 25 (OH) D, disminuyendo las concentraciones séricas de ésta, como ocurre con la fenitoína, fenobarbital, carbamacepina y rifampicina. Fármacos que disminuyen su absorción intestinal son la colestiamina y el colestipol. El antifúngico ketoconazol inhibe la 1-OH-asa, por lo que se reduce la concentración sérica de 1,25 (OH)2 D.

Como hemos visto anteriormente es necesaria la acción de los rayos UV (solares o artificiales) sobre la piel. La exposición de brazos y piernas (6 % de superficie corporal) durante 5 a 30 minutos (dependiendo de la hora del día, estación, latitud y pigmentación de la piel), entre las horas de 10 a.m. y 3 p.m., dos veces por semana se

considera adecuado para disponer de niveles óptimos de vitamina D (se producirían entre 600 y 1.000 UI de vitamina D).

En países como Arabia Saudí, India, Australia o Líbano, donde la latitud garantiza prácticamente durante todo el año radiaciones ultravioletas aceptables, también se han notificado déficit de vitamina D relacionado con el uso de ropas que cubren todo el cuerpo (motivos culturales/religiosos) o con el uso de cremas solares (un factor de protección 8 disminuye un 95 % la síntesis de vitamina D en piel).

**El raquitismo**, es la enfermedad infantil asociada a déficit de vitamina D. Se trata de una mineralización defectuosa del hueso y del cartílago del crecimiento.

Clínicamente se asocia a talla baja, anomalías esqueléticas (osteopenia, abombamiento frontal, defectos del esmalte dental, etc...).

Como datos más relevantes del laboratorio destacan:

- Niveles de 25 (OH) vitamina D muy bajos (< 10 ng/mL)
- **Niveles de 1,25 (OH)<sup>2</sup> elevados** (> 75-100 pg mL) (v.ref. 15-56 pg/mL)
- Calcemia y fosforemia normales o bajas
- Elevada PTH
- Aumento fosfatasas alcalinas
- En orina: hipocalciuria y aumento de hidroxiprolina

Las poblaciones pediátricas de mayor riesgo carencial de vitamina D son:

- Prematuros
- Recién nacidos y lactantes (meses invernales, lactancia materna prolongada ó alimentación no suplementada en vitamina D)
- Niños y adolescentes (insuficiente insolación)
- Dietas vegetarianas restrictivas
- Recién nacidos de madres con déficit de vitamina D

El tratamiento es la suplementación con Vitamina D. En España la mayoría de preparados son de D3, a diferencia de Estados Unidos donde suelen ser de D2.

La monitorización del tratamiento se efectúa con niveles de:

- 25(OH) Vitamina D
- Calcemia
- Calciuria

En lo referente a la **osteomalacia**, sería la expresividad clínica del déficit de Vitamina D en adultos. En ocasiones es asintomática hasta que se hace evidente. Destacan la pérdida acelerada de masa ósea, especialmente en el anciano, fatiga muscular con incremento del riesgo de caída y de fractura ósea. El déficit severo cursa con dolor óseo e hipocalcemia.

## Métodos de determinación de vitamina D

### a) 25 (OH) Vitamina D

Como ya se ha comentado, es el metabolito que circula en mayor cantidad por la sangre siendo su vida media es de 3-4 semanas. Por todo ello es la mejor medida de “status de vitamina D” en una persona. Veamos como se determina:

- Tradicionalmente se han empleado métodos de radioinmunoensayo (RIA), que han sido sustituidos progresivamente por los inmunoanálisis automatizados. En general no vamos a poder diferenciar entre D2 y D3, aunque existen algunos métodos de este tipo que sólo miden D3.
- La metodología de referencia es la cromatografía líquida asociada a tandem masas (LC-MS/MS). Nos permite cuantificar por separado D2 y D3 con alta sensibilidad. Dentro de ésta hay variantes básicamente en la parte cromatográfica pues se busca, además de separar ambas y tener alta sensibilidad, el efectuar el mayor número de muestras en unidad de tiempo. Así por ej el UPLC-MS/MS (ultra performance liquid chromatography asociada a tandem masas) permite aumentar la carga analítica de manera ostensible.  
Son destacables las diferencias significativas si se emplean unos u otros métodos, de ahí la necesidad de emplear patrones de referencia como el de la NIST ( National Institutes of Standards and Technology ) utilizando LC-MS/MS como metodología de referencia.

### b) 1,25 (OH)<sub>2</sub> vitamina D.

La segunda hidroxilación se efectúa en el riñón a partir de la 25 (OH) vitamina D. Su concentración en sangre es mucho menor (valores de referencia entre 16-56 pg/mL) y su vida media de 4-6 horas. Ello hace que su determinación sea más compleja que la de 25 (OH) Vitamina D.

Su interés está basado en ciertos trastornos concretos, ya sean del enzima responsable de la hidroxilación renal, extrarrenal ó relacionados con defectos en el receptor de la vitamina D ,que dan lugar a determinados tipos de raquitismo y otras patologías.

Clásicamente, y en la actualidad, se mide por RIA con extracción previa. También hay algun ELISA y van creciendo en interés los métodos de detección directa (LC/MS-MS)

### c) Otros:

El C-3 Epímero de la vitamina D se puede separar por cromatografía, variando las condiciones de trabajo. En la actualidad, se utiliza en investigación.

## Otras aplicaciones y creciente interés de la 25 OH vitamina D

El receptor de la vitamina D, además de en hueso, se ha encontrado en localizaciones tan diversas como: timo, páncreas, testículos, músculo cardíaco, piel, intestinos, riñones y glándula mamaria. También aparece en células relacionadas con el sistema inmunitario.

### a) Cáncer

Se postuló en los años 80 que la población que vivía en latitudes más altas tenían mayor incidencia de cáncer de próstata, mama y colon. Después de numerosos estudios epidemiológicos, parece clara la hipótesis y su relación con el menor contacto solar y su ángulo de incidencia en dichas zonas.

Se ha visto que valores de Vitamina D  $> 30$  ng/mL, se relacionan con una disminución del 50 % del riesgo a sufrir cáncer respecto a población con valores del orden de 10 ng/mL. Es por tanto clara, la relación inversamente proporcional entre niveles de Vitamina D y cáncer.

### b) Enfermedades autoinmunes y otras

Se relaciona inversamente con la aparición de enfermedades autoinmunes: La vitamina D reduce la secreción de linfocitos Helper Th1 y favorece la diferenciación de los linfocitos T helper a Th2; con ello, disminuye la secreción de citoquinas y disminuye por tanto el efecto pro-inflamatorio de éstas.

Varios estudios experimentales y otros efectuados en modelos animales, demuestran el efecto inversamente proporcional entre niveles de vitamina D y aparición de enfermedades tales como: Esclerosis múltiple, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria crónica intestinal y diabetes tipo I.

### c) Enfermedades cardiovasculares e hipertensión

Numerosos estudios demuestran que concentraciones bajas de vitamina D se asocian a un aumento del riesgo de enfermedades cardiovasculares, hipertensión y síndrome metabólico. Los efectos de la vitamina D en el sistema renina-angiotensina-aldosterona, tienen especial interés ya que se ha demostrado su capacidad para disminuir la tensión arterial.

### d) Embarazo y lactancia

El déficit de vitamina D es bastante común en embarazadas sanas. Hay evidencias de relación directa entre déficit de vitamina D durante el embarazo y bajo peso del recién nacido. Asimismo se relaciona con menor masa ósea en el niño, lo que implica directamente a la vitamina D en el desarrollo y maduración fetal.

En los bebés alimentados exclusivamente con leche materna, sobretodo a partir del 6º mes de edad, el contenido de ésta no satisface las necesidades diarias del niño.

## **Prevención y tratamiento del déficit de vitamina D**

Su demanda en laboratorio clínico ha aumentado muchísimo, hasta el punto de plantearse si efectuarla dentro de las analíticas rutinarias.

En muchos países se recomienda tomarla como suplemento dietético en especial en época invernal. Dosis de 2000-4000 UI durante este periodo son las más habituales. (Ej: en diversas comunidades españolas, se recomienda dar suplemento de vitamina D en invierno a los niños que sólo dependen de la lactancia materna).

Los efectos perjudiciales de su suplementación, siempre hasta ciertos niveles, son prácticamente insignificantes. De hecho, el principal efecto secundario es la hipercalcemia y la suplementación con 4000 UI diarias no ha mostrado hipercalcemia en varios estudios.

Actualmente las recomendaciones son la toma de suplementos diariamente de 400-1000 UI de colecalciferol (Vitamina D3) para llegar a unos niveles de 30-40 ng/mL de 25(OH) vitamina D. Se está valorando la toma de 2000 UI/día.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- 1- Alfayate, Rocio et al.** *Vitamina D :Situación actual y perspectivas de futuro.* Curso SEQC. 6 Abril 2011
- 2- Bayer, Wolfgang** *Vitamin D: The all rounder.* Dialog magazine chromsystems 2010, Special edition vitamin D
- 4- Beer TM, et al.** *Double-Blinded randomized study of high-dose calcitriol plus docetaxel compared with placebo plus docetaxel in androgen-independent prostate cancer: a report from the ASCENT investigators.* *J Clin Oncol* 2007; 25: 669 – 674.
- 5- Binkley N, Krueger D, Gemar D, and Drezner M.K.** *Correlation among 25-Hydroxy-VitaminD Assays.* *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 1804-1808
- 6- Cavalier E, Delanaye P, Chapelle JP and Souberbielle JC.** *Vitamin D: current status and perspectives.* *Clin Chem Lab Med* 2009; 47(2):120-127
- 7- Forouchi NG, et al.** *Baseline serum 25-hydroxvitamin D is predictive of future glycemic status and insuline resistance: the Medical Research Council Ely Prospective Study 1990-2000* *Diabetes* 2008; 57(10):2619-25
- 8- Giovannucci E, et al.** *25-Hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction in men* *Arch Intern Med* 2008;168(11):1174-1180

- 9- Gorham ED.** Optimal vitamin D status for colorectal cancer prevention. A quantitative metaanalysis. *Am J Prev Med* 2007; 32(3): 210 - 216
- 10- Hines, SL, Keels H, Thompson KM and Larson JM.:** Breast cancer survivors and vitamin D: A review. *Nutrition* 2010; 26(3): 255 – 262.
- 11- Holick MF, Chen TC.** Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 10808-68.
- 12- Holick MF.** Vitamin D Deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357: 266-81
- 13- Holick MF.** Vitamin D status: measurement, interpretation and clinical application *Ann Epidemiol.*2009; 19(2): 73–78.
- 14- Kragt J, et al.** Higher levels of 25-hydroxyvitamin D are associated with a lower incidence of multiple sclerosis only in women. *Mult Scler* 2009;15(1):9-15
- 15- Moreno Martinez, Antonio et al.** Vitamina D.acciones.nuevas aplicaciones en prevención de salud. *Cuadernos de educación continuada en el laboratorio clínico* 2010-2011 Ed Cont Lab Clin; 14: 114-126
- 16 -Munger KL et al.** Vitamin D intake and incidence of multiple esclerosis. *Neurology* 2004; 62: 60-65
- 17- Vieth R** Vitamin D supplementation. 25-hydroxivitamin D concentrations and safet.y *Am.J.Clin Nutr.* 1999;69: 842-856
- 18- Zittermann.A** Vitamin d in preventive medicine. Are we ignoring the evidence? *Br.J.Nutr* 2003; 89: 552-572.



