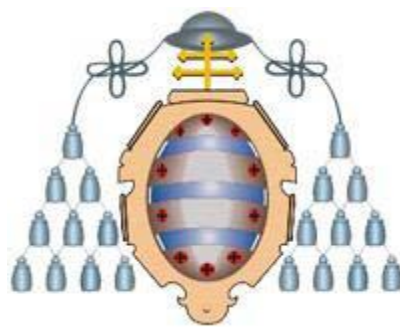




UNIVERSIDAD DE OVIEDO

DEPARTAMENTO DE MORFOLOGÍA Y BIOLOGÍA CELULAR

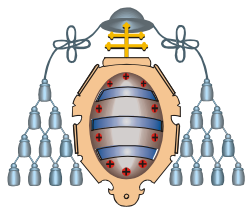
NIVELES DE VITAMINA D EN MUJERES ADULTAS Y SU RELACIÓN CON EL DOLOR MÚSCULO-ESQUELÉTICO

Tesis doctoral presentada por:

CARMEN FERNÁNDEZ MILIA

para la obtención del título de Doctor en Medicina

Mayo, 2011



UNIVERSIDAD DE OVIEDO
Departamento de Morfología y Biología Celular

Los doctores D. **Antonio Murcia Mazón**, Profesor Titular Vinculado del Dpto Cirugía y Especialidades Quirúrgicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Oviedo y jefe del Servicio COT Hospital Cabueñes de Gijón, D. **José Manuel López García**, Profesor Titular del Dpto. Morfología y Biología Celular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Oviedo y D. **Eloy Fernández Rodríguez**, Jefe del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital de Cabueñes de Gijón,

EXPONEN que Doña **CARMEN FERNÁNDEZ MILIA**, Licenciada en Medicina y Cirugía, ha realizado bajo nuestra dirección y en el Departamento de Morfología y Biología Celular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Oviedo el presente trabajo de investigación, titulado: “**Niveles de Vitamina D en mujeres adultas y su relación con el dolor músculo-esquelético**”, que reúne las condiciones necesarias para optar al Grado de Doctor. Hacemos especial mención a las aportaciones realizadas por esta investigación original en la determinación de los niveles plasmáticos de 25-hidroxivitamina D en mujeres del área sanitaria de Gijón y el análisis de la correlación de tales niveles analíticos con parámetros clínicos y estimaciones del nivel de dolor en pacientes, habiendo obtenido datos de utilidad para la práctica clínica.

Oviedo, FECHA 25 Mayo 2011

Fdo. Dr. Antonio Murcia Mazón

Fdo. Dr. José Manuel López García

Fdo. Dr. Eloy Fernández Rodríguez

Dedicatoria

A mis tres hijos, lo más grande que mi marido y yo hemos hecho en la vida.

A mis padres por los valores inculcados, su devoción , con todo mi amor.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar a mi Director Jose Manuel (Dr. López) sin el cual ni siquiera hubiera empezado esta tesis. Por su inestimable colaboración.

Al Dr. Murcia por su eficaz organización.

Al Dr. Eloy Rodriguez por el apoyo de laboratorio y por sus acertados consejos.

A las enfermeras Patricia y Nieves que trabajaron también con nuestros pacientes.

A la Endocrinóloga Dra.Valdés por sus aclaraciones.

Al equipo del Laboratorio de Analisis Clinicos del Hospital Cabueñes.

Al Dr. Babio por sus correcciones.

Al Dr. Rafael García (Profesor de la Escuela de Ingenieros Industriales de Gijón) por su labor de maquetación.

A todos los pacientes que generosamente colaboraron.

A todos los que no puedo nombrar y que de alguna forma contribuyeron en este trabajo.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	vitamina D	6
1. DEFINICIÓN		7
2. HISTORIA		11
3. METABOLISMO		15
4. ACCIÓN FUNCIONAL		23
4.1. Homeostasis del calcio		23
4.2. Control de la diferenciación y proliferación celular		27
4.3. Efecto inmunorregulador		29
4.4. Dolor		30
5. MECANISMOS DE ACCIÓN		32
6. REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD de la vitamina D		39
II. OBJETIVOS		47
III. MATERIAL Y MÉTODOS		49
1. DISEÑO DEL ESTUDIO		50
1.1. Estudio descriptivo de la población.		50
1.2. Estudio epidemiológico analítico no experimental.		52
1.3. Estudio clínico controlado prospectivo		53
2. TRATAMIENTOS		59
3. MÉTODOS ANALÍTICOS		60
4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO		61
IV. RESULTADOS		62
1. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA POBLACIÓN		63
2. ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO ANALÍTICO NO EXPERIMENTAL		73
3. ESTUDIO CLÍNICO CONTROLADO PROSPECTIVO		75
V. DISCUSIÓN		94
VI. CONCLUSIONES		131
VII. BIBLIOGRAFÍA		133

I. INTRODUCCIÓN

1. DEFINICIÓN

La vitamina D es un compuesto de naturaleza lipídica, perteneciente al grupo de los esteroides, necesario para el organismo. Presenta un origen doble, ya que puede ser sintetizado íntegramente por determinadas células del organismo a partir de precursores básicos y entonces se habla de origen endógeno, y también puede ser obtenido a partir de alimentos de la dieta, origen exógeno. El aporte exógeno de vitamina D se obtiene mediante la ingesta de alimentos con alto contenido en grasas, como el queso, el huevo, el pescado azul o el hígado. Es especialmente rico en vitamina D el aceite de hígado de bacalao, que ha sido utilizado de forma medicinal desde hace muchos años. Dada su naturaleza química, la vitamina D utiliza el mecanismo de absorción de las grasas, precisando interaccionar con las sales biliares sintetizadas por el hígado.

La vía de síntesis endógena de la vitamina D₃ se realiza a partir del colesterol. El proceso se inicia específicamente en los queratinocitos superficiales de la piel y presenta una característica muy poco común: la sucesión de reacciones bioquímicas que conducen a la producción de vitamina D incluye una reacción dependiente de radiación ultravioleta (UV). Ello da lugar a que la radiación solar sea un factor crítico para la síntesis endógena de Vitamina D. En los queratinocitos, el colesterol se transforma en 7-dehidrocolesterol que, a su vez se transforma en pro-vitamina D₃ por la ruptura del anillo B por irradiación UV de longitud de onda entre 290 y 315 nm. La pro-vitamina D₃ que se isomeriza a Vitamina D₃ o colecalciferol, que sale de los queratinocitos y llega a los capilares sanguíneos donde se une a una proteína de transporte, la proteína de unión de la vitamina D (DBP), que es vital para su transporte a través de la sangre. La vitamina D es inactiva biológicamente, la activación precisa de dos pasos consistentes en la adición enzimática consecutiva de dos grupos hidroxilo en posiciones específicas de la molécula. El primer paso de la activación tiene lugar principalmente en el hígado, donde la vitamina D es hidroxilada en el carbono 25 por la acción de un enzima específico para transformarse en 25 hidroxí-vitamina D, 25-(OH)D. La 25-(OH)D es el metabolito circulante más abundante y tiene una vida media prolongada, por lo que se le considera el índice más adecuado para valorar el nivel de

vitamina D en el organismo, si bien no es biológicamente activo. El segundo y definitivo paso de la activación tiene lugar principalmente en las células tubulares renales, donde se produce una segunda hidroxilación enzimática, esta vez en el carbono 1 para dar lugar a la 1,25 hidroxí-vitamina D, $1,25-(OH)_2D$, que recibe también el nombre de calcitriol y es el metabolito primario activo que actúa directamente sobre los órganos diana.

Para que la vitamina $1,25-(OH)_2D$ actúe sobre un determinado tejido es necesario que las células de ese tejido presenten un receptor específico. Este receptor recibe el nombre de receptor de vitamina D (VDR), es de tipo nuclear y tiene muchas propiedades estructurales y funcionales similares a los receptores de las hormonas esteroídicas. El VDR actúa como un factor transcripcional que se activa tras la unión con la $1,25-(OH)_2D$. No obstante, el receptor no actúa directamente tras su unión con la $1,25-(OH)_2D$ sino que precisa unirse a otro receptor nuclear, el receptor del ácido 9 cis-retinoico (RXR). Como consecuencia se forma un complejo que es un heterodímero VDR-RXR que es el que finalmente se une a regiones específicas del genoma, modificando la transcripción génica. El papel fundamental que juega el receptor VDR en la transducción de la señales de la vitamina D queda demostrado por la existencia de enfermedades genéticas en las el receptor VDR está mutado y no es funcional. En estos casos los pacientes presentan los síntomas característicos de deficiencia en vitamina D, síntomas que persisten aunque se incrementen los niveles de ésta.

Todo lo anteriormente describe un aspecto característico de esta molécula y es que el mecanismo de acción de la vitamina D se corresponde en realidad con un sistema hormonal. Si se considera de forma estricta el concepto de vitamina como “un pequeño micronutriente que el organismo precisa y no puede producir por lo que sólo se puede obtener a partir de los alimentos”, la vitamina D no sería realmente una vitamina sino una hormona cuya síntesis se iniciaría en la piel dando lugar a una prohormona inactiva cuya activación tendría lugar en dos pasos consecutivos en el hígado y riñón, dando finalmente a la forma activa, la $1,25-(OH)_2D$. Esta forma activa sería la que actuaría sobre los órganos diana por mediación de la presencia de un receptor específico para la hormona que al unirse a ésta se activaría y provocaría cambios a nivel de la

expresión génica. No obstante la vitamina D presenta dos características que son poco comunes en otras hormonas. La primera es que su síntesis precisa de radiación ultravioleta, esto es, luz solar. Por lo tanto el organismo no tiene necesariamente a su disposición siempre todos los elementos necesarios y por ello no la puede sintetizar en condiciones de baja irradiación solar. La segunda es que puede ser obtenida directamente de la dieta, y ésta es la fuente principal cuando existe una carencia de luz. En consecuencia esta molécula presenta unas características intermedias que hacen que se siga utilizando el término vitamina aunque en este caso, el de la vitamina D, este término tenga connotaciones muy específicas.

Los primeros órganos diana de la acción de la vitamina D que se conocieron fueron los relacionados con el metabolismo del calcio: intestino, riñón y hueso. Se supo pronto que la vitamina D incrementaba la absorción intestinal del calcio así como su reabsorción en los túbulos renales. Debido a esto, la vitamina D se asoció principalmente con el mantenimiento de la homeostasis del calcio, lo que implicaba una relación funcional con la hormona paratiroidea (PTH) y un papel crítico en el desarrollo de tejidos mineralizados, especialmente los huesos.

Sin embargo, en los últimos años, se ha puesto de manifiesto la existencia de receptores VDR en una gran variedad de tipos celulares que no participan en el mantenimiento de la homeostasis del calcio como es el caso de las neuronas, las células hematopoyéticas, las células epiteliales, los linfocitos, las células de islotes pancreáticos y algunas células tumorales. Esta presencia amplia del receptor en tantos tipos celulares tan diferentes implica que la vitamina D podría participar en muchos más procesos de los que inicialmente se creía. Esta hipótesis se ha visto reforzada por los análisis de expresión génica, que han demostrado que la vitamina D es capaz de activar más de 1000 genes diferentes y que algunos de estos genes participan en procesos críticos para el organismo como la regulación de la proliferación y diferenciación celular, la apoptosis celular, la angiogénesis, la regulación de la secreción hormonal y la regulación de la función inmune.

El hecho de que la vitamina D tenga múltiples efectos en diferentes tejidos y no sólo en hueso ha dado lugar a un replanteamiento global de la función de la vitamina D. En esta línea se ha ido dando una relevancia cada vez mayor a los efectos de la vitamina no relacionados con el metabolismo del calcio. En esta línea existe ya un fármaco antagonista del receptor VDR que se utiliza para el tratamiento de la psoriasis (tacalcitol) y se han sugerido aplicaciones de varias moléculas que actúan como ligandos de este receptor para el tratamiento de procesos inflamatorios (artritis reumatoide, artritis psoriásica), dermatológicos (psoriasis, fotoenvejecimiento), osteoporosis, cáncer de mama o de próstata y desordenes autoinmunológicos. Los hallazgos sobre los múltiples efectos de la vitamina D han permitido explicar las bases de un fenómeno conocido desde hace muchos años, el efecto beneficioso de la radiación solar. A principios del siglo XX, cuando aún no se conocían los antibióticos, a los enfermos con tuberculosis pulmonar se les recomendaba pasar largas temporadas en las montañas donde debían tomar prolongados baños de sol, como quedó descrito de forma genial en la inmortal obra de Thomas Mann, "La montaña mágica". Sólo muchos años más tarde se supo que una parte de aquel efecto curativo se debía al incremento de los niveles de vitamina D inducidos por la alta radiación ultravioleta que existe a mayor altitud, donde la atmósfera está más atenuada y el filtro a la radiación ultravioleta es más débil. Hoy sabemos que la subida de vitamina D aumenta la respuesta inmunológica, potenciando la eficiencia antibacteriana y ejerciendo también un efecto de protección frente al envejecimiento y ciertos tipos de procesos tumorales.

El presente Trabajo pretende contribuir a caracterizar el espectro de efectos beneficiosos que la vitamina D puede aportar al organismo. En nuestro trabajo estudiaremos el efecto de la vitamina D sobre el dolor crónico, la debilidad y la fatiga crónica. Realizaremos un estudio clínico-epidemiológico para analizar si existe una asociación entre el déficit en vitamina D y una mayor predisposición a dolor no específico, esto es, en casos en los que no existe evidencia de una enfermedad o lesión. Creemos que la relevancia clínica de este problema justifica suficientemente la realización del estudio y que los resultados obtenidos pueden traducirse en una mejora de la calidad asistencial a los pacientes.

2. HISTORIA

El descubrimiento de la vitamina D está históricamente ligado a una enfermedad caracterizada por un insuficiente contenido de calcio que originaba fragilidad ósea, el raquitismo. Se describen pacientes con una sintomatología clara de raquitismo ya en alguno de los textos médicos de la Grecia clásica, si bien esta enfermedad era considerada poco común. La aparición de los primeros núcleos urbanos a partir del siglo XVII conllevó un incremento de esta enfermedad. Así, en la primera mitad del siglo XVII, los casos de raquitismo en Gran Bretaña pasaron a ser muy frecuentes, tanto que la enfermedad fue denominada como "morbo inglés". La enfermedad fue descrita de forma ya detallada por varios médicos de la época como Whistler, DeBoot y Glisson. Este último, Francis Glisson fue quien acuñó el término raquitismo (en inglés *rickects*), nombre que parece derivarse de la expresión inglesa *wrikken to twist*, que significa "encorvado, torcido". Estos autores describieron que muchos de los niños que vivían en zonas poco soleadas de ciudades, desarrollaban una enfermedad ósea severa que producía deformaciones en el esqueleto. Los huesos de los niños afectados eran blandos, casi como cartílagos, y estos niños tardaban en gatear y caminar. Al crecer, estos huesos se deformaban debido al aumento del peso corporal, dando lugar a torax prominente, piernas arqueadas, o pelvis deformadas. En los casos más graves podían sufrir tetania, lo que originaba espasmos dolorosos de las manos, los pies y la laringe, e incluso dificultad para respirar y convulsiones, podía incluso causar la muerte. Otra consecuencia muy grave era que producía la protrusión del promontorio pelviano hacia la entrada de la pelvis menor, mientras que la protrusion de las cabezas femorales hacia la línea media disminuía el diámetro transversal. El resultado era una pelvis menor, con su cavidad estrechada y con forma de trébol que dificultaba el parto. En el siglo XVII no se conocían las causas pero sí se describió que la enfermedad no era contagiosa ni hereditaria.

La Revolución Industrial originó que muchas familias emigraran desde el ámbito rural a ciudades industriales en las que el humo de las fábricas producía una auténtica pantalla que impedía el paso de la luz ultravioleta y ello dio lugar a que el raquitismo adquiriera carácter epidémico. Así, estudios realizados sobre autopsias en Leiden en el siglo XIX indicaron que entre el 80-90% de los niños

criados en ciudades industrializadas presentaban esta enfermedad (Park 1923). Los primeros avances sobre la etiología de la enfermedad se basaron en la observación de que la enfermedad era prácticamente desconocida en las zonas rurales.

En 1822 el médico polaco Jędrzej Sniadecki (Hess 1921) propuso que la enfermedad se debía a falta de aire fresco y de luz solar al observar que los niños que vivían en el interior de Varsovia presentaban alta incidencia de la enfermedad, mientras que ésta era muy baja en los que vivían en un ambiente rural. Sin embargo esta idea no fue muy considerada y la idea dominante era que la enfermedad dependía de la alimentación.

En 1927 Bretonneau trató a un niño de 15 meses afectado de raquitismo severo mediante aceite de hígado de bacalao, y encontró una mejoría muy notable.

El factor ambiental fue de nuevo considerado como consecuencia del estudio epidemiológico del británico T.A. Palm, quien analizó el raquitismo en el Imperio Británico y encontró que era una enfermedad excepcional en niños que vivían en ciudades pobres de India, China, Japón e India a pesar de que su alimentación era muy escasa.

Sin embargo no fue hasta la primera mitad del siglo XX cuando se produjeron avances significativos en el conocimiento de la etiología de esta enfermedad. En 1913, H. Steenbock y E. B. Hart, de la Universidad of Wisconsin, observaron que las cabras para producción de leche tenían una esperanza de vida muy diferente dependiendo de que estuviesen estabuladas o al aire libre. Analizaron las causas y demostraron que las que se mantenían en ambientes interiores con baja intensidad lumínica perdían una gran parte de su calcio óseo, mientras que esto no ocurría en las mantenidas al aire libre. Seis años después, en 1919, el científico alemán K. Huldschinsky obtuvo un resultado definitivo al tratar a cuatro enfermos de raquitismo severo con luz ultravioleta producida artificialmente, y lograr la curación de la enfermedad. Dos años después, en 1921, los investigadores Alfred F. Hess y L. F. Unger de la Universidad de Columbia demostraron que se podía curar el raquitismo en niños simplemente con exponerlos al sol.

A pesar de estos resultados, algunos autores siguieron estudiando la relación entre la enfermedad y la alimentación. Edward Mellanby, de la Universidad de Londres, realizó un estudio experimental en 1918 utilizando cachorros de perro sometidos a cuatro tipos de dieta. Encontró que podía inducir el raquitismo en perros alimentados sólo con avena y criados en espacios cerrados con bajo nivel de luz y que la enfermedad podía ser curada dando a los animales aceite de hígado de bacalao. Con ello logró demostrar a nivel experimental la existencia de un factor nutricional en el raquitismo. Sobre esta base resultó el concepto de factor antirraquítico al que llamó “vitamina soluble en grasa”, que estaba presente en cantidades importantes en el aceite del hígado de bacalao.

Las teorías ambiental y nutricional fueron unificadas en 1921 gracias a los estudios experimentales de Powers. Este autor trató un grupo de ratas raquíticas con aceite de hígado de bacalao y otro grupo con radiación ultravioleta, demostrando que los dos procedimientos eran igualmente efectivos para el tratamiento de la enfermedad. Sobre la base de este resultado se sugirió que el factor antirraquítico podría obtenerse por dos vías diferentes.

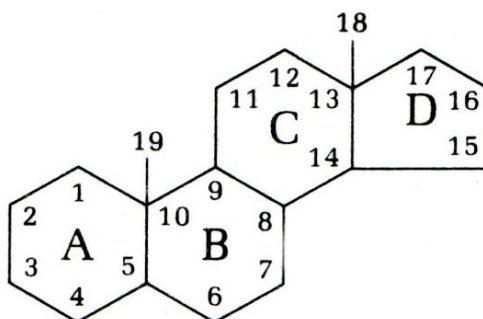
Una vez establecido la existencia de un factor antirraquítico los estudios se centraron en la identificación de dicho factor. Una primera hipótesis era que dicho factor podía ser la vitamina A, que había sido descrita unos años atrás. Para comprobar esta posibilidad McCollum en 1921 inactivó la vitamina A del aceite de hígado de bacalao mediante oxidación. A pesar de esto, encontró que la actividad antirraquítica del aceite permanecía, por lo que debía existir una sustancia liposoluble diferente a la vitamina A responsable del efecto terapéutico. Este compuesto fue denominado vitamina D (McCollum y cols 1922).

En 1924, Harry Goldblatt y Katherine Soames, H. Steenbock y A. Black, y Alfred Hess y Mildred Weinstock descubren independientemente que muchos alimentos que no eran efectivos para revertir el raquitismo adquirirían propiedades antirraquíticas simplemente al ser tratados con luz ultravioleta. Este resultado implicaba el factor antirraquítico podía ser generado a partir de un

precursor que sería bastante común en los tejidos. Estas observaciones condujeron a que Windawus en 1935 aislara e identificara la estructura química de la vitamina D3 o colecalciferol. Este autor identificó la molécula precursora, el 7-dehidrocolesterol, a la que denominó provitamina D3, y demostró que este precursor sólo se transformaba en vitamina D3 cuando se irradiaba con luz ultravioleta (Windaus y cols 1935). Esto permitió el tratamiento sistemático de los niños, y la práctica erradicación. El descubrimiento de la activación metabólica es atribuible de manera primaria a estudios efectuados en los laboratorios de DeLuca en Estados Unidos, y de Kodicek en Inglaterra (Kodicek, 1974; DeLuca y Schnoes, 1976).

3. METABOLISMO DE LA VITAMINA D

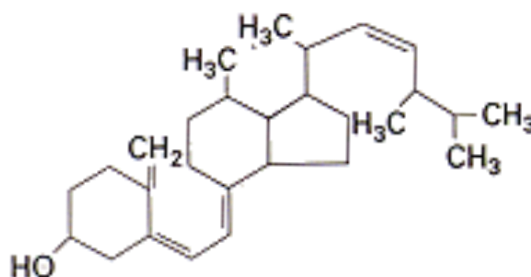
El término vitamina D implica en realidad un conjunto de compuestos, de los que los más importantes son dos: la vitamina D₂ o ergocalciferol y la vitamina D₃ o colecalciferol. El término general vitamina D hace referencia a ambos compuestos. Las vitaminas D es desde el punto de vista químico, un derivado de esteroide. Los esteroides son compuestos naturales que se caracterizan por poseer un sistema de 4 anillos fusionados (A, B, C y D) que conforman una estructura rígida y recibe el nombre de sistema ciclopentanoperhidro-fenantreno.



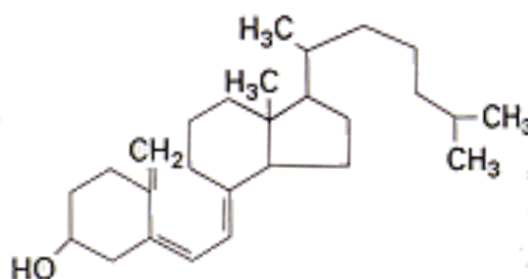
La vitamina D proviene de la ruptura del enlace C₉-C₁₀ correspondiente al anillo B del esteroide precursor. Como resultado, la molécula contiene un anillo A, un seco- anillo B y un biciclo CD, y en términos de nomenclatura recibe el nombre de seco-esteroide, término que hace referencia al hecho de uno de los anillos de la estructura ciclopentanoperhidrofenantrénica está abierto por ruptura de un enlace carbono. Teniendo en cuenta la estructura y el modo de acción, la vitamina D pertenece a la misma familia que las hormonas esteroides clásicas tales como la aldosterona, testosterona, estradiol, progesterona, cortisol y ecdisterona. No obstante, desde el punto de vista químico, una de las características de la vitamina D es su flexibilidad conformacional, especialmente cuando se compara con la rigidez de otras hormonas esteroideas. Esta flexibilidad facilita la aparición de isómeros.

La única diferencia estructural entre la vitamina D₂ y la vitamina D₃ es la cadena lateral. Sin embargo un aspecto relevante es el hecho de que la vitamina D₂ procede íntegramente de la dieta a partir de la ingesta de alimentos

vegetales, por lo que puede considerarse una auténtica vitamina. Por el contrario, la vitamina D3 puede proceder de la dieta pero también puede sintetizarse íntegramente en el organismo.



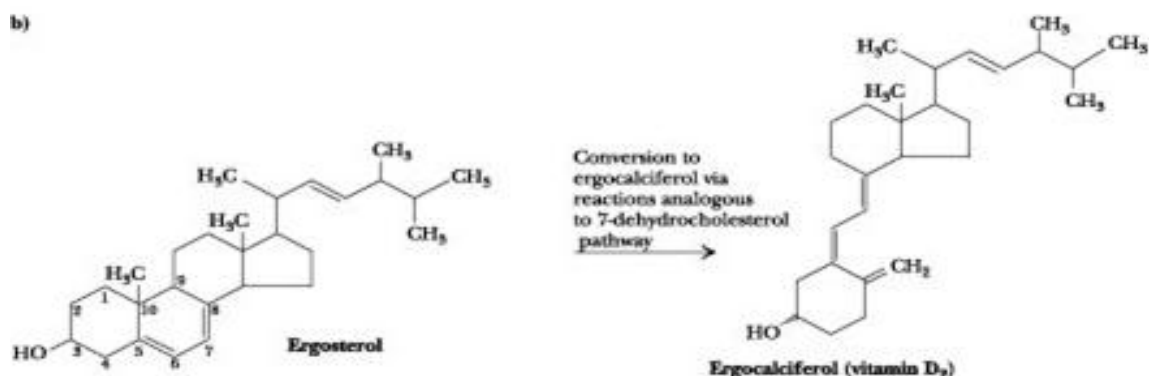
Vitamina D₂ (calciferol)



Vitamina D₃ (colecalciferol)

Se ha descrito que la vitamina D2 es entre 10 y 20 veces menos activa que la vitamina D3 en modelos experimentales, aunque en el hombre se considera que tienen un efecto prácticamente equivalente. No obstante, las proteínas de unión que permiten el transporte de esta molécula hidrófoba a través de la sangre se unen a la vitamina D2 con una eficiencia de 1,5 a 2 veces menor que a la vitamina D3, lo que indudablemente puede afectar a la efectividad funcional. La vitamina D2 procedente íntegramente de la dieta se absorbe a nivel intestinal, mediante el mecanismo de absorción de las grasas utilizando las sales biliares. Tanto los vegetales como los hongos producen un esteroide denominado ergosterol que, una vez ingerido, puede ser transformado en vitamina D2 o ergocalciferol.

b)

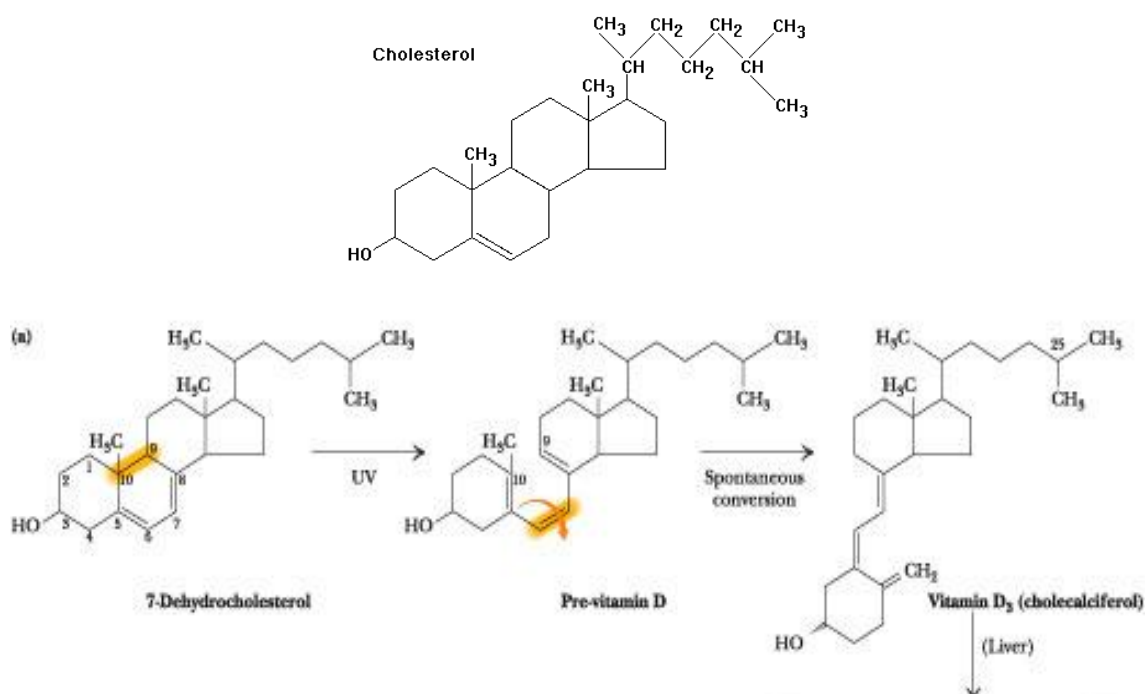


Los alimentos con mayor contenido en vitamina D son los que tienen un alto contenido en grasas como el queso, los pescados azules (bonito, atún, sardinas, caballas, bacalao, etc), los huevos y la leche (Tabla 1). Normalmente, los aportes de vitamina D son suficientes en la mayor parte de las dietas. Sin embargo, puede ocurrir que en algunas dietas muy bajas en grasas se produzca un aporte insuficiente de vitamina D.

Tabla 1. Contenido en Vitamina D de algunos alimentos.

ALIMENTO	CANTIDAD	Vit.D (mcg-UI)
Aceite de hígado de bacalao medicinal	1 cucharada	57,5-2300
salmón, enlatado, rosado	100gr	15,6-624
atún, enlatado en aceite	100 gr.	5,9-236
Sardinas, enlatada en aceite, del Atlántico	100 gr.	6,8-272
Sardinas, enlatada en salsa de tomate	100 gr.	12-480
Ostras	6 ostras	6,7-269
Caballa, enlatada en aceite	100g	5,7-228
Arenque ahumado	100 gr.	3-120
Camarones, langostinos	100 gr.	3,8-152
Queso camembert	100 gr.	0,3-12
Queso cheddar	100 gr.	0,3-12
Queso parmesano	100 gr.	0,7-28
Queso suizo	100 gr.	1,1-44
Crema de leche	100 gr.	1,3-52
Leche, fortificada, entera, descremada	1 taza	2,3-92
Leche chocolateada entera, descremada	1 taza	2,3-92
Hongos, shiitake, frescos	100 grs.	2,5-100
Yema de huevo, fresco	1	0,6-25
Manteca	100 gr.	1,4-56
Margarina, enriquecida	100 gr.	10,7-429
1 microgramo (mcg) de vitamina D = 40 UI. 1UI = 0,025 mcg		

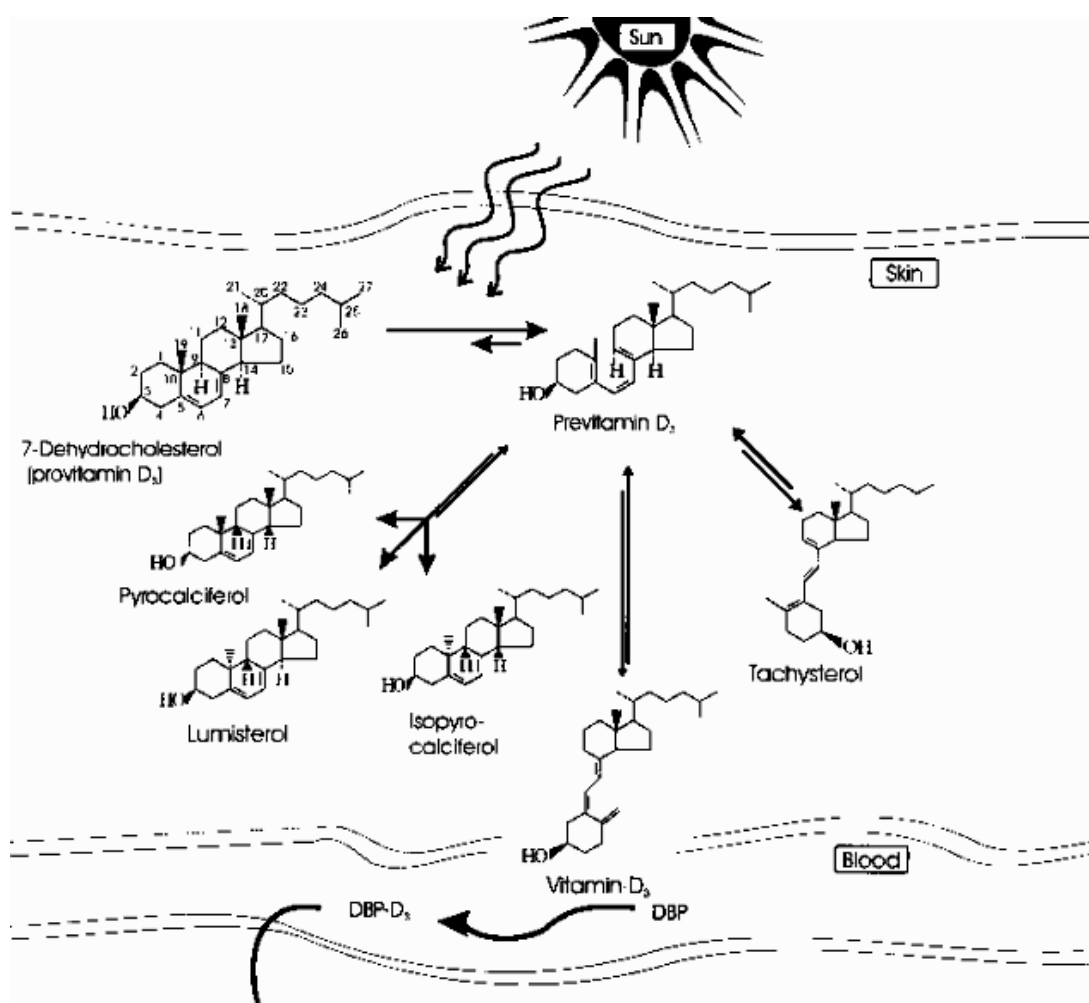
La vitamina D3 puede ser sintetizada íntegramente en el organismo a partir del colesterol. El proceso se inicia en las células epiteliales de la piel, donde el colesterol se transforma en 7-dehidrocolesterol, compuesto que tiene la característica de ser fotosensible. Este compuesto presenta dos enlaces conjugados dobles de las posiciones C5 y C7 que tienen la capacidad de absorber radiación ultravioleta con longitud de onda comprendida entre 290 y 310 nm. La energía absorbida desestabiliza el enlace entre el C9 y C10, provocando su ruptura y dando lugar a la apertura del anillo B y la producción de 9,10-secoesterol que recibe también el nombre de provitamina D3.



La provitamina D3 es termolábil, por lo que una vez que se forma sufre una reorganización molecular espontánea que la transforma en vitamina D3, compuesto que ya es estable. Estos dos compuestos, provitamina D3 y vitamina D3, se encuentran en equilibrio dinámico. A 37°C el equilibrio se alcanza cuando la concentración de vitamina D3 es 8,1 veces mayor que la de provitamina, lo que implica que el equilibrio se encuentra desplazado hacia la forma más estable, la vitamina D3.

La provitamina D3 es también fotosensible, aunque su umbral de sensibilidad es menor. Si las condiciones de irradiación ultravioleta son bajas o

medianas, la provitamina D3 apenas se ve afectada por la luz. Por el contrario, cuando las condiciones de irradiación ultravioleta son altas la provitamina D3 sufre un proceso de isomerización fotoquímica que hace que se transforme en dos productos: el lumisterol y el taquisterol. Estos productos son biológicamente inertes, y su formación implica la neutralización funcional de provitamina D3. Este proceso constituye un importante mecanismo de regulación para evitar la producción excesiva de provitamina D cuando se producen exposiciones muy prolongadas a la irradiación ultravioleta (Holick y cols. 1981).



La melanina de la piel compite por los fotones con el 7-dehidrocolesterol, limitando la síntesis de provitamina D. Por ese motivo, las razas con mayor grado de pigmentación presentan una menor capacidad de síntesis de provitamina D.

Asimismo, el envejecimiento produce en la piel una disminución en la capacidad de síntesis de provitamina D. Se estima que la capacidad de síntesis se reduce al 50% a partir de los 70 años (McLaughlin y cols. 1985).

La vitamina D3 puede ser obtenida también a partir de la dieta por alimentos ricos en esta vitamina, como el hígado y la yema de huevo. La vitamina D3 exógena se absorbe igual que la vitamina D2, con el concurso de las sales biliares y utilizando el mecanismo de absorción de grasas. Una vez ingerida, la vitamina D se incorpora a la fracción de quilomicrones en los enterocitos intestinales y, posteriormente, son absorbidos. Cuando se produce una ingesta de 50.000 UI de vitamina D se produce un incremento significativo de los niveles séricos de vitamina D, produciéndose un máximo a las 12 horas y un descenso progresivo a partir de 72 horas. No existe un órgano específico de almacenamiento de vitamina D. Al contrario de lo que sucede con otras vitaminas liposolubles, la vitamina D no se almacena de forma preferente en el hígado sino que lo hace en los lípidos de muchos tejidos periféricos como el tejido adiposo y el músculo. Se pueden producir problemas en la absorción de vitamina D en algunas enfermedades que afectan al intestino delgado, como el síndrome de malabsorción intestinal, la enfermedad de Crohn, Whipple y la fibrosis quística. La absorción de vitamina D se produce principalmente en duodeno y yeyuno, por lo que las enfermedades que afectan a la parte distal intestino delgado o al intestino grueso no suelen afectar de forma significativa la absorción de vitamina D. Al contrario de lo que sucede con la vitamina D3 sintetizada por la piel, la capacidad de absorción intestinal de la vitamina no disminuye con la edad, (Holick 1986), por lo que el aporte exógeno de vitamina D3 a partir de la dieta se hace más relevante para el organismo con el paso del tiempo.

Las vitaminas D2 y D3 ingeridas en la dieta, así como la vitamina D3 sintetizada en la piel necesitan, dado su carácter liposoluble, una proteína plasmática transportadora para poder circular por la sangre, la proteína de unión de la vitamina D (DBP, *vitamin D binding protein*) llamada también tanscalciferina. La DBP se une también a los metabolitos hidroxilados de la vitamina D, pero con una afinidad muy baja por los metabolitos biológicamente inertes. Por tanto el lumisterol y el taquisterol no se transportan por el torrente circulatorio. La DBP transporta aproximadamente el 85% de la vitamina D, mientras que el 15% restante se transporta unido a la albúmina sanguínea.

La vitamina D, tanto la sintetizada en la piel como la procedente de la dieta, tiene una actividad muy baja, por lo que puede considerarse como una prohormona. Para hacerse biológicamente activa requiere un proceso de activación consistente en dos hidroxilaciones secuenciales (Fig. A). La primera hidroxilación se produce en el hígado y da lugar a la 25-hidroxivitamina D₃, 25-(OH)D₃, también denominada hidroxicolecalciferol o calcifediol, que es 5 veces más activa que la vitamina D₃ y la forma más abundante en el plasma. La 25-hidroxivitamina D₃ es transportada a través de la sangre al riñón y allí se produce la segunda hidroxilación, dando lugar a la 1,25-dihidroxivitamina D₃, 1,25(OH)₂D₃, también denominada calcitriol, que es la forma con mayor actividad. La activación constituye un proceso muy relevante en la actuación de la vitamina D.

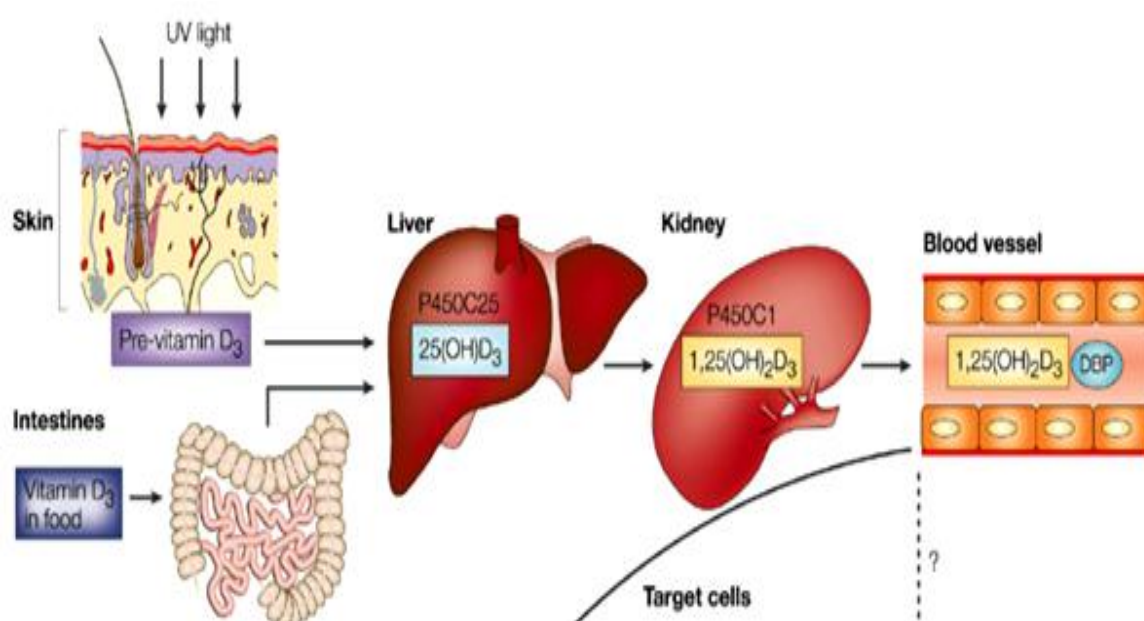


Figura A: Activación vitamina D.

El enzima que se encarga de la 25-hidroxilación de la vitamina D se denomina 25-hidroxilasa-vitamina D. Se localiza mayoritariamente en las mitocondrias de los hepatocitos, y en menor medida en el retículo endoplásmico. Para su función, el enzima requiere la forma reducida del fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADPH) y oxígeno molecular. La 25 hidroxivitamina D tiene una alta afinidad por la DBP por lo que su vida media en sangre es alta (aproximadamente 21 días) y constituye el metabolito circulante más abundante. En consecuencia, la concentración plasmática de la 25 hidroxivitamina D es considerado el índice más fiable para medir el status de vitamina

D, aunque este producto tenga una actividad hormonal muy baja en las concentraciones fisiológicas.

La hidroxilación de vitamina D hacia 25(OH)D puede alterarse en algunas enfermedades hepáticas colestásicas o parenquimatosas severas en las que se produce un descenso de los niveles del enzima (Long y cols. 1976). Asimismo, enfermedades renales asociadas con proteinuria mayor de 4 g/día, presentan niveles disminuidos de 25(OH)D, debido a la pérdida urinaria de las proteínas séricas de transporte de la vitamina D (Pietrek y cols.).

Tras la primera hidroxilación en el hígado, la 25(OH)D se une a la proteína sérica de transporte, sale a la circulación sanguínea y llega al riñón donde sufre una hidroxilación estereoespecífica para dar 1,25(OH)₂D, que es el metabolito activo de la vitamina D. La hidroxilación de la 25(OH)D para dar 1,25(OH)₂D es el paso clave de la regulación de la actividad de la vitamina D. Este proceso es catalizado por un enzima que recibe el nombre de 25(OH)D-1- α -hidroxilasa, aunque de forma reducida se denomina 1- α -hidroxilasa. Este enzima es una monoxigenasa que se localiza en la membrana mitocondrial interna de las células del túbulo proximal de la nefrona. Este enzima es en realidad un complejo enzimático que constituye una cadena de transporte electrónico formada por tres componentes: ferredoxina reductasa, ferredoxina y citocromo P450. La ferredoxina reductasa es una flavoproteína que recibe electrones desde el fosfato de nicotinamida-adenín- dinucleótido (NADPH) y los transfiere a la ferredoxina que, a su vez, los cede al citocromo P450, que es el componente catalítico que en presencia de oxígeno molecular, produce la hidroxilación del sustrato 25(OH)D en la posición 1- α .

Las formas hidroxiladas de la vitamina D son transportadas a través de la sangre por la DBP. No obstante, no todas las moléculas tienen la misma afinidad por la proteína de transporte. La afinidad de unión de la DBP por la 25-hidroxivitamina D es de 5 a 10 veces mayor que para la vitamina D o la 1,25-dihidroxivitaminaD. Como la afinidad de un metabolito por la DBP es inversamente proporcional a su capacidad de desligarse del transportador y entrar en los tejidos, la 1,25(OH)₂D pasa fácilmente a los tejidos, mientras que el 25(OH)D lo hace con mayor dificultad.

4. ACCIÓN FUNCIONAL DE LA VITAMINA D

Dentro de las funciones de la vitamina D se pueden distinguir dos categorías. En primer lugar están las acciones clásicas que se conocen desde hace mucho tiempo y que se centran fundamentalmente en el papel de la vitamina D como un regulador clave de la homeostasis del calcio y del metabolismo óseo. Además de estas acciones clásicas, a partir de los últimos años del siglo XX, se encontró que el espectro de acción era mucho más amplio y que ejercía una acción reguladora sobre gran variedad de tipos celulares no relacionados con la homeostasis del calcio como neuronas, células hematopoyéticas, células epiteliales, linfocitos, células de islotes pancreáticos y hasta células tumorales. En estas células la vitamina D era capaz de activar más de 1000 genes diferentes, algunos de los cuales estaban implicados en la regulación de la proliferación y diferenciación celular, la apoptosis celular, la angiogénesis, la regulación de la secreción hormonal y la regulación de la función inmune. Como consecuencia, se han ido añadiendo funciones nuevas como la capacidad de regular la proliferación y diferenciación de epitelios funcionales como el de la piel y también de células malignas, la modulación de la respuesta inmunitaria, y la capacidad de un efecto atenuante sobre el dolor musculoesquelético difuso.

4.1. Vitamina D y homeostasis del calcio

El ión calcio es un componente estructural básico del esqueleto que se asocia con el colágeno y hace que el tejido óseo tenga una gran resistencia. Sin embargo ésa no es su única función sino que este ión desempeña un papel clave en una gran variedad de procesos celulares tan importantes como la contracción muscular, la coagulación sanguínea, la regulación de la actividad enzimática, la excitabilidad celular, la transmisión de mensajes, la secreción hormonal y la permeabilidad de las membranas. Por lo tanto, el control preciso de la concentración de calcio en los líquidos extracelulares es un elemento crucial para el funcionamiento correcto del organismo y, por ello, existe una regulación muy precisa y estricta que asegura que este ión presente una concentración prácticamente constante, con independencia de las variaciones producidas por la ingestión y la excreción.

El ión calcio es el catión más abundante del organismo. Aproximadamente el 99% del calcio corporal total, unos 1.000 g en un adulto, se encuentra en la fase mineral del hueso en forma de cristales de hidroxapatita. En el plasma se encuentra en un 50% como calcio iónico libre, en un 10% ligado a aniones (citrate, bicarbonato) y en un 40% unido a proteínas, principalmente la albúmina. El calcio iónico es la fracción biológicamente activa y puede sufrir variaciones importantes en función del pH. Así, en situaciones de acidosis disminuye su unión a proteínas mientras que en alcalosis se produce un aumento de la fracción unida a proteínas.

El calcio se absorbe fundamentalmente a nivel del duodeno y del yeyuno. La capacidad de absorción viene condicionada por la biodisponibilidad del calcio dietético y por la propia cantidad de calcio ingerido. Un escaso porcentaje del calcio ingerido se absorbe por difusión simple, de forma paracelular y con una cinética no saturable. Sin embargo, la mayor parte de la absorción tiene lugar mediante un proceso de absorción específico mediado por transporte transcelular o transcitosis. Este proceso está regulado por la vitamina D, que estimula su paso tanto mediante el incremento de la expresión génica de proteínas transportadoras como por la activación directa de sistemas de transporte. En circunstancias normales se absorbe aproximadamente un 30% del calcio dietético. A veces existe una falta de respuesta intestinal a la absorción de calcio que puede ser debida al tratamiento con glucocorticoides, a un exceso de hormona tiroidea, o a síndromes de malabsorción. Sólo el calcio plasmático no ligado a proteínas (60%) es filtrado a nivel glomerular. El 70% del calcio ultrafiltrado de forma inespecífica en el corpúsculo renal se reabsorbe en el túbulo proximal, a nivel intercelular, condicionado por diferencias de concentración y de potencial, y mediante transporte celular activo mediado por la ATPasa magnesio dependiente e intercambio Na/Ca. El 20% del calcio filtrado es reabsorbido en el asa de Henle por diferencias de potencial subsecuentes a la acción de la bomba Na/K e intercambio Ca/Na. Los diuréticos de asa disminuyen la reabsorción de calcio al disminuir el potencial positivo intraluminal. En el túbulo contorneado distal se reabsorbe aproximadamente un 8% del calcio filtrado de forma activa, siendo el segmento donde se produce la mayor regulación de la excreción de calcio.

Los niveles de calcio se mantienen dentro de unos márgenes precisos mediante un mecanismo de retroalimentación que implica a la vitamina D junto con dos hormonas antagónicas, la PTH y la calcitonina. Normalmente existe un equilibrio entre la absorción intestinal neta y las pérdidas de calcio a través de la orina, permaneciendo constante el calcio extracelular e intercambiándose, con balance cero, calcio extracelular y calcio óseo.

Si la concentración de calcio en plasma baja, esta disminución actúa como una señal que es captada en las glándulas paratiroidéas, que producen como respuesta un incremento en la secreción de la PTH. La PTH actúa sobre dos órganos diana principalmente, el hueso y el riñón. En el hueso la PTH estimula el paso de los osteoclastos desde la forma inactiva o un estado de alta actividad que da lugar a un proceso muy activo de degradación de la matriz ósea a nivel del borde fruncido, la estructura celular específica de estas células. La degradación de la matriz conlleva la liberación de calcio y fosfato y el paso de estos iones a los capilares sanguíneos. Este proceso tiene lugar principalmente a nivel del tejido óseo esponjoso, donde el área superficial de contacto entre los osteoclastos y el tejido óseo es máxima.

En el riñón la PTH da lugar a dos respuestas. En primer lugar estimula la reabsorción tubular de calcio, mediante la activación de sistemas específicos que transportan calcio desde el espacio luminal a los capilares sanguíneos peritubulares. Este proceso tiene lugar en contra de gradiente de concentración, por lo que requiere un gasto energético. La segunda respuesta consiste en estimular en las células renales el proceso de hidroxilación de la 25(OH)D para generar el principio activo de la vitamina D, la 1,25(OH)₂D o calcitriol.

La vitamina D activada desarrolla su función principalmente en el intestino delgado, donde promueve la absorción de iones calcio y fosfato procedentes de la dieta. La vitamina D estimula la activación en los enterocitos intestinales del duodeno y yeyuno de sistemas proteicos de transporte que transfieren calcio de forma específica desde el espacio luminal al interior del citoplasma de las células. Posteriormente el calcio pasa desde el espacio citoplásmico al espacio extracelular para llegar finalmente a los capilares sanguíneos situados en el tejido conjuntivo de la lámina propia, lo que tiene como resultado la elevación de

los niveles plasmáticos hasta el punto adecuado. En ausencia de vitamina D el porcentaje de calcio absorbido por las células epiteliales del intestino es del 10-15%, mientras que la absorción de fósforo es del 60%. Cuando los niveles de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ suben y se activan los sistemas de transporte específicos se produce un aumento del porcentaje de absorción de calcio hasta el 30-40%, lo que implica un incremento relativo del 300%, esto es, triplicar la cantidad de calcio absorbido. La presencia de vitamina D incrementa también la absorción de fósforo hasta el 80%, lo que supone un incremento relativo del 30%.

La vitamina D no sólo aumenta la eficiencia del transporte del calcio en el intestino sino que también aumenta la reabsorción de ión calcio a nivel del túbulo contorneado distal. Por lo tanto la PTH estimula la reabsorción tubular de calcio en los túbulos renales tanto directamente como indirectamente a través de la hidroxilación de la 25OHD hacia el principio activo de la vitamina D, la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, que a su vez también aumenta la reabsorción renal de calcio mediante sistemas de transporte complementarios a los activados por la PTH.

Cuando la concentración de calcio en sangre se eleva, esto actúa como estímulo principal para la secreción de calcitonina por las células parafoliculares del tiroides. La calcitonina actúa sobre las células del hueso induciendo simultáneamente la inhibición de los osteoclastos y la activación de los osteocitos marginales para que se transformen en osteoblastos que sintetizan matriz ósea. La síntesis de matriz ósea conlleva la retirada de parte del calcio iónico plasmático a calcio mineral en forma de cristales de hidroxiapatita. Asimismo, la calcitonina inhibe la activación de los sistemas de transporte específicos de calcio de las células intestinales, lo que da lugar a un descenso en la absorción de calcio. Por el contrario no tiene efecto sobre el transporte de fósforo.

La regulación del calcio tiene lugar preferentemente mediante la activación del receptor nuclear lo que da lugar a una activación de la transcripción génica que produce un incremento en la síntesis de proteínas de transporte específicas. Sin embargo, también existen mecanismos no genómicos que incluyen la capacidad de estimular el transporte de calcio a través de la membrana plasmática. El calcitriol regula el transporte transcelular

de calcio en el duodeno proximal, promoviendo el paso a través de las microvellosidades de la membrana apical al interior de la célula y su salida a través de la membrana basocelular. La entrada de calcio ocurre en contra del gradiente, estando controlada por canales específicos de calcio llamados CaT1 y calmodulina, unidos a una miosina específica. El transporte de calcio en la célula está regulado por proteínas ligadoras de calcio llamadas calbindinas. Una gran parte del transporte se produce dentro de las vesículas. La salida de calcio de la célula a través de la membrana precisa energía, y está mediada por ATP, que precisa una bomba de calcio o CaATPasa. El calcitriol induce tanto las calbindinas como la CaATPasa, pero la regulación de entrada de calcio no depende tanto de la síntesis proteica. Mecanismos similares modulan la reabsorción de calcio en el túbulo distal del riñón, con proteínas involucradas homólogas aunque no idénticas.

4.2. Vitamina D y control de la diferenciación y proliferación

La concepción de la Vitamina D cambió significativamente a principios de los años 80, cuando un grupo de investigadores describió que el calcitriol ejercía una función relevante en los mecanismos de control de la proliferación y diferenciación de algunos tipos celulares. Se encontró que la vitamina D inhibía la proliferación de las células a la par que estimulaba su diferenciación. Los tipos celulares susceptibles a esta acción de la vitamina D incluían células funcionalmente relacionadas con la vitamina, como enterocitos intestinales, macrófagos o queratinocitos epidérmicos, pero también otros tipos celulares sin conexión conocida hasta ese momento, como los linfocitos, las células hemopoyéticas y diversos tipos de células tumorales. Como consecuencia inmediata se empezó a investigar las posibles aplicaciones de la vitamina D y derivados en el tratamiento de algunas patologías como la psoriasis, enfermedades autoinmunes y determinados tumores.

Estudios epidemiológicos han demostrado que la presencia de niveles adecuados de vitamina D disminuye el riesgo de determinados cánceres, como los de colon, mama y próstata. Asimismo, se ha descrito que la incidencia de estos tres tipos de cánceres es mayor en zonas donde la exposición solar es baja. Los resultados de estos estudios epidemiológicos se vieron refrendados

por el descubrimiento de receptores para la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ en varios tipos de líneas celulares tumorales (RF). Estudios posteriores demostraron que cuando se cultivaban determinadas líneas de células tumorales en presencia de la hormona, ésta induce un descenso en la tasa de proliferación, así como un incremento de la diferenciación. En esta misma línea, se encontró que cuando se cultivaban células promielocíticas humanas malignas (HL-60) en presencia de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, se producía un proceso de diferenciación hacia macrófagos funcionales. El mecanismo por el cual se produce la maduración parece estar relacionada con la disminución de la expresión del oncogén c-myc. El efecto no es irreversible, ya que si se retira la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ del cultivo durante la fase de diferenciación, los promielocitos HL-60 vuelven a su estado de malignidad original, y se recupera la expresión del oncogén c-myc. El tratamiento con $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ también induce diferenciación celular en la leucemia mieloblástica, pero ello sólo ocurre cuando se utilizan concentraciones muy altas de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, las cuales dan lugar de forma secundaria a hipercalcemias severas. Por este motivo se investiga sobre análogos de la vitamina D que puedan tener un efecto preferente sobre la diferenciación de promielocitos con una capacidad hipercalcemiante reducida. La $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ también induce fusión celular de monocitos en cultivo dando lugar a la aparición de células gigantes multinucleadas con capacidad de resorción ósea que pueden ser considerados como osteoclastos.

Un aspecto relevante fue el descubrimiento de receptores para la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ en los propios queratinocitos humanos. Esto demostraba que la piel, además de ser un punto clave para el inicio de la síntesis de vitamina D, también es un órgano diana para la forma activa final de la hormona generada después de su paso por hígado y riñón. Estudios de cultivos celulares de queratinocitos han descrito que la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ inhibe la proliferación de estas células a la vez que estimula el proceso de queratinización de éstos. Sobre la base de su capacidad de inhibir la proliferación de las células epiteliales e inducir en éstas la diferenciación celular, la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ha sido utilizada en el tratamiento de enfermos con psoriasis, mostrándose como un fármaco efectivo.

Dentro de esta línea de acción de la vitamina D sobre el ciclo celular de proliferación-diferenciación, se ha descrito que los niveles altos de esta vitamina

en humanos dan lugar a un incremento de la longitud de los telómeros cromosómicos, mientras que los niveles bajos se asocian con un descenso significativo de la longitud de los telómeros. La longitud de los telómeros constituye un parámetro asociado con la jovialidad de un organismo, por ello se ha propuesto también que la vitamina D puede ejercer un efecto de protección frente al envejecimiento mientras que el déficit en vitamina provocaría un mayor envejecimiento celular.

4.3. Efecto inmunorregulador de la vitamina D

El descubrimiento de receptores para la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ tanto en linfocitos activados por mitógenos como en monocitos de sangre periférica indujo a pensar que esta hormona podía participar en la modulación de la respuesta inmune en el hombre. Estudios *in vitro* han demostrado que la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ inhibe la proliferación de células mononucleares periféricas activadas, proceso que parece producirse mediante la expresión de interleukina 2. Se ha postulado que la producción local de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ puede dar lugar a una elevada concentración de la hormona en una región concreta dando lugar a una variación microambiental que puede tener importancia en la diferenciación local de linfocitos. Los macrófagos y linfocitos, además de poseer VDR, contienen CYP1 α , por lo que tienen la capacidad de producir calcitriol en determinadas circunstancias. Como consecuencia de la mínima capacidad reguladora de la actividad CYP1 α en esas células estimulada por interferón γ , se produce la hipercalcemia e hipercalciuria de la sarcoidosis y otras granulomatosis. Los linfomas (tanto Hodgkin como no Hodgkin) también presentan aumento en la producción de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Las implicaciones funcionales de esas acciones inmunomoduladoras del calcitriol se han evidenciado en estudios epidemiológicos, y demostrado en modelos animales de enfermedades autoinmunes como en la encefalomiелitis autoinmune experimental del ratón, modelo de esclerosis múltiple que ha demostrado una mejoría sustancial cuando se trata con $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Sin embargo, ni el ratón VDR *knock out* ni los pacientes con VDR mutado muestran alteraciones inmunes importantes, sugiriendo que el papel del calcitriol en la función inmunológica es más regulador que crítico.

4.4. Vitamina D y dolor

La vitamina D es importante también para mantener la fuerza muscular. Se ha observado que su deficiencia puede provocar pérdida de fibras musculares de tipo II y generar de este modo atrofas musculares. Además, la vitamina D es muy importante para un funcionamiento normal del sistema nervioso y se ha observado que deficiencias de esta vitamina disminuyen el equilibrio. Por tanto, en casos de deficiencia, estos dos factores explican el incremento del riesgo de caídas y, por tanto, de fracturas óseas que se da en esos casos.

Una de las últimas acciones atribuidas de la vitamina D y que es objeto aún de debate es su posible capacidad como atenuante del dolor. Algunas investigaciones clínicas han apuntado que en muchos casos el dolor músculo-esquelético sin una causa conocida puede estar asociado con inadecuados niveles de esta vitamina. (Vieth 1999, Holick 2003, Plotnikoff y Quigley 2003, Reginster 2005 Tavera-Mendoza y White 2007). En un estudio bibliográfico (Leavitt 2008) se analizaron 22 estudios clínicos que incluían un total de 3670 pacientes con dolor músculo-esquelético y se encontró que un porcentaje de más del 50% presentaba niveles bajos de vitamina D. Asimismo, si esta deficiencia era corregida, se producía una mejora sensible en el nivel de dolor de los pacientes.

Respecto a trastornos afectivos se considera que la variación estacional en los niveles de vitamina D es un componente importante del desorden afectivo estacional, que es más acusado en invierno. Muchos de estos efectos pueden estar asociados a alteraciones en la síntesis de neurotransmisores.

Se ha postulado que con frecuencia alteraciones del metabolismo óseo y la osteomalacia resultante pueden no ser clínicamente detectables al presentar niveles por debajo del umbral de detección, pudiéndose hablar en estos casos de niveles sub-clínicos. Algunos autores consideran que estas alteraciones idiopáticas subyacen en el 85% de los casos de dolor músculo-esquelético crónico, especialmente en aquellos casos asociados con el dolor de espalda (Deyo y Weinstein 2001). Asimismo, se ha descrito que estas alteraciones se asocian frecuentemente con miopatías. La aparición de debilidad muscular es

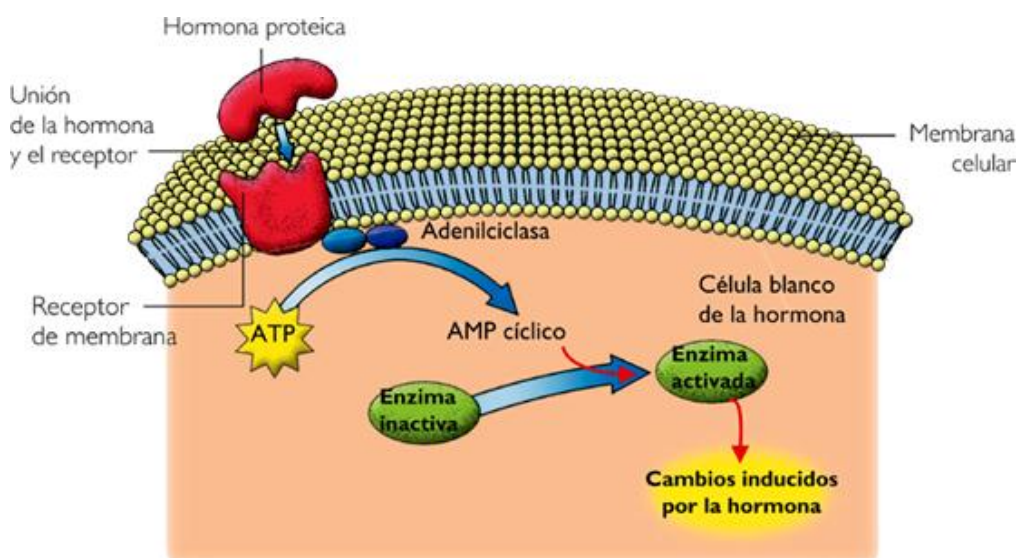
un fenómeno que suele preceder a la aparición de dolor (Glerup y cols. 2000b). En este sentido también es sabido que la deficiencia en vitamina D provoca debilidad muscular (Boland 1986, Haddad y cols. 1976, Schott y Wills 1976, Simpson y cols. 1985, Walters 1992). Además, se ha demostrado que la administración de vitamina D es un tratamiento eficaz para revertir la debilidad muscular e incrementar la actividad física de los pacientes (Bischoff-Ferrari y cols. 2006, Boxer y cols. 2008).

Sin embargo, a pesar de las evidencias obtenidas, el posible efecto analgésico de la vitamina D es un aspecto muy controvertido que en realidad no ha sido formalmente aceptado por la comunidad médica en su conjunto. Algunos autores han negado la existencia de efectos relevantes de la vitamina D sobre el dolor y el posible efecto no aparece recogido en los tratados de referencia sobre el tratamiento del dolor. Por tanto existe en la actualidad un debate muy vivo sobre la conveniencia o no de incluir la determinación de los niveles séricos de vitamina D como parámetro útil para el diagnóstico de enfermedad músculo-esquelética. Esta diversidad de opiniones indica que es necesario realizar más estudios que aportan nuevos datos y permitan corroborar o rechazar el efecto analgésico de la vitamina D. La posible relación entre la vitamina D y dolor crónico, así como con la debilidad y la fatiga crónica implica un papel funcional complejo y relevante para esta vitamina, lo que justifica su estudio bajo este nuevo enfoque.

5. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA VITAMINA D

Todas las acciones de la vitamina D son específicas, lo que implica que están mediadas por un receptor que se localiza en determinados tipos celulares. Existen dos tipos de receptores: intracelulares y de membrana. Estos dos tipos presentan mecanismos de acción muy diferentes.

Los receptores de membrana se unen con su factor regulador específico (hormona) en la superficie externa de la célula. La unión hormona-receptor provoca un cambio conformacional en la molécula de receptor que permiten la asociación con un factor intermediario que recibe el nombre de transductor, en el que se desencadenan cambios conformacionales que pueden permitir la interacción con un enzima localizado en el lado citoplasmático de la membrana. Como resultado, se produce un cambio local en la composición del citoplasma de la célula, que da lugar a una reacción en cadena que determina la respuesta celular (Fig.B). Este proceso se conoce como transducción de la señal, y a las moléculas participantes se denominan genéricamente transductores. La mayor parte de los receptores transmiten sus señales mediante tres vías principales: la vía de la síntesis del AMP_C y la activación de la ruta de la proteína quinasa A, la vía de la síntesis del GMP_C y la activación de la ruta de la proteína quinasa G, y la vía de la activación de la hidrólisis del fosfatidil-inositol 4,5 bifosfato y la estimulación de la ruta de la proteína quinasa C. Estas rutas son muy rápidas, de manera que la respuesta celular tiene lugar en segundos o minutos.



FiguraB: Respuesta celular por vía de síntesis del AMP_C .

Los receptores citoplasmáticos o nucleares son proteínas que se localizan inicialmente en el citoplasma. La hormona que pasa al interior de la célula lo hace a través de la bicapa lipídica de la membrana plasmática debido a su carácter hidrofóbico. Una vez en el citoplasma, la vitamina D se une al receptor. Esta unión hormona-receptor produce un cambio conformacional en el receptor que hace que éste se active y empiece a funcionar como un factor de transcripción. El complejo hormona-receptor se desplaza desde el citoplasma al interior del núcleo celular a través de la membrana nuclear, a nivel de los complejos de poro nuclear, e induce la activación de la transcripción de genes concretos (Fig. C). Como consecuencia se produce la síntesis de determinados ARNs mensajero que salen al citoplasma y entran en contacto con los ribosomas donde son traducidos a proteínas, que serán el elemento efector que desencadena la respuesta celular. Los procesos mediados por receptores citoplásmicos son más lentos, debido a que se basan en procesos de síntesis, tanto de ARN como de proteínas, lo que implica un cierto tiempo de reacción que oscila entre varias horas o incluso días.

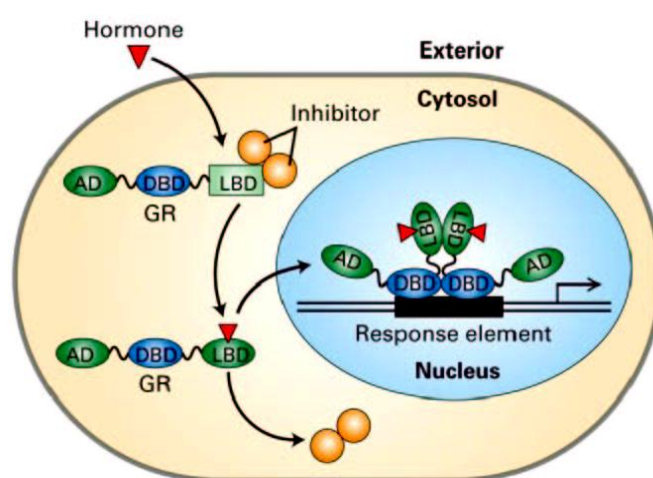


Figura C: El complejo hormona receptor activa la transcripción.

Clásicamente se había observado que la respuesta en el grado de absorción de calcio en el intestino tras la administración de la vitamina D presentaba un periodo de latencia que oscilaba entre 30 y 48 horas (Cristakos y cols 1980). Este periodo de latencia era en parte debido al proceso de activación/hidroxilación de la vitamina, por lo que podía ser reducido a 24 horas cuando se administraba 25(OH)D. Sin embargo, incluso si se administra directamente metabolito dihidroxilado a dosis altas, se mantenía un periodo de

latencia de 8-12 horas, lo que implicaba que además de la activación metabólica existía otro proceso interpuesto entre la hormona y la respuesta celular. Este periodo de latencia implicaba la existencia de un receptor intracelular. La vitamina D interacciona con su receptor nuclear y esta unión hace que el complejo pase al interior del núcleo y se una a una región concreta de la cromatina nuclea, dando lugar al inicio de la transcripción de genes concretos de esta región.

El receptor nuclear para el 1,25(OH)₂D fue descubierto en los años 70 gracias a los experimentos de marcaje radiactivo que permitieron trazar la evolución de la vitamina D (Braumbaugh y Haussler 1975, Kream y cols 1976). Cuando se administraba 1,25(OH)₂D marcado con radiactividad y se estudiaba la localización de la marca radiactiva en las células intestinales se observó que el 1,25(OH)₂D se unía inicialmente a una fracción proteínica que se localiza en el citoplasma y, posteriormente, se localiza en el núcleo celular, donde iniciaba la expresión de un gen que codifica la producción de proteína transportadora de calcio. El proceso se podía inhibir experimentalmente mediante el tratamiento con Actinomicina D, que es un inhibidor de la transcripción, y se observaba una relación lineal entre la cantidad de 1,25(OH)₂D que se inyectaba y la cantidad de proteína transportadora sintetizada por las células, lo que a su vez se correlaciona directamente con la cantidad de calcio transportado desde el espacio luminal del intestino a sangre. El incremento de la resorción ósea inducido por el 1,25(OH)₂D está mediado por un incremento en el número de osteoclastos. Las células precursoras osteoclásticas inmaduras presentan receptores para el 1,25(OH)₂D, y la unión entre el receptor y la vitamina D induce la diferenciación de estas células hacia osteoclastos maduros que inician el proceso de ruptura de la matriz extracelular, liberando calcio iónico a sangre.

La acción de la vitamina D depende por completo de la presencia del receptor. Cuando el receptor está alterado por una mutación en el gen, se produce un fallo en la respuesta, como sucede en los raquitismos vitamina D dependientes tipo II (RVDD-II). Esta enfermedad es una alteración genética del receptor de la vitamina D, por lo que la 1,25(OH)₂D se sintetiza normalmente pero no induce ninguna respuesta en las células diana. Por este motivo se denomina “raquitismo hereditario resistente al calcitriol”. Se transmite en forma

autosómica recesiva. Las manifestaciones suelen aparecer en los dos primeros años de vida, aunque se han descrito casos esporádicos leves de aparición más tardía. Además de las manifestaciones típicas del raquitismo, dos tercios de los pacientes presentan alopecia.

El receptor de la vitamina D (VDR) es un miembro de una amplia familia que incluye a los receptores de glucocorticoides, mineralocorticoides, hormonas sexuales, tiroideas y retinoides. El VDR humano está constituido por una cadena polipeptídica de 427 aminoácidos. La estructura del receptor presenta cuatro dominios funcionales, denominados dominios A/B, C, D y E/F.

La región A/B es el dominio amino-terminal y se desconoce el significado funcional exacto de esta región.

La región C corresponde al dominio de unión al DNA (DBD, *DNA binding domain*). Esta región es la más característica de los receptores nucleares, ya que es la que permite el mecanismo de acción típico de este tipo de receptores. La zona que se denomina caja P (próxima) determina la especificidad por los genes diana en la mayor parte de los receptores nucleares.

La región D se localiza en la zona central y sirve de puente entre el dominio de unión al DNA (dominio C) y el dominio de unión al ligando (dominio E/F).

La región E/F se localiza en el extremo carboxilo-terminal y contiene el dominio de unión al ligando (LBD, *ligand binding domain*). Esa región constituye un dominio multifuncional que desempeña un papel clave en la regulación de la función del receptor. La unión con el ligando produce un cambio conformacional que activa la capacidad enzimática del receptor. Esta región es capaz de interactuar con la región equivalente de otro receptor diferente para formar un heterodímero (Christakos y cols 2007, Pile y cols 2007).

Cuando el receptor se localiza en el citoplasma se encuentra unido a muchos tipos diferentes de proteínas como las proteínas de choque térmico, immunofilinas y calreticulina, formando un complejo multiproteico. La unión de estas proteínas inhibe el transporte al núcleo así como la interacción con otros

factores transcripcionales. Sin embargo, la unión de la vitamina D al receptor en la zona C-terminal induce un cambio conformacional que hace que se separen estas proteínas y ello permite tanto el dominio de unión al DNA (DUD) como el dominio de dimerización (D) queden libres. Por tanto, se puede considerar que el receptor está unido a elementos inhibidores de su acción y la unión de la vitamina tiene un efecto de desbloqueo. No obstante, la activación del receptor es un proceso complejo que incluye no sólo la separación del receptor de proteínas inhibitorias y el subsiguiente cambio estructural, sino también un proceso de modificación covalente por fosforilación. Esta última puede ser regulada por receptores de membrana y unión de diversos ligandos.

El receptor unido a la vitamina D, activado y dimerizado, se trasloca al núcleo donde se une a unos genes específicos que reciben el nombre de elementos de respuesta de la vitamina D (VDRE, *Vitamin D Response Elements*). La región que separa los tres pares de bases repetidas juega un papel determinante para la especificidad del receptor. Así, los receptores de la vitamina D, de la hormona tiroidea y del ácido retinoico reconocen secuencias directas prácticamente idénticas, pero separadas por 3,4 y 5 nucleótidos respectivamente (Rastinejad y cols 1995).

Una vez desbloqueado el receptor por la unión de la vitamina D, el dominio de dimerización (D) del receptor puede interaccionar con otra molécula de receptor en el mismo estado funcional. Algunos receptores relacionados como los de glucocorticoides, mineralcorticoides, progesterona o estradiol interaccionan con un receptor idéntico y formar un homodímero. Sin embargo, el receptor de la vitamina D no forma homodímeros, sino que interacciona con el receptor del ácido 9-cis-retinoico (RXR) y forma un heterodímero. Existen tres isoformas del receptor del ácido 9-cis-retinoico, denominadas α , β , γ . La dimerización del receptor de la vitamina D con una u otra isoforma determina la unión con diferentes elementos de respuesta en el DNA y, en último término, de diferentes respuestas biológicas de la vitamina D (Issa y cols 1998). Los heterodímeros VDR/RXR activados forman complejos con unas proteínas adicionales llamadas coactivadoras, para formar un puente con el complejo VDR/RXR que une los VDRE a las proteínas responsables de la transcripción, como la RNA polimerasa II en el lugar de comienzo de la transcripción. La

región de DNA necesaria para la formación del complejo de iniciación con la RNA polimerasa es llamada la región promotora-aumentadora. En las células eucariotas el principal promotor está localizado antes del sitio de transcripción; Los elementos aumentadores son secuencias cortas que llevan a un incremento en la tasa de transcripción de genes adyacentes. Existen también elementos silenciadores de la expresión que actúan en forma opuesta (Hausler y cols. 1997, Whitfield y cols. 1995, Hausler y cols. 1997, Liao y cols. 1990, McDonnell y cols. 1989, Baker y cols. 1988).

El receptor intracelular de la vitamina D fue localizado inicialmente en los órganos relacionados con el control del calcio; intestino, riñón, hueso y glándulas paratiroides. Sin embargo, posteriormente se ha identificado en un número muy alto de tejidos diversos, como páncreas, placenta, ovario, testículo, corazón, pulmón, órganos reproductores, cartílago o glándula pituitaria. El número de tejidos diana diferentes con receptores para la 1,25 (OH)₂-D supera los 35, lo que implica que la vitamina D presenta una diversidad funcional muy alta (Walters 1992, Lin y White 2004) y se han descrito alrededor de 50 genes que contienen en su promotor el elemento de respuesta a la vitamina D (Hannah y cols. 1994, Song y cols. 2006, Sutton y MacDonald 2003).

Las acciones de la vitamina D mediadas por un receptor de membrana son menos numerosas y también están peor caracterizadas. No obstante, la existencia de un receptor de membrana es la única explicación posible para las respuestas rápidas inducidas por la vitamina D. Se utiliza el término respuesta rápida para designar reacciones celulares desencadenadas por la 1,25 (OH)₂-D que tienen lugar en un tiempo demasiado corto (inferior a 2 minutos) para poder ser explicadas mediante el modo de acción de expresión génica (Khanal y cols. 2008, Phadnis y cols. 2003, Zhao y Nemere 2002, Sterling y Nemere 2005, Bissonnette y cols. 1995. Este tipo de respuestas rápidas han sido descritas en intestino, hígado, músculo y glándula paratiroides, principalmente. Uno de los procesos de respuesta rápida mejor estudiados es la estimulación hormonal rápida de la absorción de calcio en el intestino delgado, proceso que recibe el nombre de transcaltaquia (Sterling 2007). Este proceso no es estimulado por el receptor nuclear de la vitamina D (n-VDR) sino por un receptor de membrana (m-VDR) que está asociado con una proteína G mediadora que, a su vez,

induce la apertura de un canal de calcio. Un aspecto interesante entre los mecanismos genómicos mediados por n-VDR y los no genómicos mediados por m-VDR es la especificidad que estos dos tipos de receptores de la vitamina D muestran para distintos análogos de la vitamina. Así, análogos que tienen una alta especificidad para el n-VDR presentan una especificidad baja para el m-VDR.. Este resultado que implica que las distintas conformaciones de la vitamina podrían inducir respuestas diferentes debido a que interaccionen preferentemente con el n-VDR o el m-VDR.

En ratones knock out para VDR, o en pacientes con VDR mutado, la formación de hueso se restaura normalizando los niveles de calcio y fósforo mediante medidas dietéticas, lo que indica que las acciones genómicas directas sobre hueso pueden no ser esenciales en la regulación del recambio óseo, y que los defectos intestinales en el transporte de calcio pueden eludirse con dietas altas de calcio.

6. REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA VITAMINA D

La hidroxilación de vitamina D hacia 25(OH)D en el hígado apenas está sujeta a regulación; toda la vitamina D disponible es rápidamente hidroxilada, por lo que el nivel plasmático de 25-hidroxivitamina D₃ constituye un reflejo directo de los niveles de vitamina D obtenida bien por síntesis o por ingesta. Por el contrario, la hidroxilación renal está regulada de forma muy estricta (Fig.3).

La hidroxilación de la 25(OH)D por la 1- α -hidroxilasa para dar 1,25(OH)₂D es el paso clave de la regulación de la actividad de la vitamina D. 1- α -hidroxilasa está sujeta a un control muy estricto que genera cambios en la actividad del enzima que se traducen en variaciones en los niveles de calcitriol y, por tanto, en la actividad de la hormona. El mayor inductor de la 1- α -hidroxilasa renal es la hormona paratiroidea (PTH). La PTH estimula la activación de la adenil-ciclasa del tubo contorneado proximal, lo que produce un aumento del AMP-cíclico y éste desencadena toda la cascada que conduce al aumento de la absorción renal de calcio, secreción tubular de fosfato y producción de 1,25(OH)₂D (Habener y Potts 1990).

La actividad del enzima 1- α -hidroxilasa para dar 1,25(OH)₂D está influenciada por los niveles de fosfato y calcio. Cuando son bajos se produce un incremento de la actividad del enzima, si son altos se produce una inhibición. La hipofosfatemia aumenta la actividad de la 1- α -hidroxilasa renal de forma directa. Estudios experimentales han demostrado que si a ratas deficientes en vitamina D se las somete a una ablación de la glándula paratiroides se observa una notable disminución en la síntesis de 1,25(OH)₂D. El tratamiento de estas ratas tiroparatiroidectomizadas con hormona paratiroidea exógena induce la recuperación los niveles basales (Garabedian y cols. 1972). Asimismo, si las ratas tiroparatiroidectomizadas son alimentadas con una dieta rica en calcio y pobre en fósforo, se produce también un aumento en la síntesis de 1,25(OH)₂D. Estos resultados son extrapolables a humanos ya que se ha demostrado que en humanos sanos la restricción de fósforo da lugar a que los niveles séricos de 1,25(OH)₂D aumenten un 80% por encima de los valores basales, mientras que

los suplementos de fósforo en la dieta producen el efecto contrario. Estas variaciones inducidas por el fósforo de la dieta se correlacionan con cambios en la síntesis y no con alteraciones en el aclaramiento (Portale y cols. 1986). Estos resultados implican que el fósforo sérico es un factor determinante en la regulación de la actividad de la 1- α -hidroxilasa.

La hipocalcemia tiene un efecto activador de la 1- α -hidroxilasa a través de mecanismos directos e indirectos. Por un lado, los niveles bajos de calcio activan directamente el enzima en el riñón. Por otro lado, estos bajos niveles activan la secreción de la hormona paratiroidea que, a su vez, activa a la 1- α -hidroxilasa renal. Por tanto, la hipocalcemia tiene un doble efecto activador de la 1- α -hidroxilasa a través de dos mecanismos distintos. Además, los niveles de 1,25(OH)₂D se regulan a sí mismos mediante un mecanismo de retroalimentación negativa (*feed back*). Cuando los niveles de 1,25(OH)₂D son altos, éstos disminuyen la actividad de la 1- α -hidroxilasa mediante un doble mecanismo que incluye una acción inhibidora directa sobre las células renales y una segunda acción, en este caso indirecta, consistente en la inhibición de la secreción de la glándula paratiroides, lo que produce un descenso de la hormona paratiroidea y éste se traduce en una bajada de la actividad del enzima en las células renales.

Aunque la PTH y los niveles de calcio y fosfatos son los elementos principales de la regulación de la producción renal de 1,25(OH)₂D, existen otros factores reguladores como las hormonas sexuales y la prolactina. Se produce un aumento en la síntesis de 1,25(OH)₂D durante determinadas fases caracterizadas por necesidades de calcio más altas, como ocurre durante el embarazo y la lactancia, así como durante las fases de crecimiento esquelético rápido asociadas a la adolescencia (Haussler y McCain 1977). Los estrógenos, la prolactina y la hormona de crecimiento asociados a estas fases aumentan la producción renal de 1,25(OH)₂D (Adams y cols 1979). El mecanismo de acción no es perfectamente conocido, ya que en circunstancias normales, por sí solas, estas hormonas no parecen aumentar la producción de 1,25(OH)₂D. Así, mujeres jóvenes con anorexia nerviosa presentan déficit de estrógenos y, sin

embargo, la concentración de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ no está disminuida de forma significativa (Rigotti y cols. 1984). Asimismo, durante la fase de maduración sexual de los niños se produce un aumento de los niveles de testosterona que no se correlaciona con alteraciones en los niveles de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (Krabbe y cols. 1986). Sin embargo, la disminución de los niveles de estrógenos asociada a la menopausia sí se correlaciona con una disminución de la producción renal de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ y el tratamiento con estrógenos inducen una recuperación parcial de los niveles de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (Riggs y cols 1978). Estos resultados implican que estas hormonas no actúan de forma aislada sino que deben interaccionar con otros factores.

Existen dos formas diferentes del enzima 1α -hidroxilasa. Una de ellas es la mayoritaria y se localiza en las células epiteliales del tubo contorneado proximal. Este isoenzima presenta las características descritas, es estimulado por la hormona paratiroidea a través de un mecanismo que implica al AMPc. La segunda isoforma se localiza específicamente en la *pars recta* del asa de Henle y presenta un mecanismo de regulación diferente, en el que la actividad enzimática estimulada por la calcitonina mediante un proceso que no requiere AMPc. Se ha descrito que la 1α -hidroxilasa de la *pars recta* del asa de Henle puede ser muy importante para la producción de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ durante la etapa fetal, en la que los niveles de la hormona paratiroidea son muy bajos. Existen algunas mutaciones en el gen de la 1-alfa-hidroxilasa renal que dan lugar a un enzima inactivo. Cuando esto sucede ocurre una enfermedad que recibe el nombre de raquitismo dependiente de la vitamina D tipo I (RVDD-I). Esta enfermedad se transmite con la herencia de forma autosómica recesiva y se manifiesta en los dos primeros años de vida. Se puede tratar con la administración de dosis fisiológicas de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

Un hecho destacable fue observar que algunas enfermedades se asociaban con una producción anormalmente alta de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ lo que, a su vez, daba lugar a una elevada absorción intestinal de calcio que causaba hipercalcemia e hipercalciuria. Este era el caso de enfermos con sarcoidosis, tuberculosis, silicosis o enfermedades fúngicas (Henneman y cols. 1956),

Inicialmente se pensó que el aumento de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ en estas enfermedades se debía a una alteración a nivel de la regulación renal, sin embargo el hallazgo de que enfermos anéfricos con sarcoidosis presentaban niveles elevados de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ indujo a pensar que la hidroxilación de la $25(\text{OH})\text{D}$ para dar $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ podía tener lugar también en otros órganos además del riñón (Barbour y cols 1981). La síntesis extrarrenal de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ fue demostrada posteriormente en varios órganos, principalmente en la piel, los ganglios linfáticos, los hueso y la placenta. (Lo y cols. 1985, Gray y cols. 1979, Howard y cols. 1981, Bilde y cols). Asimismo, se demostró que los mecanismos que controlan la producción extrarrenal de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ son muy diferentes a los del riñón. La producción de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ extrarrenal es estimulada por citoquinas como el interferón- γ y el factor de necrosis tumoral (TNF), mientras que apenas es influenciada por los niveles de PTH, calcio y fosfatos.

Una vez que la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ha sido sintetizada en el riñón, se vuelve a unir a la proteína plasmática de transporte y es liberada a la sangre para alcanzar los órganos diana, que son fundamentalmente el intestino delgado, el hueso y las glándulas paratiroidéas, donde interacciona con un receptor y da lugar a una serie de respuestas biológicas. La vitamina permanece unida al receptor un cierto tiempo y luego es degradada. La degradación de la vitamina D constituye también un aspecto clave en la regulación de esta hormona. Se han identificado más de 35 metabolitos de la vitamina D, todos originados a partir del $25(\text{OH})\text{D}$, que son considerados como productos de degradación de la vitamina D, aunque algunos pueden tener actividad fisiológica.

Un aspecto muy relevante para la regulación de la actividad de la vitamina es que la $25(\text{OH})\text{D}$ puede ser el sustrato para varias enzimas hidroxilasa diferentes que puede dar lugar a distintos productos con diferente actividad. El proceso de hidroxilaciones asociada a la vitamina D constituye un complejo sistema que juega un papel relevante en el establecimiento de los niveles de actividad de la vitamina D.

Cuando la 25(OH)D llega al riñón puede unirse a la 1α -hidroxilasa y dar 1,25-(OH)₂D, que es el principio activo. Sin embargo, la 25(OH)D puede unirse también a otro enzima hidroxilasa que igualmente se localiza en las células del túbulo renal que en lugar de hidroxilar el C1 hidroxila el C24, dando lugar a 24,25-(OH)₂D. Este enzima se denomina 25(OH)D-24R hidroxilasa, de forma resumida, la 24R hidroxilasa y es considerado como el primer paso en la vía de la desactivación de la vitamina D.

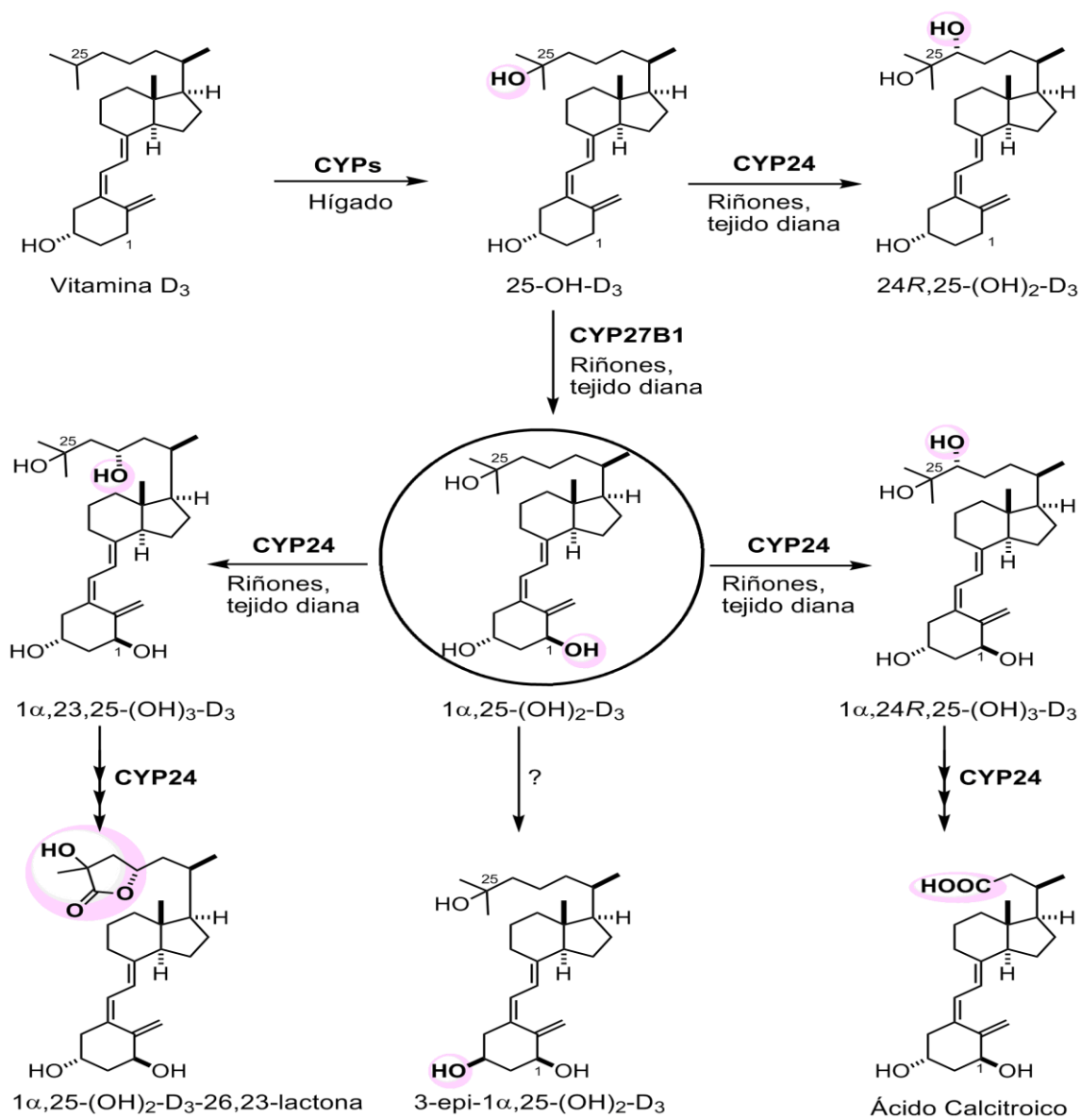
Las actividades de la 24R-hidroxilasa y de la 1α -hidroxilasa están conectadas de forma muy estrecha, lo que implica una estricta coordinación entre las vías de activación y de desactivación de la vitamina D. Al igual que 1α -hidroxilasa, la 24-hidroxilasa es un complejo enzimático formado por tres componentes: ferredoxina reductasa, ferredoxina y citocromo P450. De estos tres componentes, los dos primeros son los mismos que los de la 1α -hidroxilasa, y sólo es específico el citocromo P450. Por tanto, hay dos citocromos, citocromo P450- 1α y citocromo P450-24R, mientras que la ferredoxina reductasa y la ferredoxina son compartidas de forma conjunta por los dos enzimas.

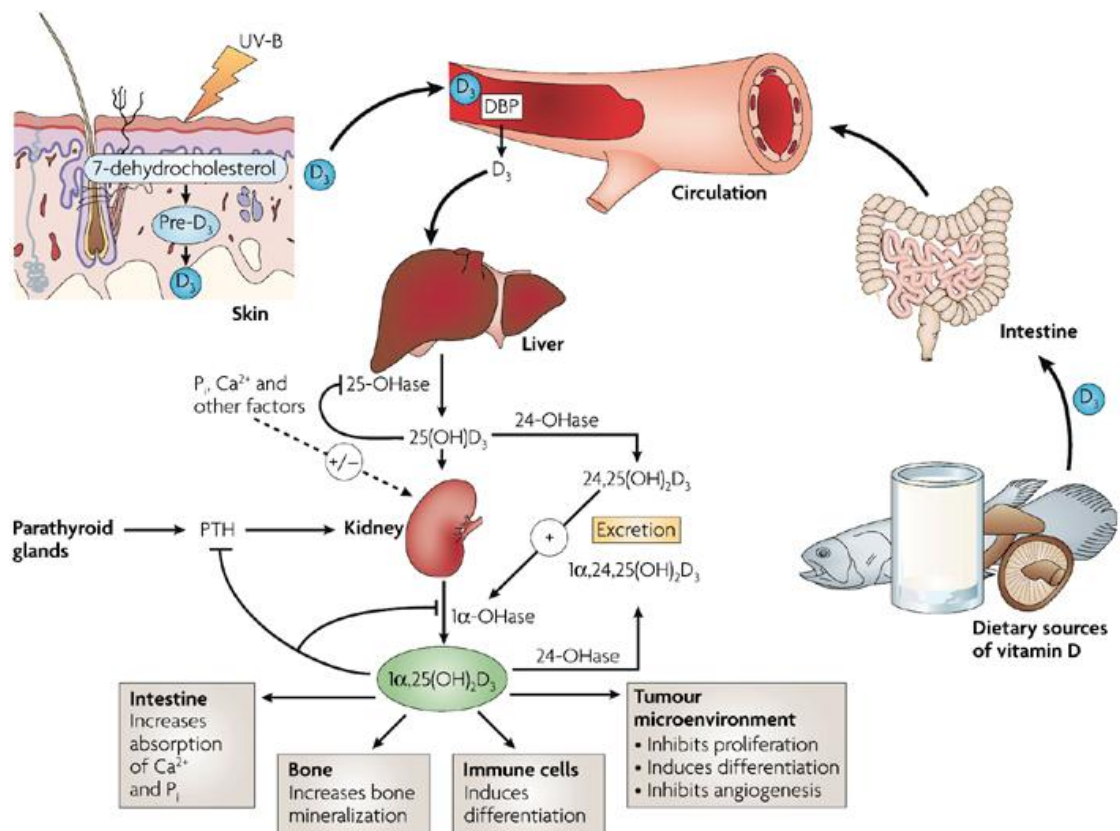
La existencia de niveles altos de hormona paratiroidea tiene como consecuencia la elevación de los niveles de AMPc. Estos niveles incrementados de AMPc activan la ferredoxina produciendo su desfosforilación. lo que conlleva la síntesis de 1,25(OH)₂D. Por el contrario, cuando los niveles de calcio son altos, éstos activan la fosforilación de la ferredoxina que paraliza la síntesis de 1,25(OH)₂D y activa la producción de 24,25(OH)₂D. Por tanto que la 25(OH)D que llega al riñón se convierta en 1,25(OH)₂D o en 24,25(OH)₂D depende de la desfosforilación o fosforilación de la ferredoxina.

El enzima 1α -hidroxilasa que produce la forma activa actúa como activador de la expresión del enzima que produce la forma inactiva ó 24R-hidroxilasa. Esto constituye un mecanismo de autocontrol por *feedback* negativo.

La 24R-hidroxilasa se expresa fundamentalmente en el túbulo renal, pero su distribución tisular es amplia ya que está también presente en células de la mucosa intestinal, condrocitos y queratinocitos y fibroblastos de la piel. Aunque se considera que la hidroxilación en C2 constituye el primer paso para la degradación tanto de 25(OH)D como de 1,25(OH)₂D, los productos hidroxilados en el C24 pueden tener cierta actividad y participar en algunos procesos fisiológicos, especialmente el desarrollo óseo. La 24,25(OH)₂D, al igual que la 25(OH)D, tiene un efecto antagónico al calcitriol, incrementando el paso de calcio plasmático a matriz ósea y, por tanto, favoreciendo la mineralización (Bordier y cols. 1978).

La 25(OH)D también puede ser hidroxilada en el C26 para formar el 25,26-(OH)₂D, cuya concentración en sangre es también un reflejo de la situación nutricional de 25(OH)D en el hombre. La 25,26-(OH)₂D tiene una bioactividad baja, pero puede ser hidroxilada en C1 en el riñón, dando lugar a 1,25,26-(OH)₃D, cuya acción es casi equivalente a la 1,25(OH)₂D. Asimismo, la 25(OH)D puede ser hidroxilada en C23, dando a 23,25-(OH)₂D que se oxida y da lugar a 25-hidroxivitamina D,-23,26-lactona, que es un compuesto que se identifica en suero de pacientes que han recibido dosis farmacológicas de vitamina D. Este compuesto no parece tener actividad, aunque es destacable que se une a las proteínas transportadoras plasmáticas con una afinidad del orden de 5-7 veces más alta que la propia 25(OH)D, (Long y cols 1976). La 1,25-(OH)₂-D también puede hidroxilarse en C23 y C26, lo que da lugar a la aparición de un producto, la 1,25(OH)₂D-23,26-lactona o calcitriollactona, que es capaz de interaccionar con el receptor nuclear del calcitriol (VDR) y actúa como un antagonista. El calcitriol, asimismo, puede isomerizarse y transformarse en 3-*epi*-calcitriol, un metabolito con acción biológica significativa y que es más resistente al catabolismo que el propio calcitriol, por lo que tiene una vida media más alta y un efecto más prolongado.





Nature Reviews | Cancer

Figura D

En la figura D se representa un resumen general de las fuentes, hidroxilaciones sucesivas, interacciones enzimáticas y acciones pleiotrópicas de la vitamina D.

II. OBJETIVOS

El objetivo general del presente trabajo es aportar nuevos conocimientos sobre el significado funcional de la vitamina D. Dentro de este marco general, nuestro estudio se ha centrado en determinar si el nivel de vitamina D en el organismo tiene algún efecto sobre la actividad funcional de los pacientes y sobre el padecimiento de dolor músculo-esquelético difuso en las mujeres adultas. Para desarrollar este objetivo general descrito hemos establecido los siguientes objetivos específicos:

1. Caracterizar los niveles séricos de la vitamina D en una muestra amplia de pacientes constituida por mujeres adultas que acudían a consulta al servicio de traumatología del hospital de Cabueñes de Gijón.
2. Establecer una pauta de dosificación de vitamina D para restablecer los niveles adecuados en los pacientes con déficit de la vitamina.
3. Determinar si la recuperación de niveles adecuados de vitamina D en los pacientes se correlaciona con mayor capacidad funcional.
4. Comprobar si el restablecimiento de niveles adecuados de vitamina D en los pacientes se correlaciona con una mejoría del dolor músculo-esquelético difuso.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Para alcanzar los objetivos planteados se realizó un estudio clínico estructurado en tres partes consecutivas:

1. Estudio descriptivo de la población.
2. Estudio epidemiológico analítico no experimental.
3. Estudio clínico controlado prospectivo.

Antes del inicio del estudio clínico controlado todos los participantes firmaron una hoja de consentimiento en la que se explicaban las características del estudio, los tratamientos que iban a realizar, así como de los riesgos que podrían conllevar.

Además, se les hizo entrega de otro documento en el que se les explica cuáles son las condiciones para realizar los análisis sanguíneos y archivo de los mismos en seroteca.

1.1. Estudio descriptivo de la población

Nivel de 25 OH D en 300 pacientes que presentan dolor oseo difuso

107 en el verano y 193 en el invierno

La primera parte del estudio consistió en un análisis descriptivo de tipo observacional para caracterizar el nivel de vitamina D en la población. Se realizaron determinaciones en plasma de 25(OH)D por ser esta molécula el marcador más preciso para establecer el estatus de vitamina D en el organismo. Aunque la 1,25(OH)₂D es el principio activo, esta molécula no es útil para establecer el nivel orgánico de vitamina D ya que el riñón controla de forma muy estrecha su nivel en plasma de manera que los niveles de 1,25(OH)₂D pueden ser normales o incluso elevados en casos de deficiencia de vitamina D (Cannell y cols 2008).

Las muestras de esta parte del estudio fueron tomadas de pacientes del Servicio de Traumatología del Hospital de Cabueñes de Gijón que

acudían a consulta por dolor osteomuscular difuso. Se realizaron analíticas en un total de 300 pacientes, en su inmensa mayoría mujeres. La edad se comprende en un rango de 30 a 80 años. Procedentes de ambiente laboral, de geriátricos, amas de casa, de la planta de Traumatología donde sufrieron intervenciones quirúrgicas, tras sufrir fracturas, etc.

Todos los análisis sanguíneos fueron realizados en el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital de Cabueñes siguiendo la metodología descrita en un apartado posterior.

Dada la marcada interrelación entre los niveles plasmáticos 25(OH)D y la intensidad de la irradiación solar, se tuvo en cuenta el periodo estacional en el que se realizó la toma de cada muestra. Siguiendo la metodología habitual en los trabajos relacionados con la vitamina D, se consideraron dos periodos, uno de alta irradiación solar comprendido entre los meses de abril a septiembre (que denominaremos verano) y uno de baja irradiación solar, que comprendía los meses de octubre a marzo (denominado invierno). Un total de 107 determinaciones fueron realizadas entre los meses de abril a septiembre, esto es, en el periodo de alta irradiación solar mientras que el resto, 193, fueron realizadas en los meses de octubre a marzo, en el periodo de baja irradiación solar. Los pacientes fueron estudiados en uno u otro periodo de forma indistinta dado que este primer estudio tenía como objetivo determinar las características de la población en distintas condiciones de irradiación solar. Por tanto, que un paciente fuese examinado en un periodo u otro dependió únicamente de motivos de agenda. En estas condiciones, las muestras tomadas en los dos diferentes periodos serían homogéneas entre sí y la posible variación en los niveles plasmáticos de 25(OH)D entre ellas sería achacable únicamente a la variación estacional.

Como el estudio incluía en un paso siguiente la realización de un análisis clínico controlado consistente en determinar el efecto del tratamiento con vitamina D a lo largo de un periodo de tiempo prolongado en el que las condiciones de irradiación solar no permanecían constantes, se utilizó una técnica estadística de estimación de coeficientes de ajuste estacional consistente en hallar la media global y las medias parciales en cada una de las

estaciones. El coeficiente de ajuste para una determinada estación se obtiene dividiendo la media de esa estación por la media global. Los valores obtenidos para cada paciente en una determinada estación se multiplican por el coeficiente de ajuste de esa estación y se obtiene así un valor teórico interestacional que estaría libre de variación estacional. La aplicación de estos coeficientes correctores permite realizar comparaciones y evaluar la respuesta al tratamiento a lo largo de los distintos meses del año con distinto grado de irradiación solar.

Teniendo en cuenta que la vitamina D juega un papel crítico en la regulación tanto de los niveles plasmáticos de calcio como de la secreción de PTH, estas dos moléculas fueron también determinadas en las muestras. Debido a la posible existencia de variación estacional, se utilizó la misma técnica de estimación de coeficientes de ajuste estacional y obtención de valores teóricos libre de variación estacional.

1.2. Estudio epidemiológico analítico no experimental

Cuantificación del dolor

- ≥ 4 -con nivel normal de vitamina

-con nivel $< 20\text{ngr/ml}$ de 25 OH D

- ≤ 3 , con nivel normal o descendido de vitamina

Una vez realizado el análisis descriptivo para caracterizar el nivel de vitamina D en la población, se realizó un análisis no experimental, de tipo caso control, en el que los pacientes fueron divididos en dos grupos atendiendo al padecimiento o no de dolor músculo-esquelético difuso (widespread pain de los ingleses). Como se explica más detalladamente en un apartado posterior, en todos los pacientes del estudio se evaluó el grado de dolor mediante la utilización de una escala visual analógica (EVA) combinada con un conjunto de números de cero a diez, donde cero representaba la ausencia total de dolor y diez su mayor intensidad. Sobre esta escala, se pidió al paciente que seleccionara el número entre 0-10 que mejor reflejara la intensidad de su dolor.

Los pacientes cuya valoración de dolor músculo-esquelético difuso fue de 3 o menos fueron considerados dentro del grupo dolor (-) mientras que los pacientes cuya valoración de dolor músculo-esquelético difuso fue de 4 o más fueron considerados dentro del grupo dolor (+). Se obtuvieron así dos grupos de pacientes, uno dolor-positivo y el otro dolor-negativo. Se calculó en cada uno de estos dos grupos el valor plasmático medio de vitamina D y el porcentaje de pacientes que presentaban déficit de vitamina con el objeto de determinar si el nivel de vitamina D es un factor subyacente a la presencia de dolor músculo-esquelético difuso y los valores obtenidos para cada grupo fueron comparados mediante análisis estadístico.

1.3. Estudio clínico controlado prospectivo

Cumple criterios de inclusión: si dolor ≥ 4 con nivel vitamina < 20

Algunos pacientes seleccionados no quieren participar

Pacientes seleccionados con bajo nivel de colaboración (criterio de exclusión)

Entran en el estudio 91 pacientes

Esta parte del estudio consistió en un análisis clínico controlado, aleatorio y prospectivo para valorar la eficacia de la suplementación de vitamina D en la mejoría del dolor músculo-esquelético difuso y la actividad funcional muscular. El criterio de inclusión para esta parte del estudio fue que los pacientes presentasen dolor músculo-esquelético difuso, es decir, los pacientes que participaron en esta parte del estudio fueron los pacientes con una valoración de dolor músculo-esquelético difuso de 4 o más, lo que se corresponde con uno de los grupos definidos en el estudio epidemiológico analítico no experimental. Dentro de este grupo de trabajo seleccionado y que cumplía los criterios de inclusión un pequeño porcentaje rehusó a participar en el estudio. Otro pequeño grupo se excluyó por actitud rentista, alteraciones seniles, bajo entendimiento,

etc. Así el número de pacientes que realizaron el estudio fue de 91. Los pacientes fueron divididos aleatoriamente en tres grupos:

- A. Tratados con vitamina D (Hidroferol), n=31 pacientes.
- B. Tratados con vitamina D complementada con calcio (Ideos), n=30 pacientes.
- C. Tratados con vitamina D complementada con el difosfonato (ácido alendronico) (Adrovanse 5600), n=30 pacientes.

En el presente estudio se decidió no incluir un grupo de pacientes tratados con placebo por varios motivos.

Un primer motivo era según nuestro modo de trabajo imposible ocultar la administración de placebo, puesto que el tratamiento se adquiriría en farmacia externa al centro de trabajo.

El segundo motivo era de tipo ético, ya que los pacientes incluidos en este estudio eran personas con un grado de dolor considerable y normalmente de edad avanzada a los que suponía un esfuerzo importante desplazarse hasta el hospital de forma repetida, tal como implicaba el protocolo de estudio. En estas condiciones, requerir de los pacientes un esfuerzo considerable sin que existiese ninguna posibilidad de mejoría en su salud resultaba poco adecuado.

Un tercer motivo es de índole metodológico, la variable de referencia que consideramos para estudiar la variación asociada del resto de parámetros eran los niveles plasmáticos de 25(OH)D. Los tratamientos tenían como objeto subir los niveles plasmáticos de 25(OH)D y el objetivo central del estudio era analizar la correlación entre la variación de 25(OH)D con el resto de parámetros (dolor, capacidad funcional).

El cuarto motivo es que también se correlacionan las variables en el tiempo, en varias visitas. En estas condiciones la existencia de un grupo placebo en el que no habría variaciones significativas en los niveles plasmáticos de 25(OH)D no era necesario.

Por tanto, todos los pacientes recibieron un tratamiento que inducía una subida de los niveles de 25(OH)D, si bien el grado de elevación podía variar considerablemente de unos pacientes a otros y esa variabilidad fue base para estudiar la correlación con otros parámetros.

A cada paciente se le aplicó un protocolo de estudio que constó de 7 citas sucesivas a lo largo de un tiempo total de 6 meses en las que se iba realizando distintas pruebas y análisis de acuerdo a la pauta que se especifica a continuación. La toma de todos los datos incluidos en el protocolo de valoración del programa, fue llevado a cabo siempre por el mismo médico y una misma ATS y los datos fueron incluidos en una ficha de registro individual para cada participante dentro de una base de datos.

Cita 1

1. Realización de un cuestionario médico que incluía:

Datos de filiación. Antecedentes familiares de osteoporosis artrosis u otras enfermedades oseas en progenitores y hermanos. Antecedentes personales de dolor músculo esquelético difuso o localizado. Intervenciones quirúrgicas. Toma de Medicación. Menopausia. Horas de sueño.

2. Datos antropométricos: altura, peso y porcentaje de grasa corporal.

3. Valoración funcional mediante el test *Stand Up* (Prueba de levantarse de la camilla). Con un cronómetro se midió el tiempo en el que el paciente pasaba de estar tumbado en la camilla a incorporarse completamente.

4. Registro de pruebas de imagen que hubiera realizado el paciente

Cita 2

1. Entrega de consentimiento para estudio y firma del mismo tras explicación

2. Relación de hábitos tóxicos. Consumo de alcohol y tabaco.

3. Valoración de la escala de función física.

Para realizar esta valoración, los pacientes completaron un cuestionario correspondiente a la versión española del *Fibromyalgia Impact Questionnaire* (FIQ 11) (Tabla 1) (Rivera y González 2004, Esteve-Vives y cols 2007). El cuestionario estaba constituido por 11 preguntas de su actividad cotidiana en las

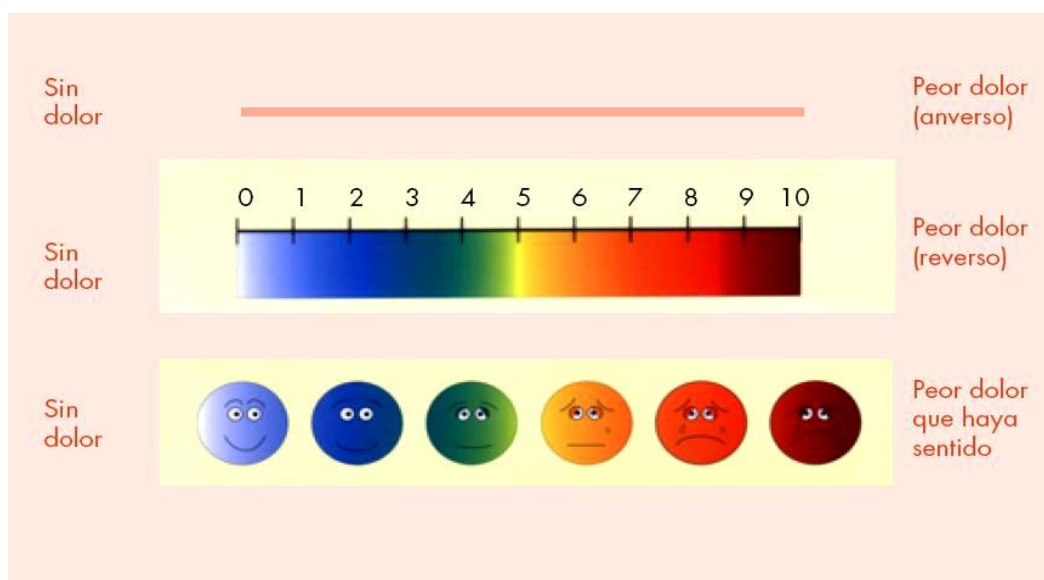
que los pacientes deben elegir entre 4 posibles respuestas: siempre, la mayoría de las veces, ocasionalmente y nunca. A las preguntas contestadas con “siempre” se las asigna 3 puntos, las contestadas con “la mayor parte de las veces” se las asigna 2 puntos, las contestadas con “ocasionalmente” se las asigna 1 punto y las contestadas con “nunca” se las asigna 0 puntos. La valoración del test podía fluctuar entre un máximo de 33 puntos y un mínimo de 0 puntos.

Tabla 1: Cuestionario para la valoración de la escala de función física.

	Siempre	La mayoría	Ocasionalmente	Nunca
Hacer la compra				
Hacer la colada con la lavadora				
Cocinar				
Lavar platos-utensilios de cocina				
Hacer la cama				
Caminar por la calle manzanas.				
Visitar amigos o parientes.				
Pasar la fregona o la aspiradora				
Conducir				
Subir escaleras				
Cuidar plantas o jardín				

3. Valoración de la escala de dolor músculo-esquelético difuso.

Para realizar esta valoración se utilizó una escala visual analógica (EVA) combinada con un conjunto de números de cero a diez, donde cero representaba la ausencia total de dolor y diez su mayor intensidad. Sobre esta escala, se pidió al paciente que seleccionara el número entre 0-10 que mejor indique la intensidad de su dolor.



Los pacientes cuya valoración de dolor músculo-esquelético difuso fue de 3 o menos fueron considerados dentro del grupo dolor (-). Los pacientes con cuya valoración de dolor músculo-esquelético difuso fue de 4 o más fueron considerados dentro del grupo dolor (+). Estos últimos fueron divididos de forma aleatoria en los cuatro grupos de pacientes descritos anteriormente para la realización del estudio clínico controlado prospectivo.

4. Registro de muestra sanguínea.

Se realizó en el laboratorio de Cabueñes, no precisa estar el paciente en ayunas pero si ha de ser congelada la muestra inmediatamente pasando a formar parte de seroteca donde se registran los tubos por orden alfabético de apellidos.

Cita 3

1. Valoración de los resultados de la analítica sanguínea. 2. Elección de los tratamientos (3 tipos)

Cita 4

2º Análisis de los pacientes para ver su evolución con el tratamiento. Se solicita:.

1. Valoración funcional mediante el test *Stand Up*
2. Valoración de la escala de función física mediante el cuestionario FIQ.
3. Valoración de la escala de dolor.
4. Extracción de muestra sanguínea.

Cita 5

1. Valoración de los resultados de la 2ªanalítica sanguínea
2. Pauta de tratamiento de mantenimiento (sin asociar choques)

Cita 6

Solicitud de 3ª analítica (Calcio, 25 OH D y Parthormona intacta) para ver evolución con el tratamiento.

1. Valoración funcional mediante el test *Stand Up*
2. Valoración de la escala de función física mediante el cuestionario FIQ11
3. Valoración de la escala de dolor.
4. Extracción analítica sanguínea.

Cita 7

1. Valoración de los resultados de la analítica sanguínea.
2. Decisión de una pauta personalizada de mantenimiento para siempre.
Que en menores de 55 años fueron 20000UI al mes de hidroferol y en mayores de 30000UI.

2. TRATAMIENTOS

Como ya se ha descrito, los pacientes que participaron en el estudio clínico controlado prospectivo fueron divididos en tres grupos.

- A. Tratados con vitamina D (Hidroferol), n=31 pacientes.
- B. Tratados con vitamina D complementada con calcio (Ideos), n=30 pacientes.
- C. Tratados con vitamina D complementada con el difosfonato ácido alendronico (Adrovanse 5600), n=30 pacientes.

1. Tratamiento con Hidroferol. El Hidroferol contiene como principio activo calcifediol, también llamado calcidiol ó 25 OH D. Existen 2 presentaciones, la ampolla de choque y la ampolla de 0,266 La pauta de administración en este grupo consistió en una primera dosis de choque que contiene 100.000 UI de vitamina D3 al inicio del estudio. Al cabo de un mes se administró una ampolla de 0,266 con 10.000 UI de calcifediol, dosis que se repitió cada 2 semanas hasta el final del estudio.

2. Tratamiento con Ideos Unidia. El Ideos Unidia contiene colecalciferol y carbonato de calcio. Se administró a los pacientes un sobre diario que contiene 880 UI de vitamina D3 y 1000 mg de carbonato de calcio durante el periodo de estudio. También se añadió un choque inicial de hidroferol.

3. Tratamiento con Adrovanse 5600. El Adrovanse contiene como principio activo colecalciferol acompañado del alendronato, que es un inhibidor de la resorción ósea. El tratamiento consistió en un comprimido semanal, contenía 70 mg de alendronato y 5600 UI de vitamina D3. Inicialmente también se asoció 1 ampolla de hidroferol choque

3. MÉTODOS ANALÍTICOS

Los niveles plasmáticos de 25(OH)D fueron determinados usando un autoanalizador Cobas e 411 (ROCHE) mediante un inmunoensayo electroquimioluminiscente [Vitamin D3 (25 OH), cobas[®] ROCHE] consistente en una técnica competitiva en la que en una primera incubación la vitamina D3 de la muestra compite con la vitamina D3 unida a biotina del complejo biotina-vitamina D3-anticuerpo monoclonal específico anti-Vitamina D3 marcado con rutenio. En una segunda incubación se incorporan micropartículas recubiertas de estreptavidina, fijando el complejo formado a la fase sólida mediante la interacción biotina – estreptavidina. El límite de detección es de 4 ng/mL y la imprecisión interdía es de 9.9% y 6.6% a niveles plasmáticos de 25.2 ng/mL y 74.2 ng/mL, respectivamente.

Los niveles plasmáticos de PTH fueron determinados usando un autoanalizador Cobas e 411 (ROCHE) y el empleo de un inmunoensayo electro-quimioluminiscente (ECLIA) (PTH, cobas[®] ROCHE) consistente en una técnica sandwich que emplea en una primera incubación un anticuerpo monoclonal biotinilado específico anti-PTH y un anticuerpo monoclonal específico anti-PTH marcado con un quelato de rutenio. En una segunda incubación se incorporan micropartículas recubiertas de estreptavidina, fijando el complejo formado a la fase sólida mediante la interacción biotina – estreptavidina. El límite de detección es de 1.20 pg/mL y la imprecisión interdía es de 6.5% y 2.6% a niveles plasmáticos de 26.7 pg/mL y 676 pg/mL, respectivamente.

Los niveles plasmáticos de calcio fueron determinados mediante un test colorimétrico enzimático de punto final con o-cresolftaleína complexona en medio alcalino (SIEMENS) con lectura en autoanalizador ADVIA 2400, SIEMENS.

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó usando el programa estadístico SPSS versión 11.5. Todos los datos obtenidos en los pacientes fueron sometidos a un test de Kolmogorov–Smirnov para confirmar la normalidad. Las comparaciones entre grupos fueron realizadas mediante un análisis ANOVA y una prueba de Tukey al 95% de confianza. La evaluación del nivel de correlación entre dos variables se realizó mediante el cálculo de los coeficientes de correlación de Pearson. El nivel de significación estadística que se empleó en todos los casos fue de $p < 0.05$.

IV. RESULTADOS

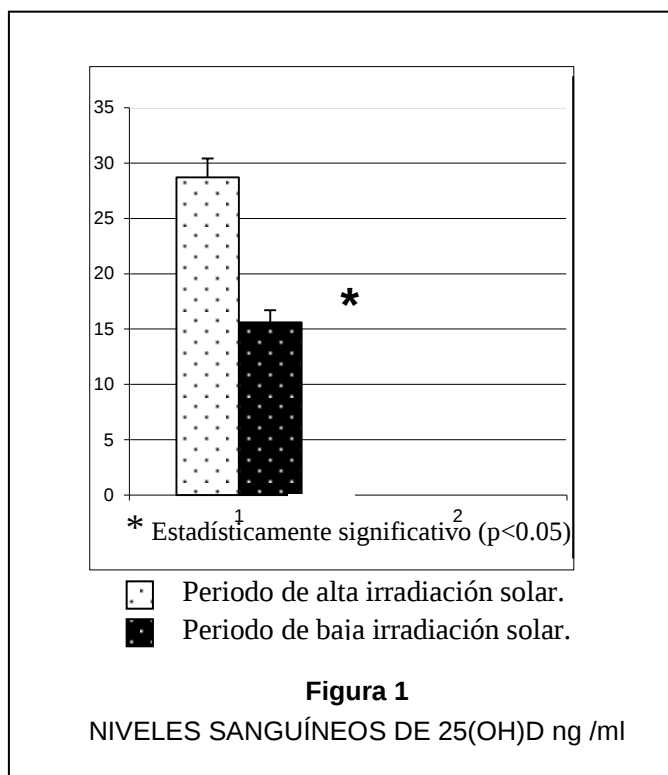
1. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA POBLACIÓN

1.1. Niveles sanguíneos de 25(OH)D.

La primera parte del presente estudio consistió en un análisis amplio de los niveles de 25(OH)D en la población del área sanitaria del Hospital de Cabueñes. Como se ha señalado en el apartado de “Pacientes y Métodos”, para este estudio se utilizó una muestra de pacientes del Servicio de Traumatología que acudían a consulta con patologías variadas. La muestra consistió en un total de 300 pacientes a los que se tomaron muestras de sangre y se realizó la determinación de los niveles plasmáticos de 25(OH)D en el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital de Cabueñes siguiendo la metodología ya descrita. Dada la interrelación entre los niveles plasmáticos 25(OH)D y la intensidad de la irradiación solar, se tuvo en cuenta el periodo estacional en el que se realizaron las determinaciones. Siguiendo la metodología habitual en los trabajos relacionados con la vitamina D, se consideraron dos periodos, uno de alta irradiación solar comprendido entre los meses de abril a septiembre (verano, 107 determinaciones) y un de baja irradiación solar, que comprendía los meses de octubre a marzo (invierno, 193 determinaciones). Los pacientes fueron estudiados en uno u otro periodo de forma indistinta dado que este estudio tenía como objetivo determinar las características de la población en distintas condiciones de irradiación solar. Por tanto, que un paciente fuese examinado en un periodo u otro dependió únicamente de motivos de agenda. Como se ha señalado, en estas condiciones, las muestras tomadas en los dos diferentes periodos son homogéneas entre sí y las variaciones en los niveles plasmáticos son achacables únicamente a la variación estacional.

Los resultados de este estudio (Figura 1) demostraron que los niveles plasmáticos de 25(OH)D variaban significativamente ($p < 0,05$) entre el periodo de alta irradiación solar, cuando alcanzaron niveles medios de 28.7 ± 6.2 ng/ml, y el periodo de baja irradiación solar, donde bajaron hasta 15.6 ± 4.8 ng/ml, lo que supone un descenso de 45.6%. Dado que según la estructura de la muestra esta variación sólo puede ser achacable a la variación estacional, un primer resultado de este trabajo es que a pesar de una edad media de pacientes estudiados relativamente elevada (72,7 años), los niveles plasmáticos de

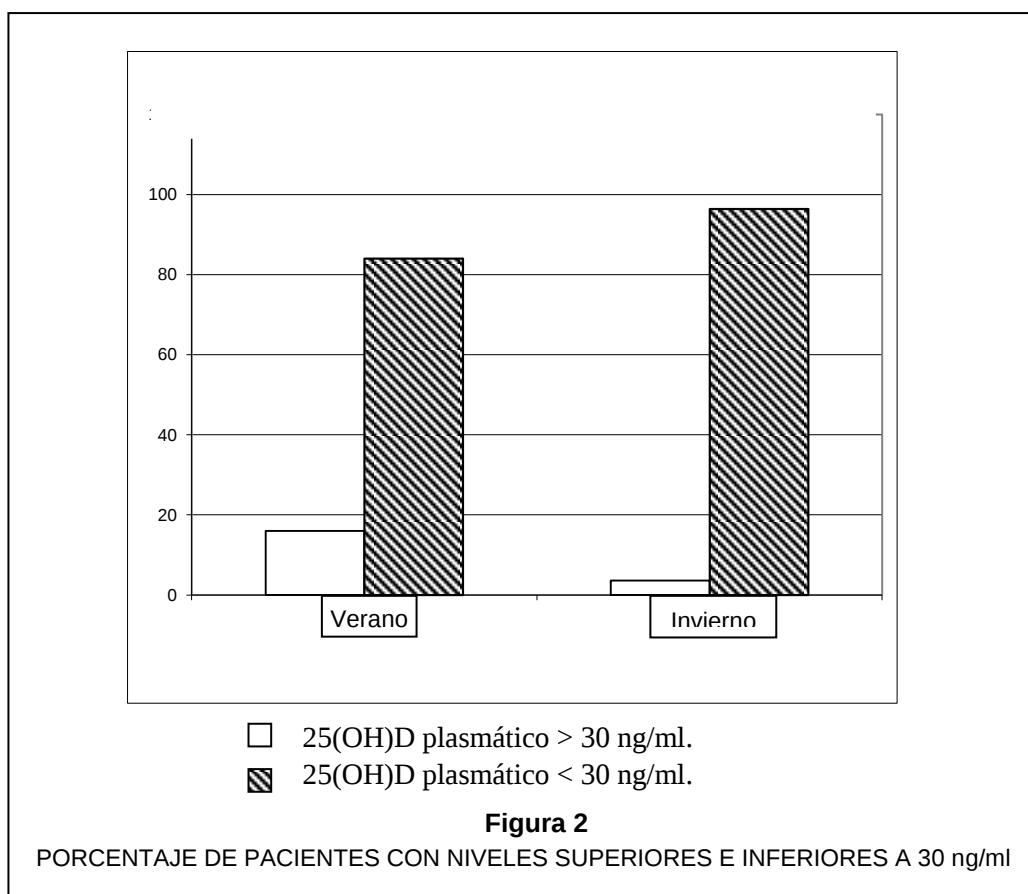
25(OH)D tienen una gran dependencia de las condiciones de irradiación, lo que implica que los pacientes conservan la capacidad de respuesta a la acción de la irradiación solar.



Si se considera el criterio de que los niveles plasmáticos de 25 hidroxivitamina D son óptimos cuando superan el nivel de 30 ng/ml, los resultados obtenidos en los pacientes estudiados demuestran que la población global en su conjunto presenta un valor medio ligeramente por debajo en el periodo de mayor irradiación solar (28.7 ± 6.2 ng/ml), mientras que en el periodo de baja irradiación solar, el valor medio para la población (15.6 ± 4.8 ng/ml) apenas supera la mitad (52%) del valor óptimo.

Con el objeto de definir de forma más detallada las características de la población se separaron para cada estación de irradiación lumínica los pacientes con niveles plasmáticos de 25 hidroxivitamina D iguales o superiores a 30 ng/ml y los que presentaban niveles por debajo del nivel óptimo y se calculó el porcentaje de cada una de estas categorías en los dos periodos de estudio. Los resultados obtenidos (Figura 2) demostraron que sólo el 16.0% de los pacientes (17/107) presentan niveles iguales o superiores a 30 ng/ml en el periodo de alta

irradiación solar, mientras ese porcentaje bajaba hasta el 3.6% en el periodo de baja irradiación solar (7/193). Este resultado implica porcentajes muy elevados de insuficiencia vitamínica incluso en el periodo de mayor exposición a la irradiación solar.



Con el objeto de caracterizar de una forma más precisa el estatus de la vitamina en la población estudiada se realizó un análisis más detallado en el que se definieron cuatro categorías para distinguir distintos grados de deficiencia vitamínica:

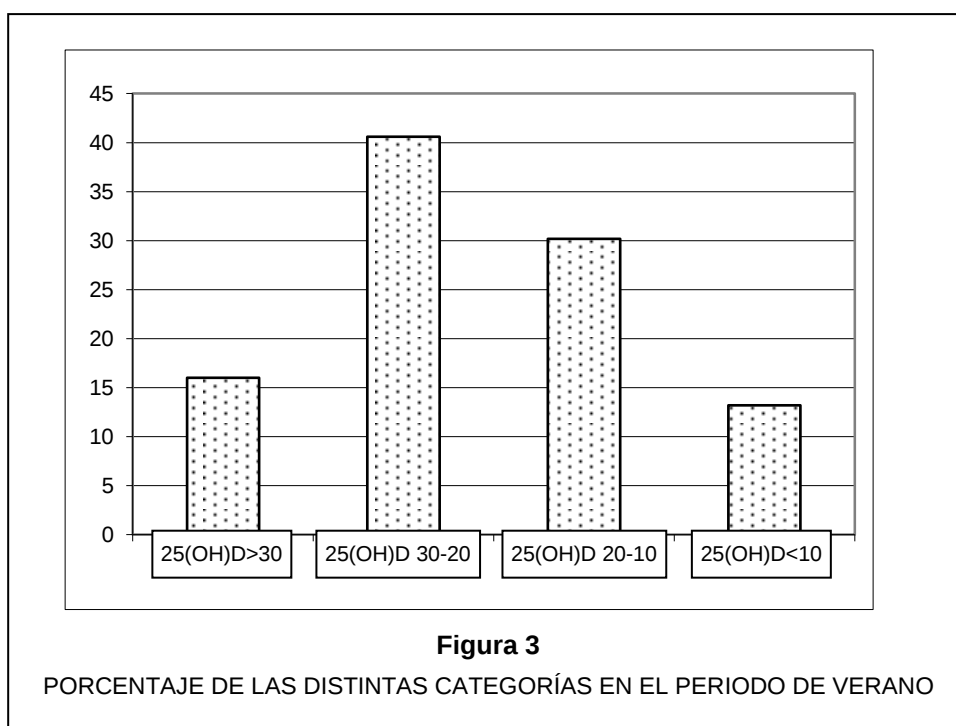
Categoría 1. Pacientes con niveles plasmáticos de 25(OH)D igual o superior a 30 ng/ml. Nivel óptimo.

Categoría 2. Pacientes con niveles plasmáticos de 25(OH)D inferior a 30 ng/ml pero igual o superior a 20 ng/ml. Deficiencia moderada.

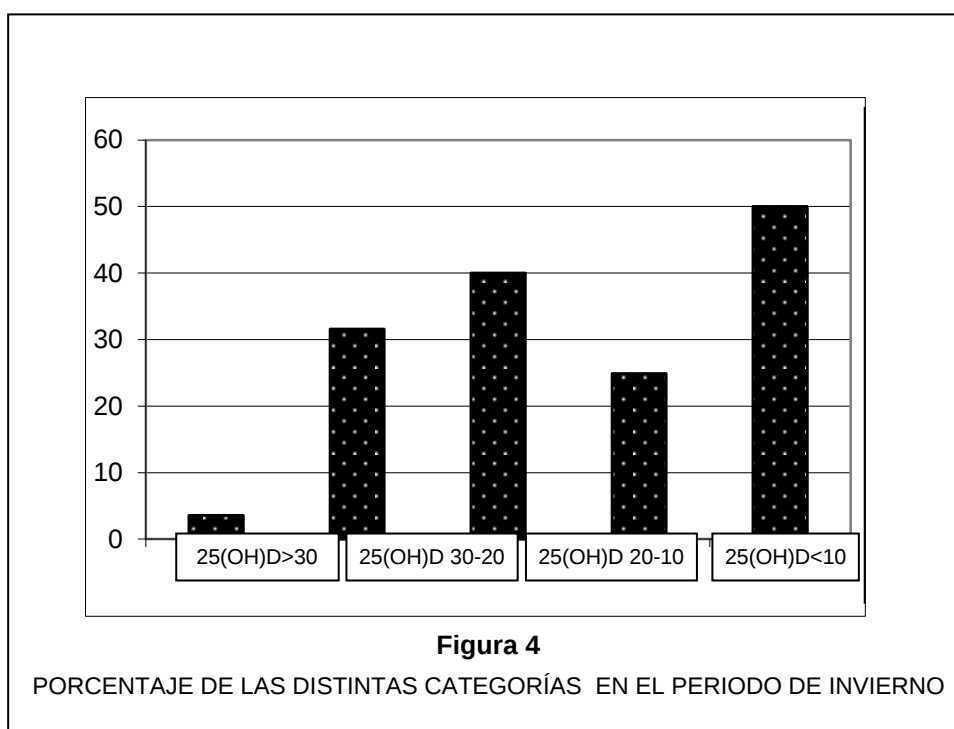
Categoría 3. Pacientes con niveles plasmáticos de 25(OH)D inferior a 20 ng/ml pero igual o superior a 10 ng/ml. Deficiencia severa.

Categoría 4. Pacientes con niveles plasmáticos de 25(OH)D inferior a 10 ng/ml. Deficiencia extrema.

Los resultados obtenidos (Figura 3) muestran que en el periodo de alta irradiación solar (verano), el 16.0% de los pacientes (17/107) presentan niveles iguales o superiores a 30 ng/ml (categoría 1, nivel óptimo), el 40.6% de los pacientes (43/107) presentan niveles comprendidos entre 20 y 30 ng/ml (categoría 2, deficiencia moderada), el 30.2% de los pacientes (32/107) presentan niveles comprendidos entre 10 y 20 ng/ml (categoría 3, deficiencia severa) y el 13.2% de los pacientes (14/107) presentan niveles inferiores a 10 ng/ml (categoría 4, deficiencia extrema).



Cuando se analizó el periodo de baja irradiación solar (Figura 4) se encontró que los resultados empeoraban significativamente. En este periodo sólo el 3.6% de los pacientes (7/193) presentan niveles iguales o superiores a 30 ng/ml (categoría 1, nivel óptimo), el 31.6% de los pacientes (61/193) presentan niveles comprendidos entre 20 y 30 ng/ml (categoría 2, deficiencia moderada), el 39.9% de los pacientes (77/193) presentan niveles comprendidos entre 10 y 20 ng/ml (categoría 3, deficiencia severa) y el porcentaje de los pacientes con niveles inferiores a 10 ng/ml (categoría 4, deficiencia extrema) se eleva hasta el 24.9% (48/193).



Dado que el protocolo de trabajo incluía un segundo estudio en el que se seleccionarían a los pacientes con niveles bajos de 25(OH)D para ser tratados y realizar un seguimiento continuado a lo largo de un periodo de tiempo prolongado en el que las condiciones de irradiación solar no permanecían constantes, se utilizó una técnica estadística de estimación de coeficientes de ajuste estacional que permitían para cada paciente obtener un valor teórico que estaría libre de variación estacional. A estos valores se les denomina estimación interestacional.

Los coeficientes obtenidos al comparar las medias de cada estación con la media anual fueron de 0.77 para el periodo de alta irradiación solar y 1.42 para el de baja. La aplicación de estos coeficientes correctores hizo posible calcular para cada paciente un valor teórico libre de variación estacional que permitía realizar comparaciones y evaluar la respuesta al tratamiento a lo largo de los distintos meses del año durante los que se realizaba el seguimiento.

Cuando se realizó esta técnica estadística y se obtuvieron unos valores teóricos libres de variación estacional (Figura 5) se encontró que sólo el 9.4% de los pacientes (28/299) presentan niveles iguales o superiores a 30 ng/ml (categoría 1, nivel óptimo), el 33.8% de los pacientes (101/299) presentan

niveles comprendidos entre 20 y 30 ng/ml (categoría 2, deficiencia moderada), el 37.5% de los pacientes (112/299) presentan niveles comprendidos entre 10 y 20 ng/ml (categoría 3, deficiencia severa) y el 19.4% de los pacientes (58/299) presentan niveles inferiores a 10 ng/ml (categoría 4, deficiencia extrema).

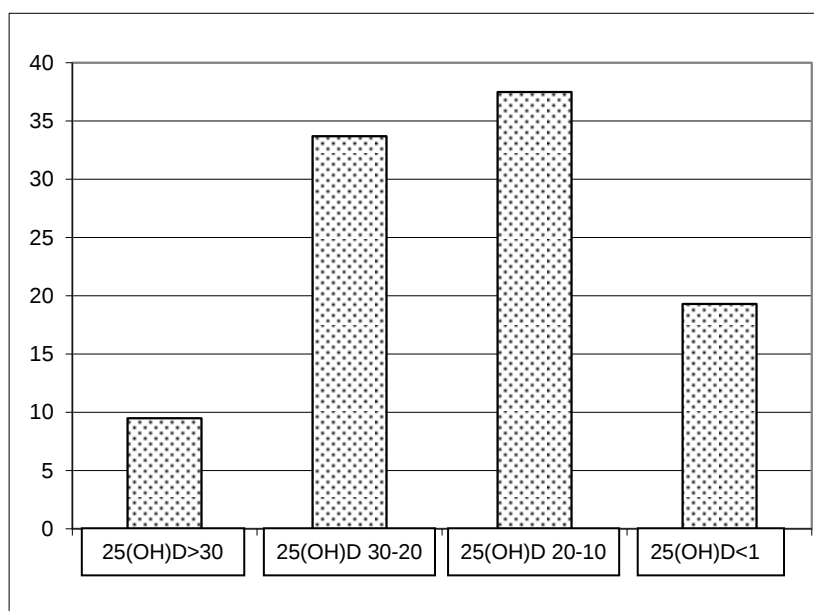


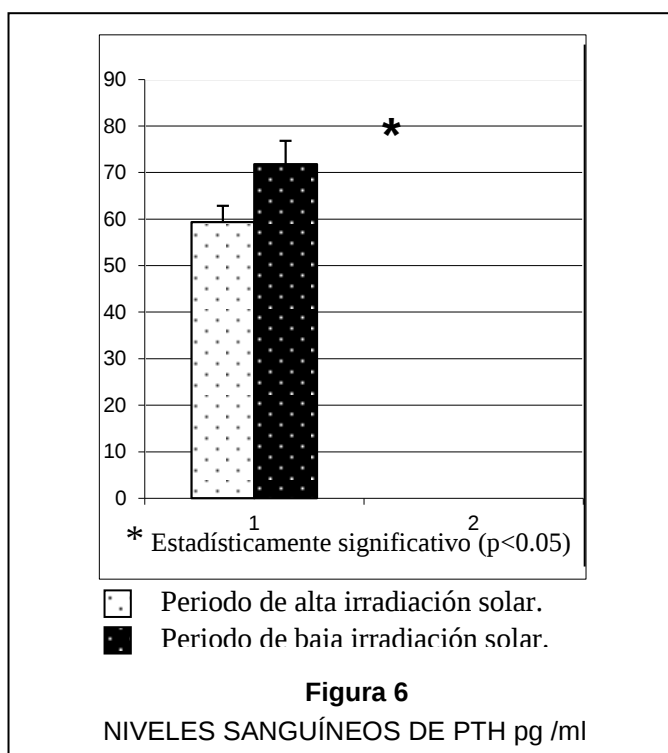
Figura 5

ESTIMACIÓN TEÓRICA INTERESTACIONAL. PORCENTAJE DE LAS DISTINAS CATEGORÍAS.

1.2. Niveles sanguíneos de PTH

Dado que los resultados del análisis sobre los niveles de 25(OH) en la población estudiada demostraban niveles muy inferiores a los recomendables y teniendo en cuenta que es bien conocida la existencia de una interrelación entre los niveles de vitamina D y los de hormona paratiroidea (PTH), se estudió el status de la PTH en los pacientes. Con el objeto de determinar si existía variación estacional se obtuvo un valor medio para las muestras obtenidos en los periodos de alta y baja irradiación solar.

Los resultados de este estudio (Figura 6) demostraron que los niveles plasmáticos de PTH variaban significativamente ($p < 0,05$) entre el periodo de alta irradiación solar, cuando alcanzaron un nivel medio de 59.3 ± 7.2 pg/ml, y el periodo de baja irradiación solar, donde el valor medio subió hasta 71.8 ± 8.8 pg/ml, lo que supone un incremento de un 21.1%.



Los resultados obtenidos demuestran la existencia de una variación estacional entre los periodos de alta y baja irradiación solar, siendo mayor los niveles en el grupo correspondiente al periodo de baja irradiación solar. Este

resultado implica una correspondencia entre niveles bajos de vitamina D y elevación de los niveles de PTH.

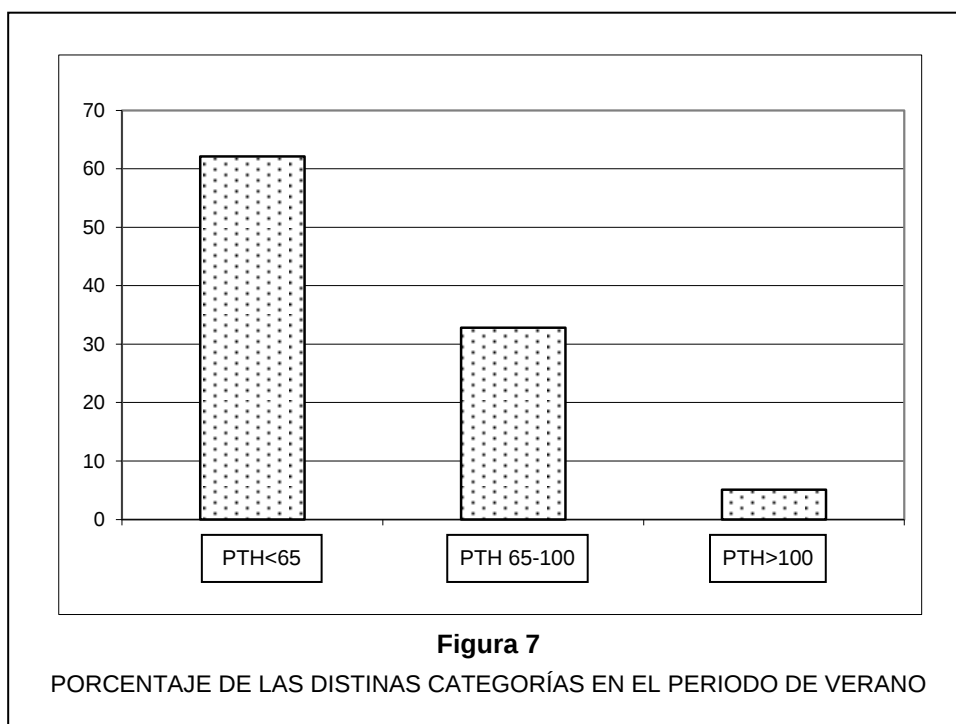
Con el objeto de caracterizar de una forma más precisa el estatus de la población en relación a la PTH, se definieron tres categorías:

Categoría 1. Pacientes con niveles plasmáticos de PTH igual o inferior a 65 pg/ml. Nivel óptimo.

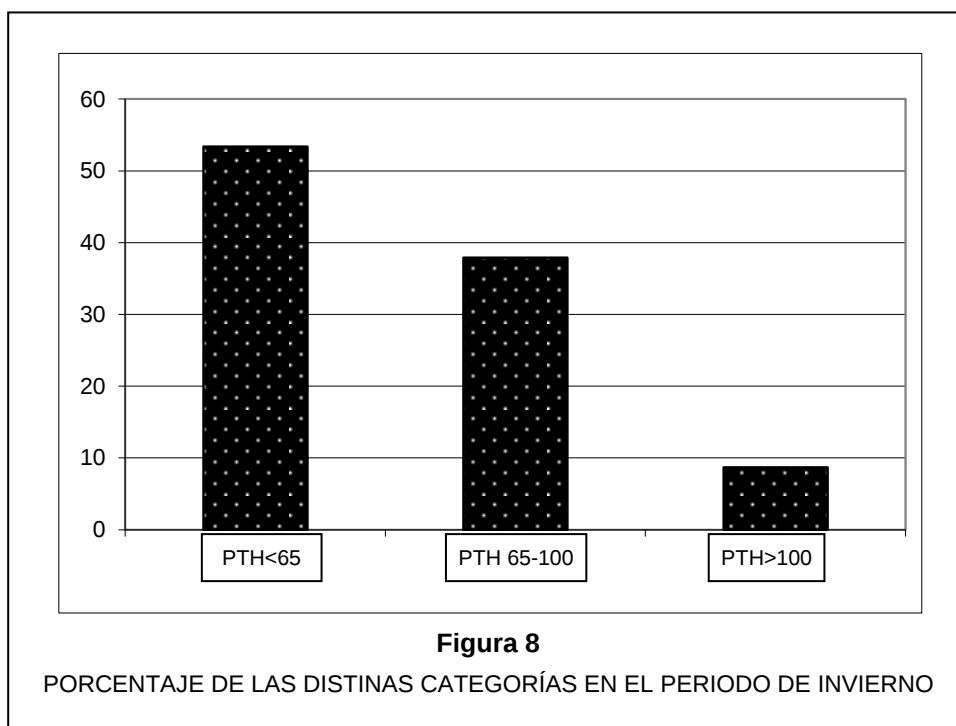
Categoría 2. Pacientes con niveles plasmáticos de PTH superior a 65 pg/ml pero igual o inferior a 100 ng/ml. Niveles altos moderados, Hiperparatiroidismo secundario.

Categoría 3. Pacientes con niveles plasmáticos de PTH superiores a 100 pg/ml. Niveles muy altos. Hiperparatiroidismo primario.

El análisis de los resultados obtenidos en el periodo de alta irradiación solar (Figura 7) demostró que el 62.1% de los pacientes presentan niveles iguales o inferiores a 65 ng/ml (categoría 1, nivel óptimo), el 32.8% de los pacientes presentan niveles comprendidos entre 65 y 100 ng/ml (categoría 2, hiperparatiroidismo moderado y el 5.1% de los pacientes presentan niveles superiores a 100 ng/ml (categoría 3, hiperparatiroidismo severo).



Los resultados variaron de forma sensible cuando se consideró el periodo de baja irradiación solar (Figura 8). En este periodo el 53.4% de los pacientes presentan niveles iguales o inferiores a 65 ng/ml (categoría 1, nivel óptimo), el 37.9% de los pacientes presentan niveles comprendidos entre 65 y 100 ng/ml (categoría 2, hiperparatiroidismo moderado y el 8.7% de los pacientes presentan niveles superiores a 100 ng/ml (categoría 3, hiperparatiroidismo severo).



Dado que los niveles sanguíneos de PTH también presentaban una variación estacional, con el objeto de poder realizar un seguimiento continuado de los pacientes a lo largo de un periodo de tiempo prolongado en el que las condiciones de irradiación solar no permanecían constantes, se realizó una estimación de coeficientes de ajuste estacional para obtener un valor teórico que estaría libre de variación estacional.

Al igual que en el caso de la vitamina D, con el objetivo de poder estudiar la evolución de los pacientes a lo largo de todo el año, se estimaron los coeficientes de ajuste estacional y la aplicación de estos coeficientes correctores permitió realizar una estimación interestacional libre de variación cíclica. Cuando se realizó esta técnica estadística y se obtuvieron unos valores teóricos libres de variación estacional (Figura 9) se encontró que un 58.3% de los

pacientes presentan niveles inferiores a 65 ng/ml (categoría 1, nivel óptimo), el 35.4% de los pacientes presentan niveles comprendidos entre 65 y 100 ng/ml (categoría 2, hiperparatiroidismo secundario), el 6.3% de los pacientes presentan niveles superiores a 100 ng/ml (categoría 3, hiperparatiroidismo primario).

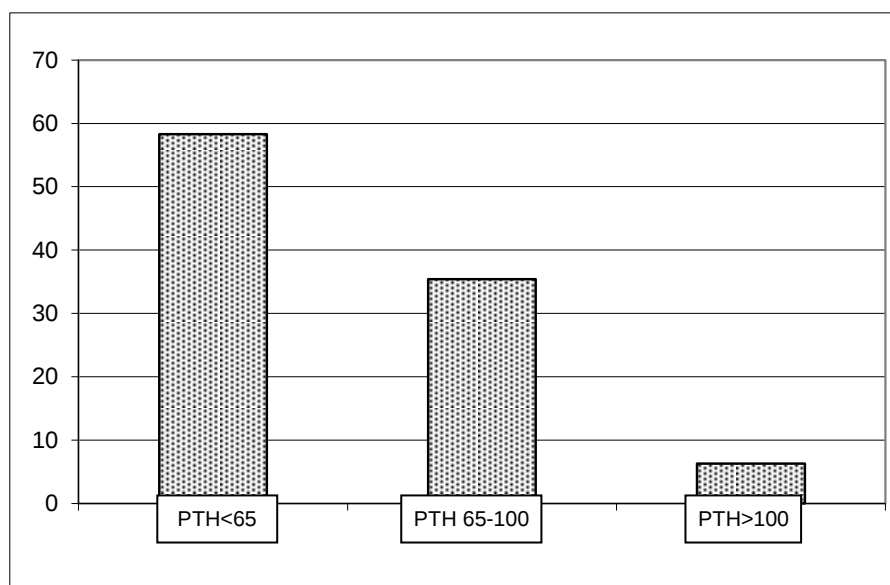


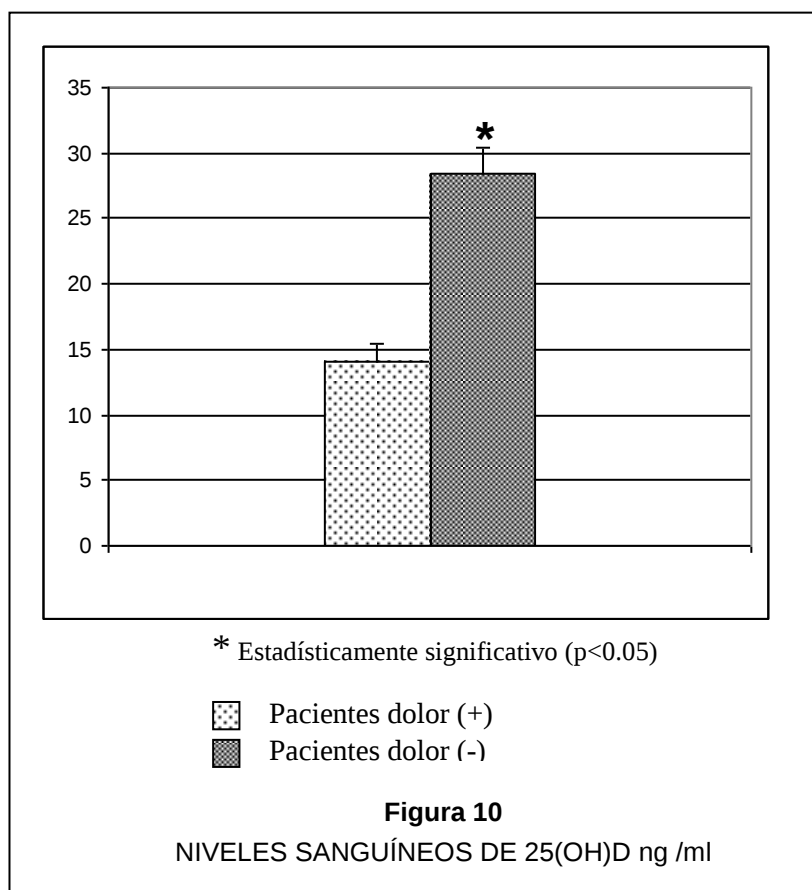
Figura 9

ESTIMACIÓN TEÓRICA INTERESTACIONAL. PORCENTAJE DE LAS DISTINAS CATEGORÍAS

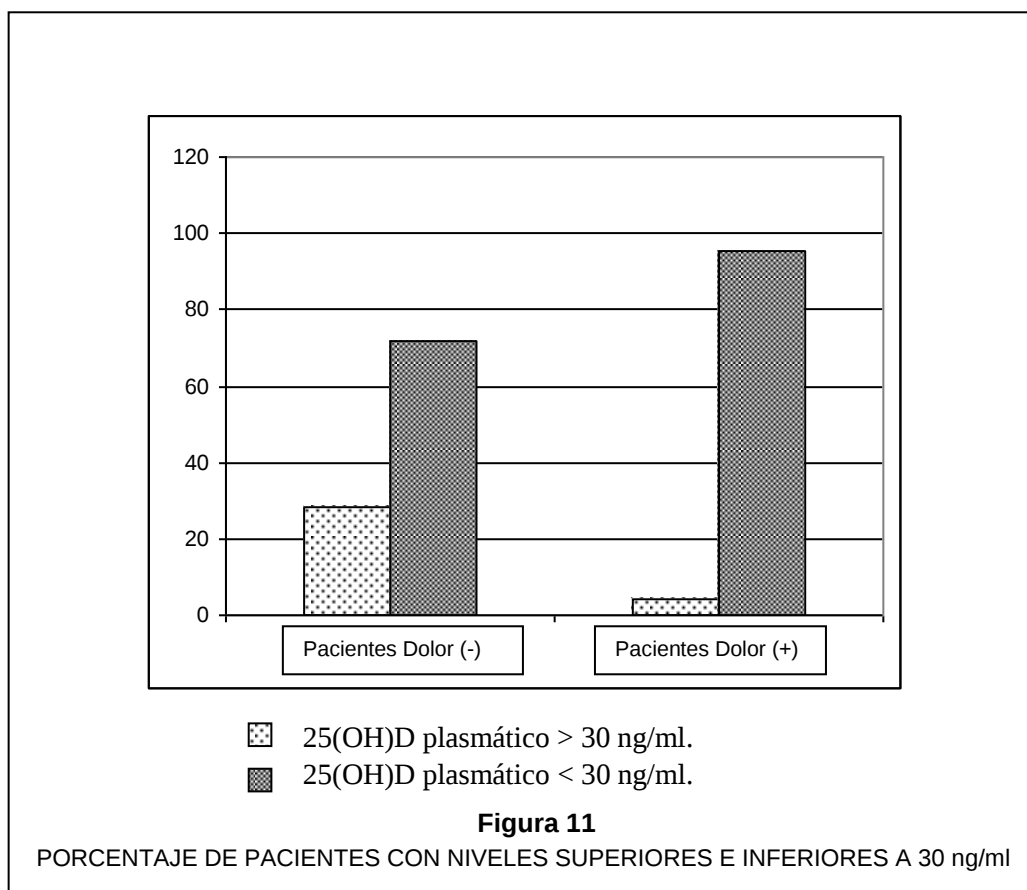
2. ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO ANALÍTICO NO EXPERIMENTAL

Una vez realizado el análisis descriptivo para caracterizar el nivel de vitamina D en la población, se realizó un análisis no experimental, de tipo caso control, en el que los pacientes fueron divididos en dos grupos atendiendo al padecimiento o no de dolor músculo-esquelético difuso. Los pacientes fueron evaluados para el grado de dolor mediante la utilización de una escala visual analógica combinada con un conjunto de números de cero a diez. Los pacientes fueron divididos en dos grupos dependiendo de la valoración de dolor músculo-esquelético difuso: grupo dolor (-) con una escala de dolor de 3 o menos (n=209) y grupo dolor (+) con una escala de dolor de 4 o más (n=91).

Los resultados obtenidos demostraron que los pacientes con dolor de una escala de dolor de 3 o menos presentaron un valor medio 25(OH)D en plasma de $28,4 \pm 2.9$ ng/ml, mientras que la media para los pacientes con una escala de dolor de 4 o más fue 14.3 ± 2.2 ng/ml, siendo la diferencia estadísticamente significativa (Figura 10) (valores ajustados mediante coeficientes de ajuste estacional para obtener estimaciones libres de variación estacional).



Este resultado implica que los pacientes con dolor de una escala de dolor de 3 o menos presentaron un valor medio 25(OH)D en plasma que duplica el de los pacientes con una escala de dolor de 4 o más.



Cuando se calculó en el grupo de pacientes con dolor de una escala de dolor de 3 o menos el porcentaje aquéllos que presentaban niveles plasmáticos de 25(OH)D iguales o superiores a 30 ng/ml se encontró un valor de 28.3%, lo que implica que el 71.7% presentaban valores inferiores. En el grupo de pacientes con dolor de una escala de dolor de 4 o más, el porcentaje de pacientes con niveles plasmáticos de 25(OH)D iguales o superiores a 30 ng/ml fue sólo del 3.6%, estando el 95.4% restante por debajo de él (Figura 11).

Los resultados obtenidos son coherentes con la hipótesis de que el nivel de vitamina D es un factor subyacente a la presencia de dolor músculo-esquelético difuso.

3. ESTUDIO CLÍNICO CONTROLADO PROSPECTIVO

Se realizó un análisis clínico controlado, aleatorio y prospectivo para valorar la eficacia de la suplementación de vitamina D para la mejora del dolor músculo-esquelético difuso y la actividad funcional muscular. El criterio de inclusión para esta parte del estudio fue que los pacientes presentasen dolor músculo-esquelético difuso, es decir, los pacientes que participaron en esta parte del estudio fueron los pacientes con una valoración de dolor músculo-esquelético difuso de 4 o más, lo que se corresponde con uno de los grupos definidos en el estudio anterior. El número de pacientes que cumplieron este requisito fue de 91, después de aplicar el criterio de exclusión ya mencionado. Los 91 pacientes fueron divididos aleatoriamente en tres grupos según el tipo de tratamiento recibido:

- A. Tratados con vitamina D (Hidroferol), n=31 pacientes.
- B. Tratados con vitamina D complementada con calcio (Ideos), n=30 pacientes.
- C. Tratados con vitamina D complementada con el difosfonato alendronato (Adrovanse 5600), n=30 pacientes.

El protocolo de estudio, descrito en el apartado de pacientes y métodos, incluía 7 consultas a cada paciente que eran llevadas a cabo durante un periodo de al menos 6 meses. Como a lo largo de este periodo las condiciones de irradiación solar no permanecen constantes, todos los valores fueron corregidos mediante coeficientes para obtener estimaciones libres de variación estacional.

Los resultados obtenidos demostraron que los tres tratamientos utilizados fueron efectivos para inducir en los pacientes una elevación muy marcada de los niveles plasmáticos de 25(OH)D en relación al nivel existente antes del tratamiento (Figura 12) (valores ajustados mediante coeficientes de ajuste estacional para obtener estimaciones libres de variación estacional). Los niveles, que al comienzo del estudio se encontraban por debajo del límite de insuficiencia vitamínica en los cuatro grupos (3ª consulta, 15.2 ± 2.1 ng/ml, 13.6 ± 1.9 ng/ml y 14.1 ± 2.3 ng/ml) se elevaron de forma significativa como consecuencia de los tratamientos de forma que en la 5ª consulta los tres grupos de pacientes tratados

mostraron niveles plasmáticos muy por encima del límite de hipovitaminosis. Los pacientes tratados con Hidroferol mostraron un valor medio de 62.2 ± 6.1 ng/ml, lo que supuso un incremento de 4.1X en relación al valor inicial. Los pacientes tratados con Ideos mostraron un valor medio de 60.1 ± 5.7 ng/ml, incremento de 4.4X en relación al valor inicial. Los pacientes tratados con Adrovanse 5600 mostraron un valor medio de 58.1 ± 5.3 ng/ml, incremento de 4.1X en relación al valor inicial. Los niveles plasmáticos de 25(OH)D permanecieron elevados a lo largo de la realización de todo el estudio, si bien en la 7ª consulta se observó un descenso en relación a los niveles de la 5ª consulta. Los pacientes tratados con Hidroferol mostraron un valor medio de 45.5 ± 5.2 ng/ml, incremento de 3X en relación al valor inicial. Los pacientes tratados con Ideos mostraron un valor medio de 44.7 ± 4.9 ng/ml, incremento de 3.3X en relación al valor inicial. Los pacientes tratados con Adrovanse mostraron un valor medio de 45.9 ± 3.8 ng/ml, incremento de 3.3X en relación al valor inicial.

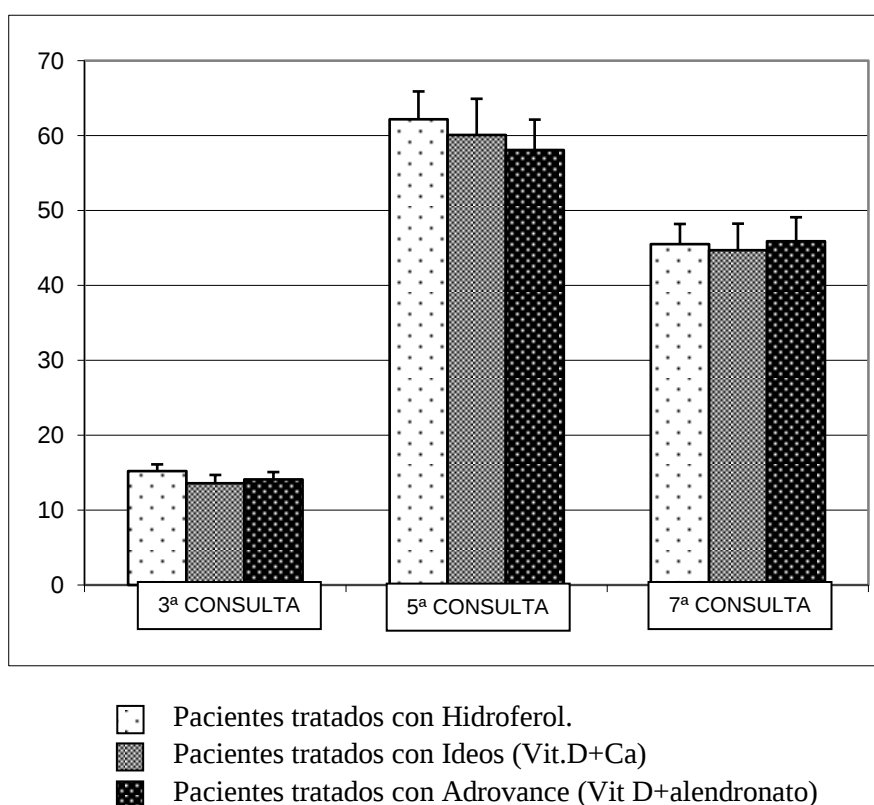


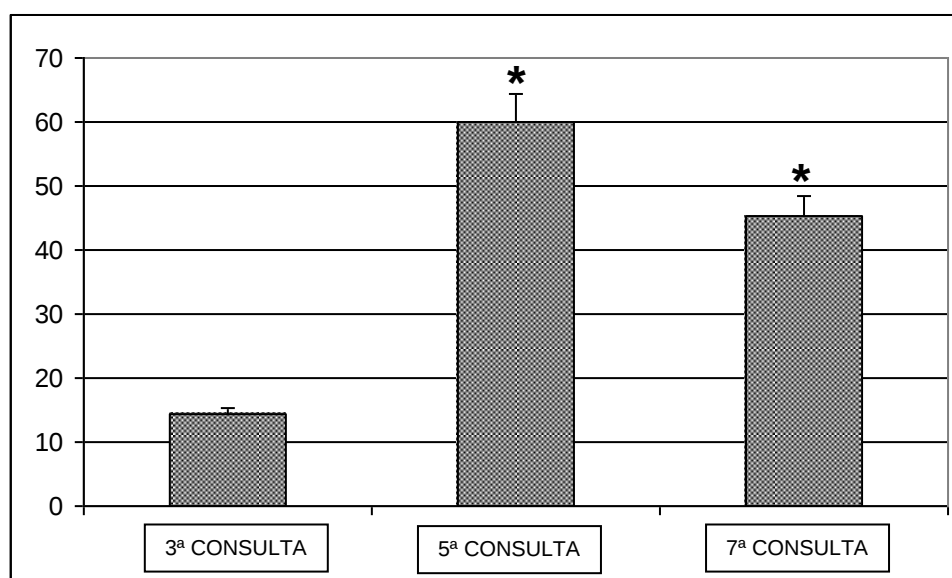
Figura 12

VARIACIÓN DE LOS NIVELES DE 25(OH)D mg /ml SEGÚN LOS TRATAMIENTOS

Los resultados obtenidos de este primer análisis llevaron a dos conclusiones. La primera fue que los tres tratamientos utilizados, Hidroferol, Ideos y Adrovance, tenían un efecto equivalente en la elevación de los niveles plasmáticos de 25(OH)D. Ello implica que la adición de calcio (Ideos) o del difosfonato alendronato a la vitamina D no suponen una mejora significativa en de la efectividad del tratamiento en los pacientes estudiados. La segunda conclusión fue que el tratamiento era más efectivo en las primeras fases, donde se producía un incremento más rápido debido a la adicción de hidroferol choque y se alcanzaban los niveles plasmáticos de 25(OH)D máximos (quinta consulta). Sin embargo, después de esa primera fase se observaba un descenso en la efectividad de forma que se producía un descenso de los niveles en la séptima consulta. A pesar de este descenso, los niveles se mantenían claramente por encima del límite de hipovitaminosis. Los niveles pasaban de suponer un incremento de 4X en relación a la situación inicial de partida en la quinta consulta a un incremento de 3X. Por tanto, entre la quinta y la séptima consulta se producía un descenso de un 25% en los niveles plasmáticos de 25(OH)D.

No se encontró ninguna diferencia significativa entre los tres grupos de pacientes con tratamiento. De este resultado se puede deducir que los tres tratamientos utilizados eran igualmente efectivos y equivalentes para elevar los niveles plasmáticos de 25(OH)D.

Sobre la base de la no existencia de diferencias en los niveles de 25(OH)D plasmáticos resultantes, procedimos a considerar a todos los pacientes tratados de forma conjunta en un único grupo y estudiar su evolución a lo largo del tiempo (Figura 13). Los datos así agrupados demostraron que al comienzo del estudio los niveles presentaban un valor medio que se encontraba por debajo del límite de insuficiencia vitamínica (3ª consulta, 14.3 ± 3.4 ng/ml), luego se elevaron de forma significativa alcanzando en la 5ª consulta el valor de 60.1 ± 7.8 ng/ml que correspondió al valor máximo alcanzado y finalmente, en la 7ª consulta, el valor fue de 45.4 ± 6.7 ng/ml.



* Estadísticamente significativo ($p < 0.05$)

Figura 13

VARIACIÓN NIVELES PLASMÁTICOS DE 25(OH)D mg /ml en el **TIEMPO**

Con el objeto de caracterizar de forma más completa la respuesta de la población con hipovitaminosis al tratamiento, se realizó un análisis de los pacientes por categorías, calculando el porcentaje de aquellos que superaban o permanecían por debajo del límite adecuado de vitamina D dentro de los tres grupos de pacientes tratados (Figura 14). Este análisis demostró que, partiendo de una población inicial de 91 pacientes en la que el 87 pacientes (95.6%) presentaban niveles plasmáticos de 25(OH)D por debajo de 30 ng/ml, en la consulta 5ª sólo 14 pacientes permanecían por debajo del límite de hipovitaminosis (15.4%), mientras que los 77 restantes presentaban niveles que superaban el límite (84.6%). En la consulta 7ª, el número de pacientes que presentaron niveles iguales o superiores a 30 ng/ml fue de 68, lo que supuso un 74.7%, mientras que 23 pacientes restantes mostraron valores por debajo del límite, 25.3%. Estos resultados implican que en 9 pacientes (9.9%) el tratamiento fue efectivo durante la primera fase del estudio pero su eficacia disminuyó con el tiempo.

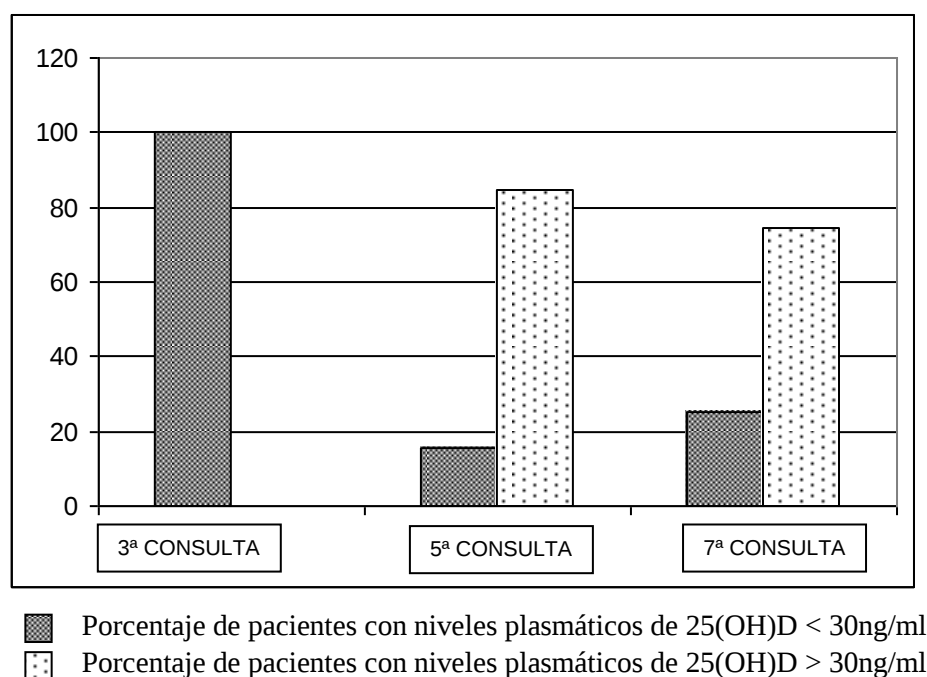


Figura 14

PORCENTAJE DE PACIENTES CON HIPOVITAMINOSIS A LO LARGO DEL ESTUDIO

Dado que la edad media de nuestra población muestral de pacientes era bastante elevada y teniendo en cuenta que estudios previos han descrito que la eficiencia de la absorción de vitamina D disminuye con la edad, se realizó un estudio complementario para determinar en nuestra población posibles variaciones en la respuesta al tratamiento en función de la edad. Para ello se dividió la población en dos grupos de edad: 1) Pacientes con edad inferior a 60 años (23/91) y 2) Pacientes con edad igual o superior a los 60 años (68/91).

Este análisis demostró (Figura 15) que de la población inicial de 23 pacientes con edad inferior a 60 años que presentaban hipovitaminosis, sólo 2 pacientes no respondían al tratamiento y permanecían por debajo del límite de hipovitaminosis en la consulta 5ª (8.7%). Los 21 restantes (91.3%) respondían al tratamiento y presentaban niveles adecuados. En la consulta 7ª, el número de estos pacientes que presentaban niveles por debajo del límite de hipovitaminosis subió a 3 (13.0%). Cuando se analizó a los pacientes con edad superior a 60 años (68 pacientes) se encontró que el número de estos pacientes que permanecían por debajo del límite de hipovitaminosis en la consulta 5ª era

de 12 (17.6%). Los 56 pacientes restantes (82.4%) presentaban niveles adecuados. En la consulta 7ª, el número de estos pacientes que presentaban hipovitaminosis fue de 20 (29.4%) mientras que los 48 pacientes restantes presentaban niveles por encima del límite de hipovitaminosis (70.6%).

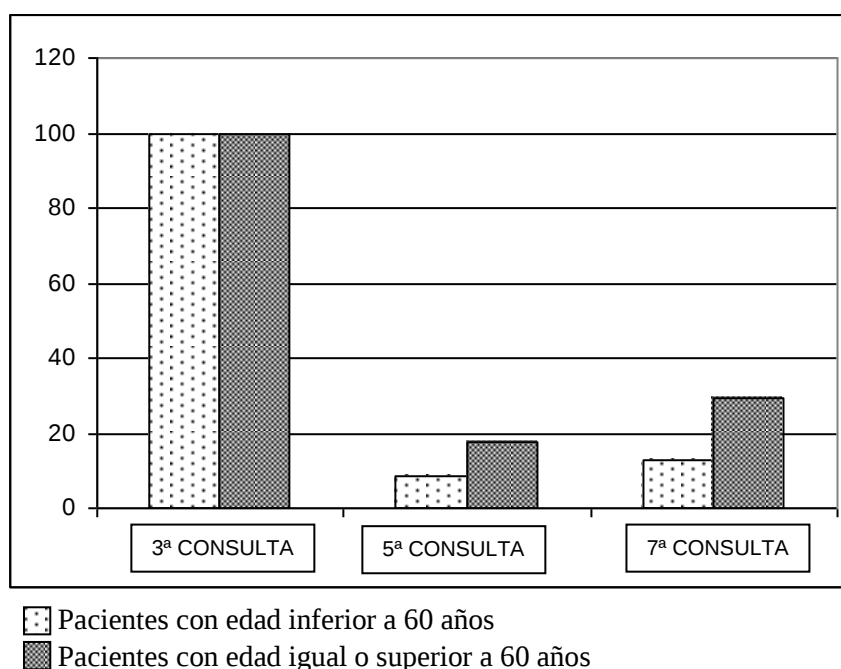


Figura 15

PORCENTAJE DE PACIENTES CON **HIPOVITAMINOSIS** EN FUNCIÓN DE LA **EDAD**

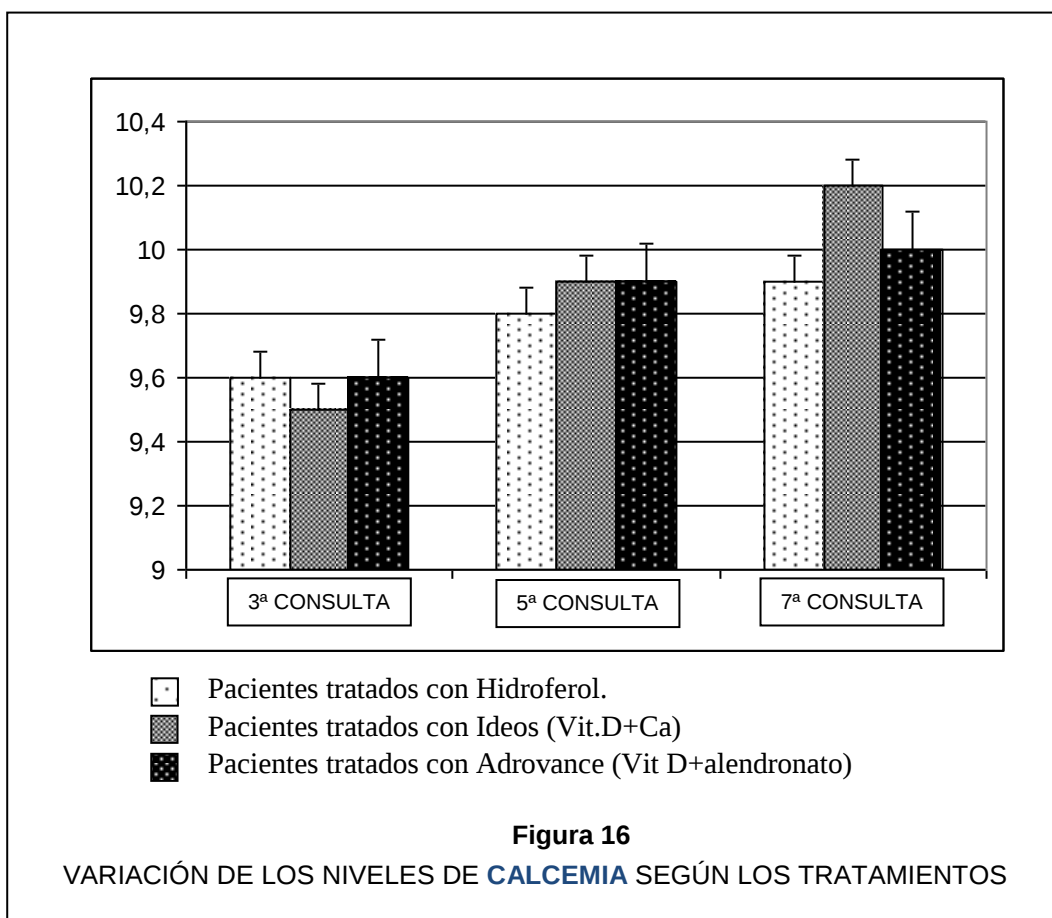
Los resultados de este estudio demuestran dos cosas. La primera es que los pacientes de mayor edad presentan una respuesta peor al tratamiento ya que éste no resulta efectivo en el 17.6% de los casos frente al 8.7% que tiene lugar en los pacientes de menor edad. La segunda es que una vez que se han alcanzado los niveles adecuados de 25(OH)D, la edad también dificulta el mantenimiento de dichos niveles. Así, en pacientes de menos de 60 años, sólo un paciente de los 21 que en la 5ª consulta habían recuperado los niveles adecuados de 25(OH)D perdió dichos niveles en la 7ª consulta, lo que equivale a un 4.8% de los pacientes. Por el contrario, en los pacientes de 60 o más años, 8 pacientes de los 56 que en la 5ª consulta habían recuperado los niveles adecuados de 25(OH)D volvió a presentar en la 7ª consulta niveles por debajo del límite de hipovitaminosis, lo que equivale a un 14.3%. De estos resultados

se deduce que la edad ha de ser un factor a considerar a la hora de estimar la dosis adecuada para un paciente.

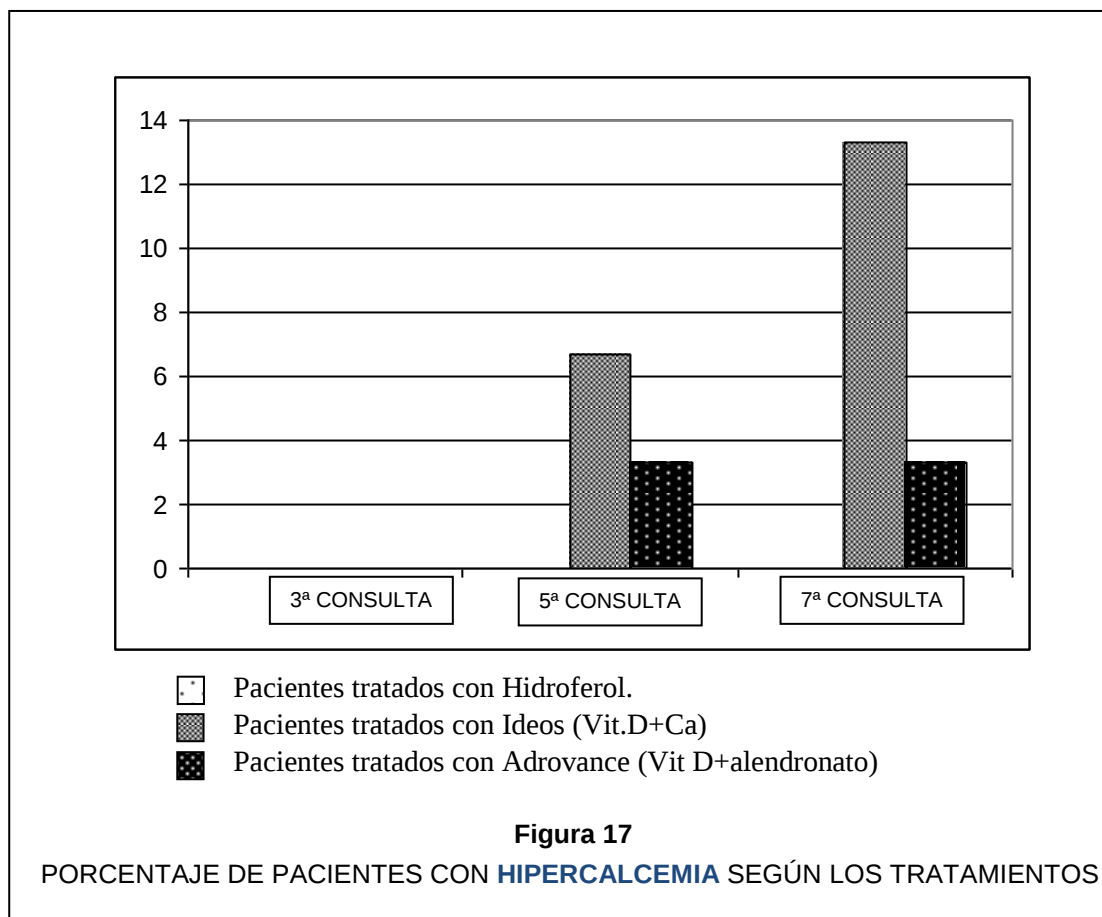
Dado que un posible efecto adverso del tratamiento con vitamina D es la subida de los niveles plasmáticos de calcio y teniendo en cuenta que la hipercalcemia es potencialmente peligrosa porque puede inducir calcificación en órganos blandos, se realizó un seguimiento de los niveles plasmáticos de calcio a los pacientes teniendo en cuenta el tipo de tratamiento. Los resultados de este estudio (Figura 16) demostraron que el tratamiento daba lugar a un ligero incremento de los niveles plasmáticos de calcio en los pacientes pero dicho aumento no era estadísticamente significativo y en ningún caso el valor medio superaba el límite de hipercalcemia (10.4 ng/ml). El grupo de pacientes tratados con Hidroferol presentó al inicio del estudio, antes del comienzo del tratamiento un valor de calcemia de 9.6 ± 0.6 ng/ml destacar que ninguno de los 300 pacientes estudiados presento hipocalcemia. Después de 2 meses de tratamiento, en la 5ª consulta el valor medio para los niveles plasmáticos de calcio pasó a 9.8 ± 0.9 ng/ml. En la 7ª consulta la calcemia media alcanzó un valor de 9.9 ± 1.1 ng/ml. Este patrón de comportamiento se repitió en los otros dos tratamientos. El grupo de pacientes tratados con Ideos presentó al inicio del estudio un valor de calcemia de 9.5 ± 0.5 ng/ml. Después del inicio del tratamiento, en la 5ª consulta el valor medio para los niveles plasmáticos de calcio ascendió a 9.9 ± 1.1 ng/ml. En la 7ª consulta la calcemia media alcanzó un valor de 10.2 ± 1.3 ng/ml. El grupo de pacientes tratados con Adrovanse presentó al inicio del estudio un valor de calcemia de 9.6 ± 0.5 ng/ml. Después de 2 meses de tratamiento, en la 5ª consulta el valor medio para los niveles plasmáticos de calcio ascendió a 9.9 ± 1.1 ng/ml. En la 7ª consulta la calcemia media alcanzó un valor de 10.0 ± 1.1 ng/ml.

Los resultados de este estudio llevan a dos conclusiones. La primera es que todos los tratamientos utilizados tenían un efecto acumulativo sobre los niveles plasmáticos de calcio, de modo que los niveles máximos se observan siempre en la fase final del estudio, cuando los pacientes llevan varios meses de tratamiento. La segunda es que aunque no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos, el tratamiento con Hidroferol produce una

menor elevación de la calcemia que el tratamiento con Ideos. Por tanto, no parece necesaria la adición de alendronato (Adrovance).



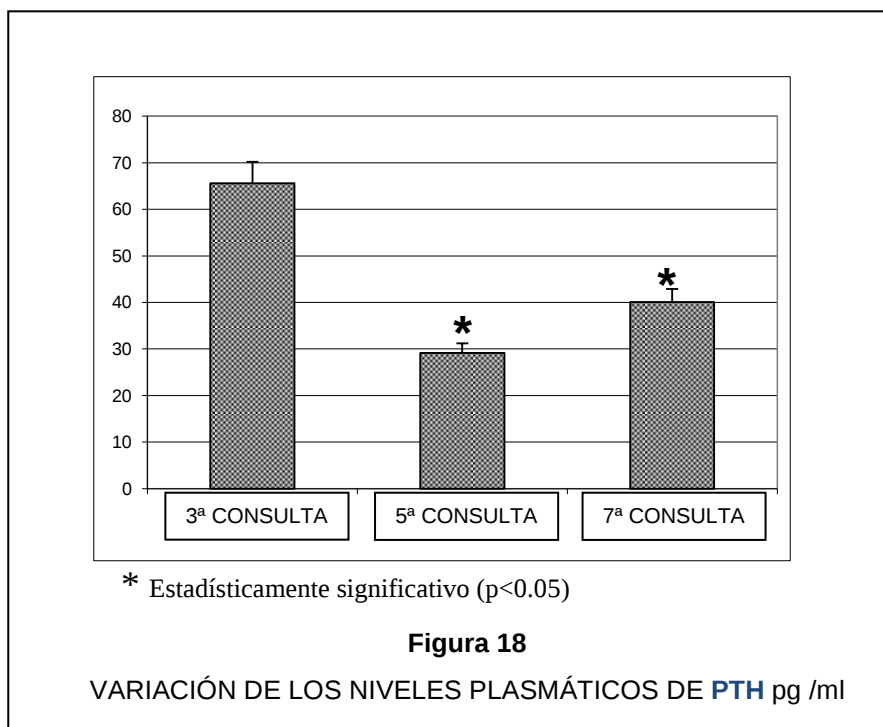
Con el objeto de caracterizar de forma más completa el efecto del tratamiento sobre la calcemia se realizó un análisis adicional de los pacientes para identificar a aquellos que superaban el límite de calcemia y calcular su porcentaje (Figura 17). Este análisis demostró que ninguno de los 31 pacientes tratados con Hidroferol superaba el límite de hipercalcemia (10.4 ng/ml) a lo largo del estudio. De los 30 pacientes tratados con Ideos, 2 presentaban hipercalcemia en la 5ª consulta (6.7%) y este número aumentaba a 4 en la 7ª consulta (13.3%). De los 30 pacientes tratados con Adrovance, un paciente presentó hipercalcemia en la 5ª consulta y también en la 7ª consulta (3.3%).



Los resultados de este estudio llevan a la conclusión de que el tratamiento con Hidroferol en las dosis y tiempos utilizados en el estudio no produce elevación de los niveles plasmáticos de calcio por encima del límite de calcemia, mientras que el tratamiento con Ideos sí produce en un porcentaje bajo de pacientes hipercalcemia. De los 30 pacientes tratados con Adrovanse, un paciente presentó hipercalcemia tanto en la 5ª consulta como en la 7ª. Dado que fue uno sólo y que era de avanzada edad, es posible que este resultado se debiera a las características específicas del paciente o bien a que no respondiese al tratamiento con alendronato.

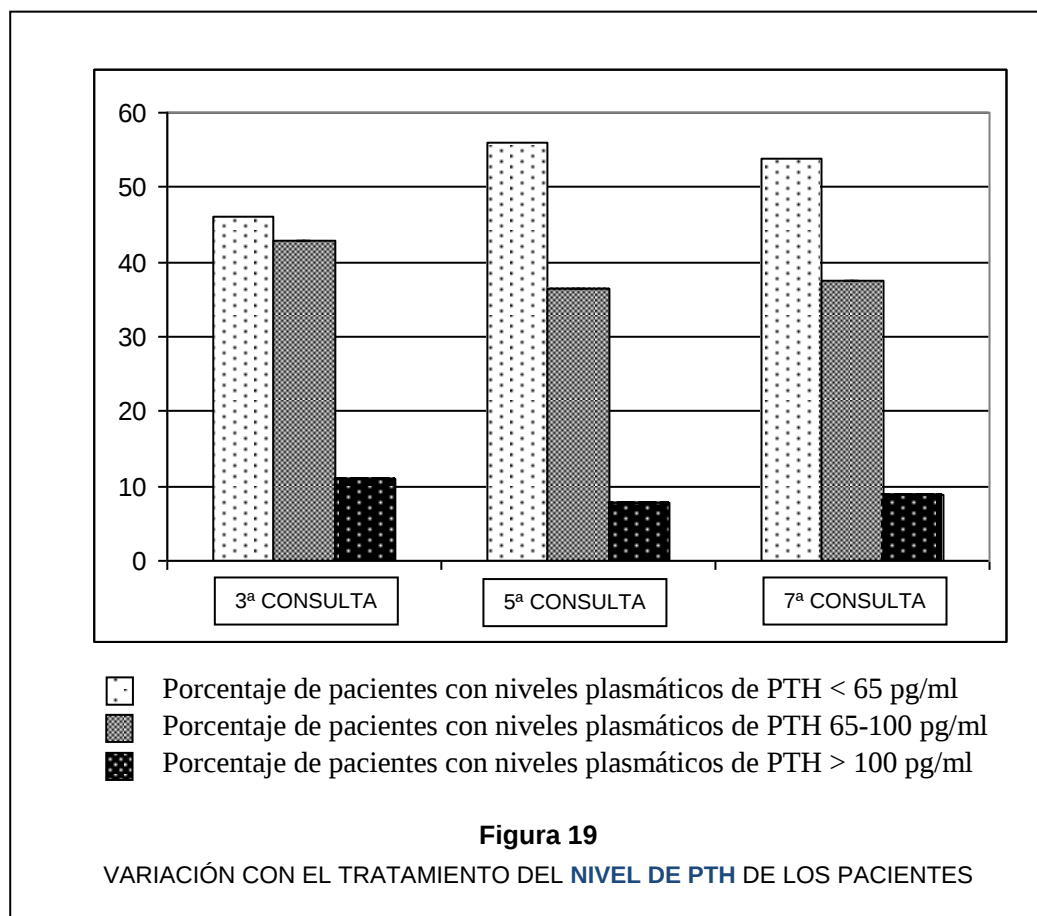
El siguiente análisis que se realizó fue determinar si la elevación de los niveles plasmáticos de 25(OH) que tenían lugar en nuestros pacientes en respuesta al tratamiento se correlacionaban con variaciones en los niveles plasmáticos de PTH. Dada la existencia de interacción entre las dos hormonas resultaba interesante determinar este aspecto ya que parte de los efectos sobre los pacientes de la elevación de los niveles de 25(OH)D podrían llevarse a cabo de forma indirecta a través de la afectación de los niveles de PTH.

Los resultados obtenidos (Figura 18) demostraron que el tratamiento con 25(OH)D producía un descenso significativo en el valor medio de los niveles de PTH de la población de pacientes. Los niveles plasmáticos medios de PTH fueron 65.6 ± 7.1 pg/ml para la población al inicio del estudio (3ª consulta), correspondiendo este valor a la estimación interestacional libre de variación cíclica. En la 5ª consulta los niveles medios de PTH descendieron hasta 29.2 ± 3.2 pg/ml, siendo este descenso estadísticamente significativo ($p < 0.05$). En la 7ª consulta los niveles de PTH se situaron en 40.1 ± 4.7 pg/ml, lo que también supuso un descenso estadísticamente significativo ($p < 0.05$) cuando se compara con el valor inicial en la 3ª consulta.



Con el objeto de caracterizar de una forma más precisa el efecto del tratamiento con 25(OH)D sobre el estatus de la población en relación a la PTH, se dividió a la población en las tres categorías definidas en un apartado anterior y se estudió cómo variaba el porcentaje de estas categorías para la PTH a lo largo del tratamiento (Figura 19). El resultado de este análisis mostró que al inicio del estudio 42 pacientes (46.2%) presentan niveles iguales o inferiores a 65 pg/ml (categoría 1, nivel óptimo), 39 pacientes (42.9%) presentan niveles comprendidos entre 65 y 100 pg/ml (categoría 2, hiperparatiroidismo moderado) y 10 pacientes (0,9%) presentan niveles superiores a 100 pg/ml (categoría 3,

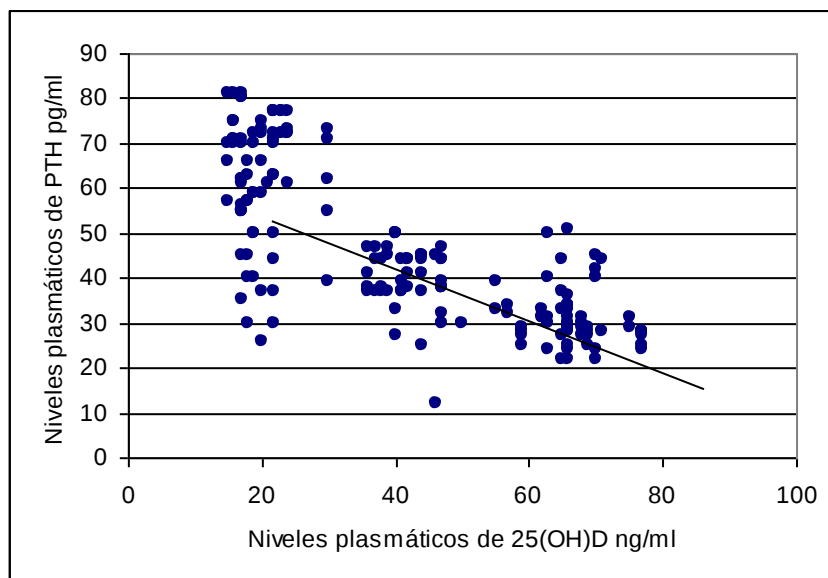
hiperparatiroidismo severo). En la 5ª consulta, el número de pacientes en el nivel óptimo se incrementaba a 51 (56%), había 33 pacientes en la categoría de hiperparatiroidismo moderado (36.3%) y 7 pacientes presentan niveles superiores a 100 pg/ml (7.7%). En la 7ª consulta había 49 pacientes en el nivel óptimo (53.8%), había 34 pacientes en la categoría de hiperparatiroidismo moderado (37.4%) y 8 pacientes presentan niveles superiores a 100 pg/ml (8.8%).



Los resultados de este estudio llevan a la conclusión de que la elevación de los niveles plasmáticos de 25(OH)D derivada del tratamiento con vitamina D conlleva una disminución de los niveles plasmáticos de PTH.

Para caracterizar de forma más completa la interacción entre los niveles plasmáticos de 25(OH)D y niveles plasmáticos de PTH a lo largo del tratamiento, se realizó un análisis de correlación lineal entre estas dos variables (Figura 20). El resultado del estudio reveló que el coeficiente de correlación lineal de Pearson fue $r = -0,61$. Este resultado supone la existencia de correlación lineal negativa con r mayor de 0,5, lo que implica la existencia de

una correlación moderada. Este resultado implica que las dos series de datos no son independientes con más de un 99.5% de seguridad ($p < 0.05$). La recta de regresión que atraviesa la nube de puntos y que mejor se ajusta a ellos resultó ser: $y = -0,6549x + 73,146$



$$y = -0,6549x + 73,146$$

$$r = -0.61$$

Figura 20

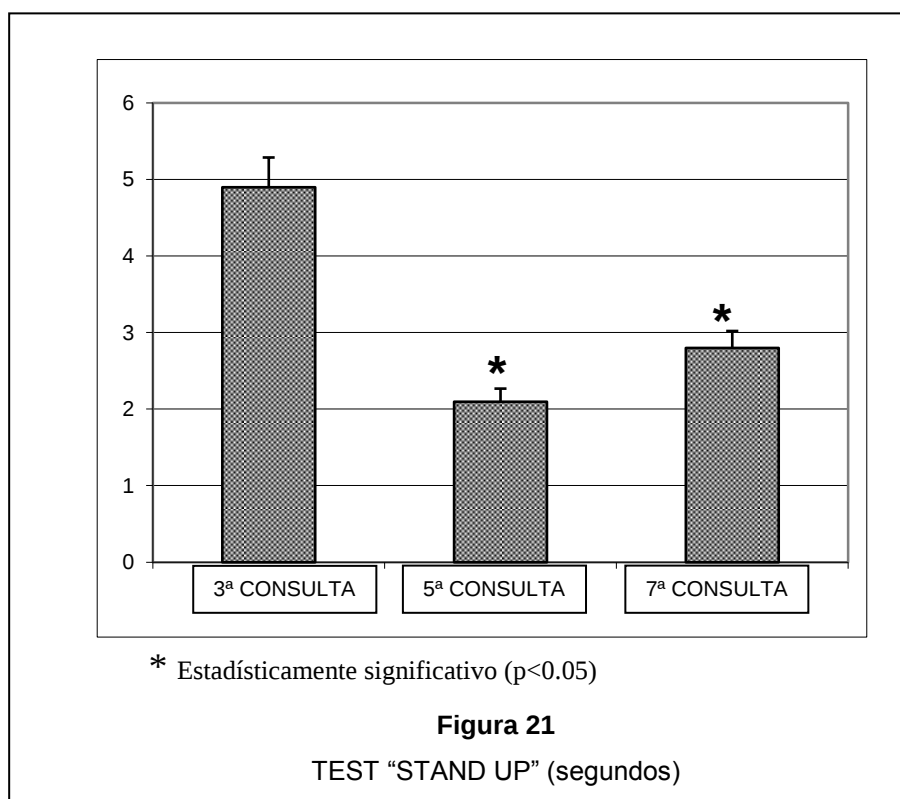
ANÁLISIS DE CORRELACIÓN LINEAL PTH vs 25(OH)D EN LOS PACIENTES

Vitamina D y respuesta muscular

Un aspecto determinante en el presente estudio fue establecer si la elevación de niveles plasmáticos de 25(OH)D daba lugar a una mejoría en la capacidad de respuesta muscular de los pacientes. El protocolo de estudio incluía la realización a los pacientes de un test “stand up” en las consultas 3^a, 5^a y 7^a para valorar el estado inicial de la población, así como el comportamiento de este parámetro a lo largo de las diferentes fases del tratamiento.

Los resultados obtenidos (Figura 21) mostraron que el valor medio del test al inicio del estudio (3^a consulta) fue de 4.9 ± 0.5 segundos. En la 5^a consulta, el valor medio del test descendió hasta 2.1 ± 0.2 segundos, siendo

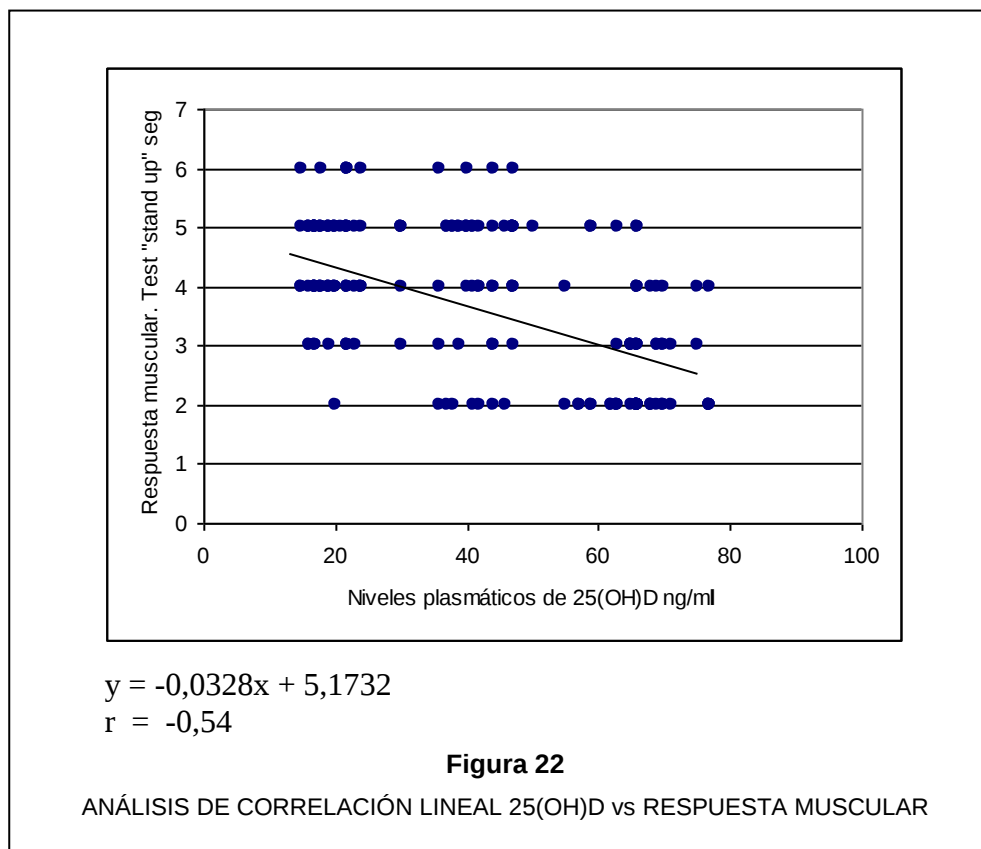
este descenso estadísticamente significativo ($p < 0.05$) comparado con el valor inicial. Finalmente, en la 7ª consulta el valor medio del test fue de 2.9 ± 0.3 , lo que también supuso un descenso estadísticamente significativo ($p < 0.05$).



Los resultados de este análisis llevan a la conclusión de que la elevación de los niveles plasmáticos medios de 25(OH)D derivada del tratamiento con vitamina D conlleva una mejoría en la capacidad de respuesta muscular en la población de pacientes objeto del estudio.

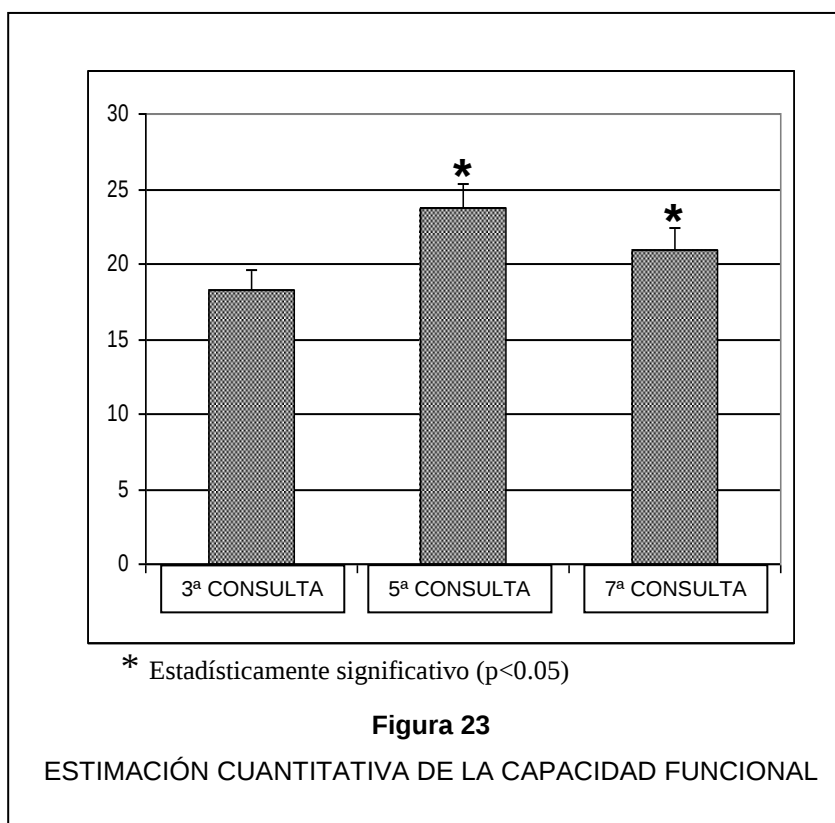
Para caracterizar de forma más completa y precisa la posible existencia de interacción entre los niveles plasmáticos de 25(OH)D y la capacidad de respuesta muscular, se realizó un análisis de correlación lineal entre estas dos variables (Figura 22). El resultado de estudio reveló que el coeficiente de correlación lineal de Pearson fue $r = -0.54$, resultado que supone la existencia de correlación lineal negativa con r ligeramente mayor de 0.5, lo que implica que existe una correlación moderada pero significativa estadísticamente con más de un 99.5% de seguridad ($p < 0.05$). Por tanto, el análisis demuestra que las series de datos correspondientes a las dos variables, niveles plasmáticos de 25(OH)D y capacidad de respuesta muscular en cada paciente, no son independientes sino que están correlacionadas. Es decir hay un porcentaje de pacientes en los

que la elevación del nivel 25(OH)D y la respuesta muscular varían entre sí. La recta de regresión que mejor se ajusta a los valores es: $y = -0,0328x + 5,1732$.

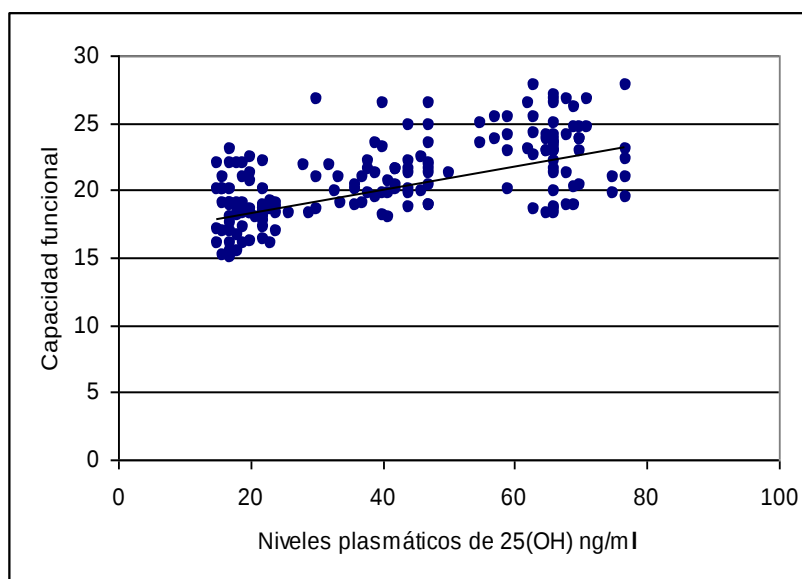


Se realizó un estudio adicional donde se valoró la capacidad funcional de los pacientes. El protocolo de estudio, descrito en el apartado de pacientes y métodos, incluía la contestación por parte del paciente a una serie de preguntas sobre las distintas actividades cotidianas que realizaba. Se realizó un seguimiento de estos valores a lo largo de las sucesivas consultas para valorar el estado inicial de la población, así como el comportamiento de este parámetro a lo largo de las diferentes fases del tratamiento. Los resultados obtenidos (Figura 23) mostraron que el valor medio de actividad según los parámetros establecidos al inicio del estudio (3ª consulta) fue de 18.3 ± 1.7 . En la 5ª consulta, este valor subió hasta 23.7 ± 2.1 segundos, siendo la diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Finalmente, en la 7ª consulta el valor medio del parámetro fue de 20.9 ± 1.9 , lo que también supuso un incremento estadísticamente significativo ($p < 0.05$) cuando se compara con el valor inicial en la 3ª consulta.

Vitamina D y capacidad funcional



Para caracterizar de forma más precisa la posible existencia de interacción entre los niveles plasmáticos de 25(OH)D y la capacidad funcional, se realizó un análisis de correlación lineal entre estas dos variables (Figura 22). El resultado de estudio reveló que el coeficiente de correlación lineal de Pearson fue $r = +0,63$, resultado que supone la existencia de correlación lineal positiva con r mayor de 0.5, lo que implica que existe una correlación moderada pero significativa estadísticamente con más de un 99.5% de seguridad ($p < 0.05$). Por tanto, el análisis demuestra que las series de datos correspondientes a las dos variables, niveles plasmáticos de 25(OH)D y capacidad funcional en cada paciente, no son independientes sino que están correlacionadas y dicha correlación se ajusta bastante a una recta. La recta de regresión que mejor se ajusta a los valores es: $y = 0,0894x + 17,074$



$$y = 0,0894x + 17,074$$

$$r = 0,63$$

Figura 24

ANÁLISIS DE CORRELACIÓN LINEAL 25(OH)D vs CAPACIDAD FUNCIONAL

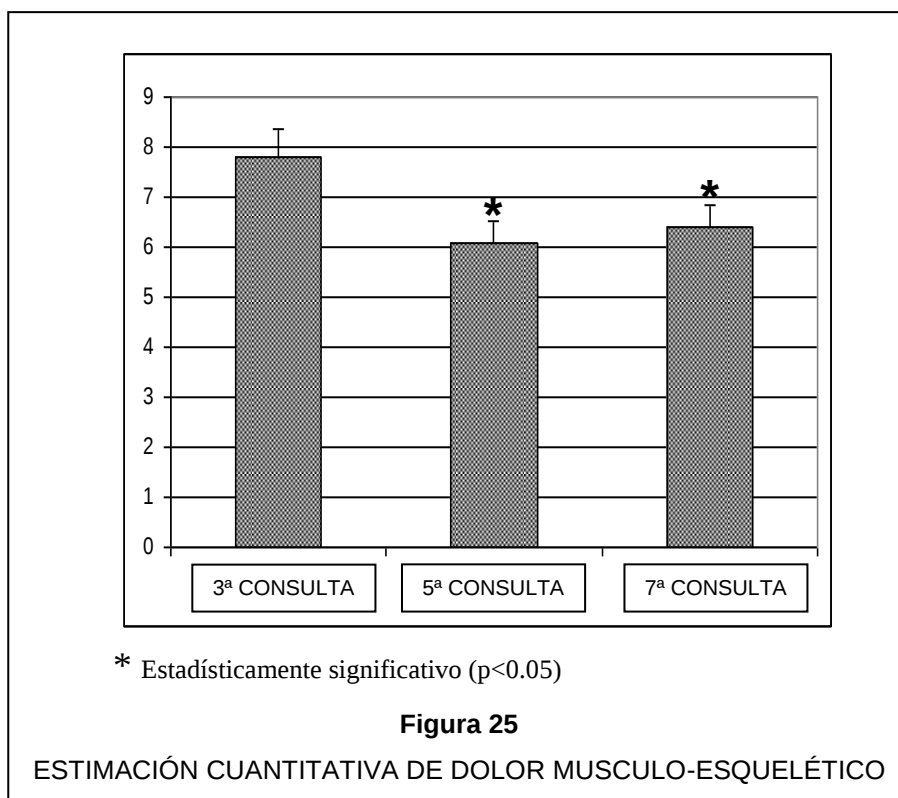
Vitamina D y dolor

Un aspecto central del presente estudio fue analizar si la elevación de niveles plasmáticos de 25(OH)D que se producía como consecuencia del tratamiento tenía algún efecto sobre el nivel de dolor músculo-esquelético inespecífico en los pacientes estudiados. El protocolo de estudio, descrito en el apartado de pacientes y métodos, incluía la realización a los pacientes de un test cuantitativo con una escala de 1 a 10 para valorar la intensidad del dolor en las consultas 3^a, 5^a y 7^a. De tal forma, a cada paciente se le valoraban de forma simultánea en tres puntos del estudio los niveles plasmáticos de 25(OH)D y la intensidad del dolor músculo-esquelético.

En la 3^a consulta se obtuvieron los resultados del estado inicial del paciente, antes del comienzo del tratamiento. En este estado todos los pacientes presentaban un grado de dolor considerable ya que ello había sido el criterio de inclusión en el estudio. En la 5^a consulta los pacientes llevaban dos meses de tratamiento y, como se ha descrito anteriormente, presentaban un incremento significativo de los niveles plasmáticos de 25(OH)D. La 7^a consulta

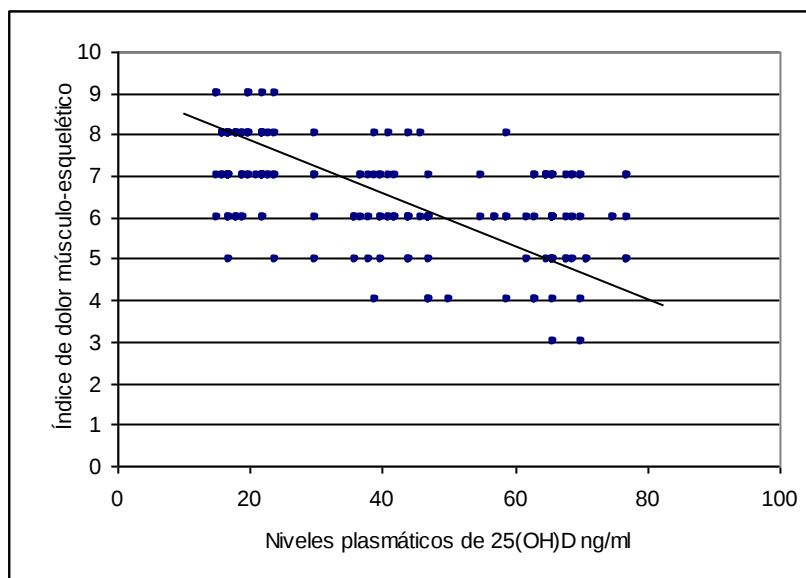
correspondía a la fase final del estudio, cuando los pacientes llevaban ya varios meses con los niveles plasmáticos de 25(OH)D incrementados.

Los resultados obtenidos (Figura 25) mostraron que al inicio del estudio (3ª consulta) el valor medio para la intensidad de dolor fue de 7.8 ± 1.5 , valor que se podría considerar como el basal para la población seleccionada. En la 5ª consulta, el valor medio para la intensidad de dolor descendió hasta 6.1 ± 1.2 , siendo este descenso estadísticamente significativo ($p < 0.05$). Finalmente, en la 7ª consulta el valor medio para la intensidad de dolor se situó en 6.4 ± 1.3 , lo que también supuso un descenso estadísticamente significativo ($p < 0.05$) cuando se compara con el valor inicial en la 3ª consulta. La diferencia entre los valores medios para la intensidad de dolor entre la 5ª y la 7ª consulta no fue estadísticamente significativa.



Los resultados de este análisis llevan a la conclusión de que la elevación de los niveles plasmáticos medios de 25(OH)D derivada del tratamiento con vitamina D conlleva una disminución del valor medio de intensidad del dolor músculo-esquelético en la población de pacientes objeto del estudio.

Para caracterizar de forma más completa y precisa la posible existencia de interacción entre los niveles plasmáticos de 25(OH)D y la intensidad del dolor músculo-esquelético a lo largo del estudio, se realizó un análisis de correlación lineal entre estas dos variables (Figura 26). El resultado de estudio reveló que el coeficiente de correlación lineal de Pearson fue $r = -0,52$, resultado que supone la existencia de correlación lineal negativa con r ligeramente mayor de 0.5, lo que implica que existe una correlación moderada pero significativa estadísticamente con más de un 99.5% de seguridad ($p < 0.05$). Por tanto, el análisis demuestra que las series de datos correspondientes a las dos variables, niveles plasmáticos de 25(OH)D e intensidad del dolor músculo-esquelético en cada paciente, no son independientes sino que están correlacionadas y dicha correlación está en el límite de la significación con una $r = -0,52$. La recta de regresión que mejor se ajusta a los valores es: $y = -0.6549x + 73.146$



$$y = -0,0312x + 7,7701$$

$$r = -0,52$$

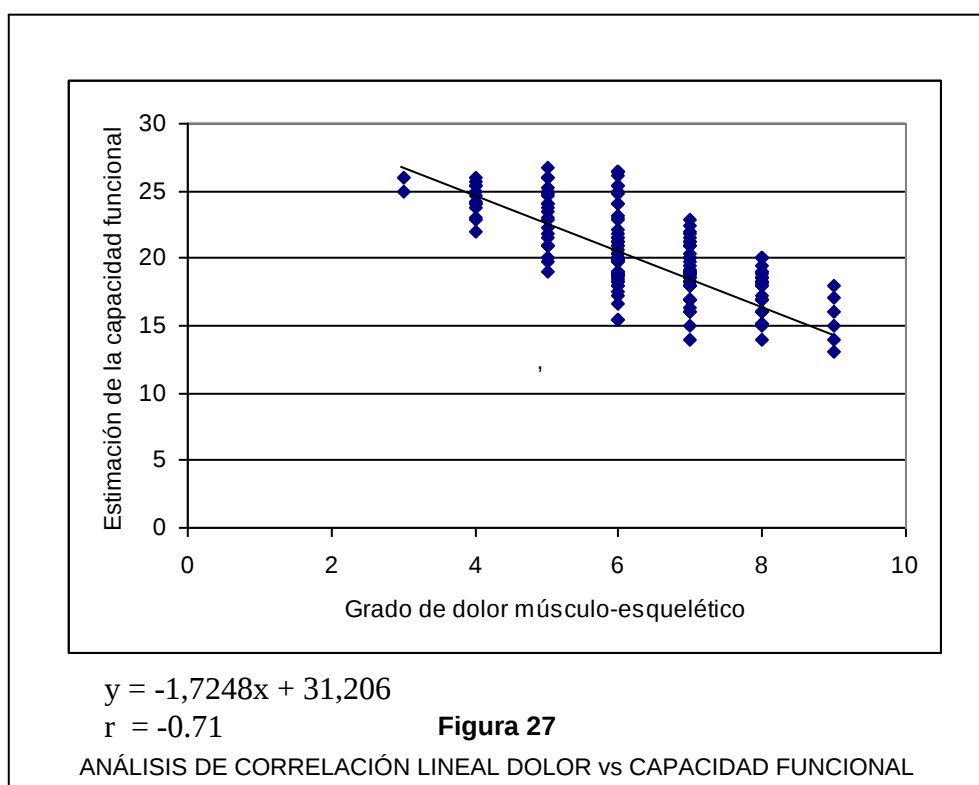
Figura 26

ANÁLISIS DE CORRELACIÓN LINEAL 25(OH)D vs DOLOR MÚSCULO-ESQUELÉTICO

Dolor vs Capacidad Funcional

Se realizó un análisis de correlación lineal entre el grado de dolor músculo-esquelético en los pacientes y su capacidad funcional (Figura 27) con el objeto de determinar si el grado de dolor en los pacientes determinaba su actividad funcional. El resultado del estudio reveló que el coeficiente de correlación lineal de Pearson fue $r = -0.71$ y la recta de regresión que mejor se ajusta a los valores obtenidos es: $y = -1,7248x + 31,206$.

La obtención de un valor de r relativamente próximo a 1 implica que existe una correlación lineal significativa entre la actividad que desempeñan los pacientes y el la valoración del grado de dolor que ellos mismos realizan. Resulta evidente que la existencia de dolor produce siempre un descenso en la actividad funcional de los pacientes y que cuanto mayor sea el dolor mayor será también la disminución de actividad. Por lo tanto este resultado era esperable, si bien es destacable que la existencia de correlación es un buen control para valorar la objetividad de los pacientes a la hora de calificar su grado de dolor, ya que cuantificar la actividad resulta mucho más objetivo que cuantificar el dolor. En definitiva, la existencia de correlación entre el grado de dolor músculo-esquelético en los pacientes y su capacidad funcional demuestra que el método seguido para cuantificar el dolor es fiable.



V. DISCUSIÓN

Nuestro trabajo ha permitido caracterizar el estatus de vitamina D en un sector población que acudía a la consulta del Servicio de Traumatología por dolor osteomuscular difuso mediante la determinación de los niveles sanguíneos de 25-hidroxivitamina D, que es el metabolito circulante que ha sido descrito como el marcador que mejor refleja el status de la vitamina D en el organismo (Bischoff-Ferrari 2008). Los resultados obtenidos muestran que en el periodo de mayor irradiación solar (de abril a septiembre) los valores medios de la población fueron de 28.7 ng/ml mientras que en el periodo de baja irradiación solar, el valor medio de la población fue de 15.6 ng/ml. El porcentaje de pacientes con niveles inferiores a 10 ng/ml, cantidad que es considerada de forma general como claramente insuficiente, fue del 13.2% en el periodo de alta irradiación solar (verano) y se elevó hasta el 24.9%, esto es, un cuarto de la población, en el periodo de invierno. Aunque la valoración de los resultados obtenidos no es sencilla debido a que no existe un criterio totalmente consensuado sobre cuáles son los niveles de 25-hidroxivitamina D que reflejan un estatus óptimo de vitamina D, una primera conclusión incuestionable de nuestro estudio es que la población estudiada presenta en su conjunto un nivel medio no óptimo de vitamina D y que un porcentaje muy significativo de los pacientes presentan una deficiencia muy marcada.

Como se ha señalado, no existe un criterio totalmente consensuado sobre cuáles son los niveles de 25-hidroxivitamina D que reflejan un estatus óptimo de vitamina D. Clásicamente se ha considerado que niveles en sangre por encima de 18-20 ng/ml suponían un estado de normalidad (Dawson-Hughes 2005). Según este criterio, se hablaba de insuficiencia para niveles inferiores a 10-12 ng/ml y deficiencia para valores por debajo de 5-7 ng/ml. Sin embargo este criterio ha sido revisado recientemente por un número creciente de autores que han considerado que niveles normales desde el punto de vista estrictamente estadístico pueden ser en realidad insuficientes desde un punto de vista fisiológico y sanitario. Así, se ha descrito que un nivel sanguíneo de 20 ng/ml puede ser suficiente para asegurar una adecuada absorción de calcio (Heaney y cols 2003) pero no así para una adecuada actividad neuromuscular, para lo que es necesario un nivel más elevado, del orden de 34 ng/ml (Bischoff-Ferrari y cols

2004). Por tanto, la dificultad en la interpretación de todo resultado sobre la vitamina D radica en que ésta tiene un efecto pleiotrópico y los requerimientos para los distintos aspectos de su actividad no son homogéneos sino que parecen variar sustancialmente. Este aspecto se ha visto reforzado recientemente por el descubrimiento de que la vitamina D parece tener un efecto protector del organismo frente al desarrollo de procesos neoplásicos, pero tal efecto sólo tiene lugar cuando los niveles plasmáticos de 25(OH)D se elevan hasta valores extremadamente altos, del orden de más de 50 ng/ml. En este sentido, se ha descrito recientemente que la elevación de los niveles plasmáticos de 25(OH)D hasta 52 ng/ml da lugar a una reducción en el 50% de los cánceres de mama (Garland y cols 2011).

La controversia sobre los niveles óptimos de vitamina D llega al extremo de que algunos autores sostienen que la insuficiencia crónica de vitamina D es un padecimiento que presentan prácticamente la totalidad de las personas, tanto en el mundo occidental como en el tercer mundo (Hollis y cols 2007). Estos autores basan su afirmación en el hecho de que los niveles del principio activo, esto es la 1,25(OH)₂D, apenas muestran variaciones sustanciales ni siquiera en casos extremos donde el aporte del precursor de la vitamina D es muy alto, como sucede en jóvenes Hawaianos con importantes exposiciones solares o mujeres lactantes que recibían un complemento de 6.400 UI de vitamina D por día (Hollis y cols 2007). En estos casos se encontró que era necesario que los niveles de 25(OH)D superasen los 40 ng/ml e incluso los 50 ng/ml para empezar a detectar cambios en la concentración de forma final en la sangre. Este resultado fue interpretado en términos dinámicos como que la saturación de la reacción de producción del principio activo no se alcanzaba por debajo de niveles de 50 ng/ml de 25(OH)D en sangre. Este resultado implica que todo el 25(OH)D disponible se utiliza para generar el principio activo y que prácticamente nada se almacena. Sobre la base de este resultado, estos autores han considerado que el nivel de 40 ng/ml e incluso el de 50 ng/ml podría representar el límite inferior de los niveles de 25(OH)D normales, lo que implica que la mayoría de las personas presentan una insuficiencia crónica del precursor (Hollis y cols 2007). De hecho en nuestro estudio los niveles de 25OH D > 60 ng /ml arrojan los mejores resultados en cuanto

a alivio del dolor. El óptimo rango de 25OH D es 40-65 ng/ml para mantener suprimida la PTH (Lofti 2007).

Es destacable la celebración de un congreso en julio de 2009 en la Universidad de Surrey, Guildford, Reino Unido, que reunió a la mayoría de los especialistas británicos en vitamina D y donde se discutió extensamente sobre cuál debía ser el nivel óptimo de 25(OH)D para los habitantes del Reino Unido. En las conclusiones de dicho congreso sólo fue posible llegar al consenso de la conveniencia de que toda la población presentara niveles superiores a 25 nmol/L (10 ng/ml) (Lanham-New y cols. 2011). Esto implica que no todos los especialistas están de acuerdo sobre la conveniencia de que toda la población presente niveles de 25(OH)D sensiblemente superiores (30 ng/ml ó 75 nmol/l).

En este sentido, algunos especialistas consideran que los valores óptimos de vitamina D varían entre los distintos grupos de una misma población, por lo que no es posible proponer un nivel óptimo de aplicación general. Así, un grupo considerado sin ninguna duda como de alto requerimiento de vitamina D es el constituido por las mujeres embarazadas. Se ha descrito que un nivel bajo de 25(OH)D durante la gestación constituye un problema sanitario muy relevante ya que se ha demostrado que ello puede dar lugar a daño cerebral en el neonato (Feron y cols 2005;65:141-148, Almeras y cols 2007, O'Loan y cols 2007). A pesar de ello, se ha descrito que en el Reino Unido, un alto porcentaje de las mujeres embarazadas presentan un nivel de 25(OH)D inferior al adecuado (Hyppönen y Boucher 2010).

En la misma línea, también existe un acuerdo bastante generalizado de que en pacientes con osteoporosis que presentan altos niveles de PTH, la elevación del nivel plasmático de 25(OH)D hasta el nivel de 75 nmol/L (30 ng/ml) induce un descenso del nivel de la PTH y ello contribuye a la normalización del equilibrio formación/resorción ósea. Por tanto, en este grupo de la población también existe un acuerdo bastante generalizado de que resulta conveniente elevar los niveles plasmáticos de 25(OH)D hasta al menos el nivel de 75 nmol/L (30 ng/ml). Finalmente, una conclusión también aceptada de forma totalmente

unánime por todos los especialistas británicos en vitamina D fue que la deficiencia en vitamina D es un problema sanitario emergente en el Reino Unido y que se hace necesario utilizar estrategias nuevas de aporte de vitamina D para subsanar este problema (Lanham-New y cols. 2011).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo son coherentes con las conclusiones generales de estos extensos trabajos realizados en el Reino Unido, ya que los pacientes tratados en el presente estudio eran mujeres con una edad avanzada, situación en la que el porcentaje de osteoporosis es muy alto, y presentaban niveles plasmáticos de 25(OH)D claramente insuficientes, especialmente en esta situación. Consideramos que estos trabajos realizados en el Reino Unido son relevantes para el análisis de los resultados de nuestro trabajo ya que Asturias tiene un clima oceánico que en muchos aspectos puede resultar más próximo al del Reino Unido que al de algunas comunidades españolas como Andalucía, Cataluña e incluso Madrid. No obstante es relevante señalar que si bien las condiciones climáticas de nuestra población pueden ser próximas a las de la población británica, los hábitos alimenticios son muy diferentes. Además se puede señalar que aunque exista un cierto proceso de globalización y uniformidad en relación a la alimentación de los distintos países europeos, este proceso es mucho menos marcado en las personas mayores, que son precisamente las que han sido objeto de nuestro estudio. Las personas mayores conservan unos hábitos de alimentación más tradicionales, aunque normalmente suelen ser bastante ricos en grasas, éstas difieren bastante de las presentes en los alimentos tradicionales del Reino Unido. Este aspecto es relevante ya que los alimentos grasos tienen un alto contenido en vitamina D, pero también contienen vitamina A, que tiene un efecto antagónico de la vitamina D (Rohde y DeLuca 2005).

Es importante señalar que se ha descrito que la exposición solar es siempre un medio mucho más potente para la producción de vitamina D que la ingesta oral. Se ha estimado que la producción de vitamina D tras sólo unos minutos de exposición a la luz solar supera a las fuentes dietéticas en un orden de magnitud (Poskitt y cols 1979, Holick 1987). Así, se ha calculado que cuando

una persona joven de piel blanca expone su piel al sol en el verano se producen unos 20.000 UI de vitamina D en 30 minutos (Hollis 2005), lo que es el equivalente de unos 200 vasos de leche o bien 50 tabletas estándar de multivitaminas (400 IU/tableta). Nuestros resultados son coherentes con esta línea pues demuestran que los niveles de 25(OH)D de nuestros pacientes varían sustancialmente dependiendo de que se realicen en el periodo de alta o baja irradiación solar. Este resultado indica que incluso en personas mayores, donde la capacidad de síntesis de vitamina D es mucho menor, la exposición solar sigue siendo un factor crítico para determinar los niveles en sangre de la 25(OH)D.

Algunos autores han propuesto que un criterio más preciso para establecer el nivel apropiado de vitamina D en un organismo es determinar el nivel asociado de PTH (Zisman y cols 2005). Esta afirmación se basa en el hecho de que la deficiencia en vitamina D genera un déficit en la absorción de calcio a nivel del intestino que produce un descenso de los niveles de calcio en plasma, lo que a su vez tiene como consecuencia una activación de la glándula paratiroides que genera una elevación de la PTH y el correspondiente incremento en la movilización de calcio en la matriz ósea con el objetivo de restablecer los niveles plasmáticos de calcio, que es un factor crítico para el organismo. Sobre esta base argumental, algunos autores consideran que el límite de suficiencia de vitamina D se debe definir como la concentración sérica de 25(OH)D por debajo de la cual la concentración de PTH se eleva y se produce hiperparatiroidismo (Bischoff-Ferrari y cols. 2004, Bischoff-Ferrari y cols. 2006, Holick 2007, Dawson-Hughes y cols, Binkley y cols. 2010, Kennel y cols. 2010). Este razonamiento es coherente con resultados obtenidos en estudios clínicos, donde se encontró que la prevalencia de hiperparatiroidismo secundario era del 33% en pacientes con niveles de 25(OH)D inferiores a 10 ng/ml, mientras que no se encontró ningún caso entre los pacientes con niveles de 25(OH)D superiores a 40 ng/ml (Gómez-Alonso y cols. 2003). Asimismo, pacientes con niveles de vitamina D del orden 18-20 ng/ml presentaban con una frecuencia alta un hiperparatiroidismo asociado.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo son totalmente coherentes con este planteamiento, ya que la mayor parte de los pacientes con niveles bajos de 25(OH)D presentaban un hiperparatiroidismo secundario. No sólo eso, nuestro estudio ha demostrado que en nuestros pacientes existía una correlación negativa estadísticamente significativa entre niveles bajos de 25(OH)D y elevación de los niveles plasmáticos de PTH. Por lo tanto, nuestros resultados sustentan la idea de que el nivel apropiado de vitamina D es aquel asociado con niveles normales de PTH, por lo que el nivel mínimo de 25(OH)D debe estar por encima de 30 ng/ml. Según este criterio, habría hipovitaminosis D cuando la concentración de 25(OH)D está entre 20 y 30 ng/ml, insuficiencia para concentraciones entre 10-20 ng/ml y deficiencia para valores inferiores a 10 ng/ml (Bischoff-Ferrari y cols. 2004, Bischoff-Ferrari y cols. 2006, Holick 2007, Dawson-Hughes y cols, Binkley y cols. 2010, Kennel y cols. 2010).

Cuando se tiene en cuenta este criterio más exigente que considera que existe hipovitaminosis D si la concentración de 25(OH)D está entre 20 y 30 ng/ml, la población de pacientes que hemos estudiado presenta sin duda una clara deficiencia de vitamina D. Como se ha descrito, en el periodo de mayor irradiación solar el valor medio es de 28.7 ng/ml, lo que quiere decir que el mismo valor medio se encuentra ya dentro del rango de hipovitaminosis. Más aún, en el periodo de baja irradiación solar, el valor medio de la población descendió hasta 15.6 ng/ml, lo que implica que el mismo valor medio es prácticamente la mitad del valor recomendado y no sólo eso sino que se sale del rango de la hipovitaminosis y se coloca directamente en el rango de la insuficiencia vitamínica. Esto refuerza la conclusión previamente señalada de que la población estudiada presenta en su conjunto un nivel inadecuado de vitamina D. En el periodo de alta irradiación solar sólo un 16.0% de nuestros pacientes presentaron niveles iguales o superiores a 30 ng/ml, por lo que sólo un porcentaje muy pequeño de la población presenta niveles óptimos en el periodo anual más favorable. En este periodo favorable, un 40.6% de nuestros pacientes presentaron una deficiencia moderada (20-30 ng/ml), un 30.2% presentaron deficiencia severa (10-20 ng/ml) y un 13.2% de los pacientes presentan niveles inferiores a 10 ng/ml. Todos estos resultados demuestran que en el periodo más favorable, sólo un porcentaje muy reducido de la población

presenta niveles óptimos, mientras que la mayor parte presenta niveles insuficientes e incluso un porcentaje importante de pacientes presenta niveles ínfimos. Cuando se considera el periodo de baja irradiación solar, los resultados empeoran de forma muy acusada, habiendo sólo un 3.6% de los pacientes con niveles óptimos, un 31.6% con deficiencia moderada, un 39.9% con deficiencia severa y un 24.9% de pacientes con deficiencia extrema.

Por tanto, los resultados obtenidos indican que existe una marcada insuficiencia de vitamina D en la población de pacientes estudiados. Aunque esos resultados parezcan extraordinariamente negativos es resaltable el hecho de que nuestros datos son comparables a los obtenidos en otros estudios clínicos realizados en diversos países de Europa Occidental, donde se describe la prevalencia de la insuficiencia en vitamina D en el momento actual (Chapusy y cols 1997, Rucker y cols 2002, Winzenberg y cols 2011). Esta insuficiencia es especialmente alta en ancianos pero no exclusiva ya que también aparece en jóvenes. Se ha descrito que, en la población europea anciana sana, un 36% de los hombres y un 47% de las mujeres presentaban niveles séricos de 25-(OH)-D inferiores a 12 ng/ml, siendo precisamente los países más meridionales, a pesar de su mayor irradiación solar, los que presentaban valores más bajos (Holick 2007). En este sentido, se ha descrito que más de la mitad de los ancianos españoles tienen niveles séricos de vitamina D por debajo de 15 ng/ml, con un empeoramiento estacional al final del invierno y comienzo de la primavera. Se ha descrito que la prevalencia de hipovitaminosis es aún mayor cuando las personas mayores tienen alguna limitación física que hace que permanezcan en sus hogares mucho tiempo (Gloth y cols 1995).

Aunque la insuficiencia es siempre más acusada en ancianos, no sólo se ha descrito en personas de edad avanzada, sino que ocurre también en los adultos jóvenes. Un estudio realizado en jóvenes ingresados por procesos agudos en sala general de medicina interna (Peterlik y cols 2009) demostró que un 57% de ellos presentaban niveles séricos inferiores a 15 ng/ml. Así es un hecho que se ha descrito repetidamente que la población presenta con mucha frecuencia niveles bajos de vitamina D y ello no ocurre sólo en personas de edad avanzada sino que también tiene lugar en jóvenes y adolescentes (Lips y cols. 1983, Oliveri y cols. 1993, Rosen y cols. 1994, Guillemant y cols. 1995). En

esta misma línea, un reciente estudio realizado en mujeres españolas adolescentes dentro del proyecto europeo OPTIFORD para conocer el estatus de vitamina D ha demostrado que únicamente el 34% de las participantes presentaban un estatus adecuado de vitamina D (Rodríguez Sangrador y cols 2010). En un amplio estudio llevado a cabo en 6 regiones del mundo, correspondientes a Asia, Europa, África y Oriente Medio, Norteamérica, Latinoamérica y Oceanía (Mithal y cols 2009) se demostró que niveles de 25(OH)D por debajo de 75 nmol/L (30 ng/ml) eran muy frecuentes y que en zonas de el sur de Asia y en Oriente Medio los niveles podían bajar hasta 25 nmol/L (10 ng/ml). En todas existían una serie de factores que incrementaban el riesgo de hipovitaminosis, como eran la edad avanzada, ser de sexo femenino, la elevada altitud de la región, la existencia de inviernos muy duros, la pigmentación oscura, la baja exposición solar y unos hábitos alimenticios deficientes. Como conclusión del estudio se llegó a que la hipovitaminosis D era un problema sanitario emergente distribuido a escala global.

Asimismo, en el 3^{er} Congreso Nacional de Estados Unidos de Salud y Nutrición (NHANES III) se describió que hasta el 30% de las personas de 60 o más años que viven en latitudes por debajo de 45° N presentan insuficiencia para la vitamina D en invierno y que hasta el 26% de las personas que residen en regiones con latitud por encima de los 40° N presentan insuficiencia para la vitamina D en verano (Looker y cols 2002). Además, existe en el mundo occidental un hábito cada vez más extendido de protección frente a la irradiación solar, debido en parte al riesgo de melanomas malignos. Esto hace que en zonas como Miami, en Florida, que presenta un clima subtropical, exista una alta incidencia de déficit de vitamina D (Levis y cols 2005).

La insuficiencia por vitamina D se agrava en determinadas enfermedades debido al tratamiento farmacológico, como en las enfermedades tratadas con corticoides (Thacher 2011). Se ha descrito que más de la mitad de la población de mujeres en edad postmenopáusica que toman fármacos para la osteoporosis presentan niveles de 25(OH)D inferiores a 30 ng/ml. En la misma línea, se ha descrito que los pacientes con osteoporosis que presentan siempre niveles de PTH elevados requieren niveles plasmáticos de 25(OH)D superiores a 75 nmol/L para que esta hormona se normalice, lo que requiere un tratamiento con dosis

elevadas de vitamina D, del orden de 3000 IU diarias (Leidig-Bruckner y cols 2010).

Los niveles bajos de Vitamina D se pueden derivar de tres tipos de factores: exposición solar insuficiente, dieta alimenticia deficiente o alteraciones fisiológicas y metabólicas. Los resultados de nuestro estudio demostraron que los niveles plasmáticos de 25(OH)D variaban significativamente entre los periodos de alta y baja irradiación solar. El valor medio de la población en el periodo de baja irradiación solar (15.6 pg/ml) se incrementó un 92% en el de alta irradiación solar (28.7 pg/ml). Esto implica una fluctuación estacional muy acusada y ello demuestra que a pesar de que la edad media de la población de pacientes estudiados era relativamente elevada (72,7 años), los niveles plasmáticos de 25(OH)D dependen de forma significativa de las condiciones de irradiación. Se ha descrito que en las regiones situadas a una latitud de 45° norte o menos, la capacidad del sol para generar vitamina D está restringida a la primavera y el verano (Rosen y cols. 1994). La latitud de Gijón es de 43.32° N (Longitud 5.42W), lo que implica que no existe síntesis de vitamina D durante los periodos de otoño e invierno por lo que en esos periodos toda la vitamina D procede de la dieta. Por tanto, un primer factor que puede condicionar la hipovitaminosis de la población estudiada es la baja irradiación solar en el periodo de invierno. El hecho de que los niveles sean bastante bajos también en el periodo de verano implica que existen más factores implicados. Incluso en el periodo de primavera y verano, la zona de Gijón no está asociada a una alta irradiación solar debido a su clima oceánico, con un porcentaje alto de días nublados en los que la luz UV es casi completamente filtrada y una muy baja altitud por encontrarse a nivel del mar. No obstante, la exposición solar debiera ser suficiente para que se alcancen niveles adecuados de la vitamina. De hecho, se ha descrito que en los países más meridionales, a pesar de su mayor irradiación solar, es donde la población presenta valores más bajos de 25(OH)D (Thacher 2011). Esto último puede ser debido a que en zonas excesivamente cálidas se hace necesario evitar la exposición directa al sol debido a las altas temperaturas.

Los pacientes del área sanitaria de Gijón, no presentan el problema de vivir en una zona excesivamente cálida donde se hace necesario evitar la

exposición directa al sol debido a las altas temperaturas, por lo que los valores bajos deben ser ocasionados por unos hábitos de exposición solar escasa, una dieta alimenticia deficiente o bien alteraciones metabólicas. Dado que la alimentación de los pacientes es generalmente buena, e incluso, con un porcentaje en alimentos grasos, y por tanto ricos en vitamina D, más altos de los recomendables, es razonable pensar que parte al menos de la deficiencia es debida a alteraciones de tipo metabólico. Se han descrito mutaciones en el gen responsable de la enzima 1-alfahidroxilasa que dan lugar a niveles indetectables de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ y ello genera alteraciones muy marcadas. Asimismo mutaciones inactivadoras en el gen del receptor de la vitamina D producen alteraciones a pesar de presentar niveles muy elevados de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Sin embargo, estos casos son infrecuentes y no es probable que aparezcan en una población como la objeto de estudio. Un aspecto importante a tener en cuenta es que de forma generalizada la capacidad de la piel para sintetizar la provitamina D disminuye de forma progresiva con la edad (Lips 2001). Existe una disminución significativa a partir de los 50 años de edad, y esta reducción llega al 50% a partir de los 70 años. Asimismo, el envejecimiento también da lugar a un descenso en la capacidad de hidroxilación renal. Como consecuencia, el riesgo de hipovitaminosis aumenta con la edad, y esto es coherente con los resultados obtenidos en nuestra población de pacientes, en la que la edad media fue bastante elevada. Finalmente, dada su naturaleza química, la Vitamina D utiliza el mecanismo de absorción de las grasas, precisando interaccionar con las sales biliares. En consecuencia, las alteraciones de la secreción biliar producen una reducción importante de la capacidad de absorción. Este factor también es relevante a la hora de considerar una población de pacientes de avanzada edad.

La producción de calcitriol por el riñón también está regulada por los niveles de fósforo. El aumento de los niveles de fósforo actúa directamente sobre el riñón a nivel transcripcional inhibiendo la producción de calcitriol (Tanaka y De Luca 1973). Por tanto, la retención de fósforo es uno de los factores etiopatogénicos claves en la determinación del estatus de vitamina D ya que disminuye la producción de calcitriol, favorece la hipocalcemia y tiene un efecto estimulador directo sobre la PTH, produciendo Hiperparatiroidismo.

Como ya se ha apuntado en un apartado anterior, la vitamina D tiene efectos pleiotrópicos, lo que hace que su déficit produzca numerosas alteraciones que derivan en varias enfermedades. Este hecho se debe a que el número de tejidos diana diferentes con receptores para la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ supera los 35 (Christakos y cols 2007), lo que implica que la vitamina D presenta una diversidad funcional muy alta. Como no todos los tejidos tienen los mismos requerimientos, esta presencia tan generalizada es lo que justifica que la insuficiencia en esta vitamina pueda tener una afectación tan amplia y al mismo tiempo tan variable. Las alteraciones más caracterizadas son las relacionadas con la alteración de los niveles de calcio y la mineralización. Una deficiencia severa y prolongada de vitamina D (niveles inferiores a 10 ng/ml) da lugar a una inhibición en la mineralización de la matriz ósea. Si la alteración tiene lugar durante la fase de crecimiento óseo se produce raquitismo. Si tiene lugar durante el estado adulto, cuando ya ha concluido el desarrollo, se produce osteomalacia. Pero además, la hipovitaminosis se ha asociado a patologías tan variadas como la tuberculosis, la diabetes tipo 1, la hipertensión, el fallo cardíaco congestivo y diversos tumores (colon, pulmón, próstata y ovarios).

La existencia de una interrelación muy marcada entre los niveles de vitamina D y de PTH es un hecho bien conocido. Se ha descrito que uno de los efectos del descenso en los niveles de vitamina D es un aumento en los niveles de PTH, y por ello un hiperparatiroidismo secundario (Fraser y cols. 1967, Gómez-Alonso y cols 2003, Kuchuk y cols 2009, Carnevale y cols 2010, Mazzaferro y cols 2010, Grethen y cols. 2011, Yamauchi y cols 2011). Los resultados obtenidos en nuestro estudio son coherentes con estos trabajos ya que en nuestros pacientes con bajos niveles de $25(\text{OH})\text{D}$ se observa una elevación de los niveles de PTH. Los niveles plasmáticos de esta hormona variaron de forma significativa entre los periodos de alta y baja irradiación solar. En el periodo de alta irradiación solar, el valor medio para la población fue de 59.3 pg/ml, valor que es inferior al límite establecido para el hiperparatiroidismo secundario (65 pg/ml). Sin embargo, durante el periodo de baja irradiación solar el valor medio para la población ascendió a 71.8 pg/ml, por lo que se situó por encima del valor límite para el hiperparatiroidismo secundario.

El hiperparatiroidismo secundario (HPTH) es una enfermedad caracterizada por un incremento en la función secretora de las glándulas paratiroides que ocasiona una excesiva secreción de PTH (Cozzolino y cols 2009). El aumento de PTH provoca resorción ósea excesiva y una deficiente mineralización del hueso, lo que origina desequilibrios óseos. El hiperparatiroidismo secundario se caracteriza por calcemia normal o muy ligeramente elevada, hiperfosfatemia y fosfatasa alcalina elevada. La secreción de PTH por las células de las glándulas paratiroides está regulada por varios factores. La función de la PTH es mantener la concentración de calcio extracelular dentro de los niveles normales y es precisamente el calcio extracelular el primer regulador de la secreción de PTH. Las células de las glándulas paratiroides son capaces de captar directamente los niveles de calcio gracias a la existencia de un receptor localizado en la membrana plasmática de las células (CaR). Cuando se produce un descenso del calcio dentro del rango fisiológico, ello induce un incremento de la secreción de PTH. Si la hipocalcemia es prolongada, además de estimular la secreción de PTH, se produce un aumento de la expresión génica de modo que se observa un incremento del RNA mensajero de la PTH y, con ello, un aumento de la traducción y la síntesis de la proteína (Yamamoto y cols. 1989).

La vitamina D juega un papel crítico en la regulación de la secreción de PTH y ello lo hace porque actúa a varios niveles diferentes. En primer lugar, de forma indirecta a través de su control de los niveles de calcio. Cuando se produce un descenso de la vitamina D conlleva una menor absorción intestinal de calcio y da lugar a una disminución de los niveles de calcio extracelular que es captada por el receptor CaR localizado en las células de las glándulas paratiroides (Heaney y cols. 1997). Pero además, estudios in vitro han demostrado que en las células paratiroides existen receptores para el calcitriol y que la activación de éstos por el calcitriol da lugar a una disminución de la expresión del gen de la PTH, induciendo una disminución de la producción del mRNA PTH (Silver y cols 1985). Cuando se produce un descenso de los niveles de vitamina D ello conlleva la disminución de este efecto inhibitor de la expresión génica de la PTH y, por ello, un aumento en su producción.

Finalmente, el calcitriol juega un papel relevante en el control de la expresión génica del calcio receptor (caR) localizado en la membrana plasmática de las células de las glándulas paratiroides (Brown y cols 1996). Por tanto, la vitamina D es necesaria para que las células de las glándulas paratiroides sintetizen sus receptores de membrana para el Ca y puedan así ser sensibles a cambios en su concentración. Como consecuencia, la administración de calcitriol ha demostrado ser un tratamiento eficaz para los enfermos con hiperparatiroidismo secundario derivado de situaciones patológicas diversas (Slatopolsky y cols. 1984, Delmez y cols. 1989, Dunlay y cols. 1989, Malberti y cols. 1996, Rodríguez y cols. 1999, Costa y cols. 2003, Schindler y cols 2004, Ito y cols. 2009).

No obstante, la administración de vitamina D sólo es eficaz en el descenso de los niveles plasmáticos de PTH cuando el nivel basal de 25(OH)D es inferior a 50 nmol/L (Malabanan y cols 1998, Lips y cols 2001). En esta misma línea, un estudio realizado en hombres y mujeres sanos con edades comprendidas entre 20 y 80 años y con niveles plasmáticos medios de 25(OH)D de 67 nmol/L, ha demostrado que ni siquiera un tratamiento con dosis tan altas como 4000 IU diarias de vitamina D es efectivo para variar los niveles plasmáticos de PTH o los marcadores de la síntesis/resorción ósea (Aloia y cols 2010). Asimismo, se ha demostrado recientemente en voluntarios sanos que la regulación de los niveles plasmáticos de PTH varía dependiendo del rango de los niveles plasmáticos de 25(OH)D (Carnevale y cols 2010). Cuando la concentración de 25(OH)D es menor o igual a 40 nmol/L, éste es el factor principal en la determinación de los niveles plasmáticos de PTH. Sin embargo, para valores de 25 (OH)D superiores a 40 nmol/L, es el nivel plasmático de ión calcio el que juega un papel más relevante.

Por otra parte, se ha demostrado que para un mismo nivel plasmático de 25(OH)D, los niveles de PTH son iguales en personas de los dos sexos, pero no ocurre así cuando se comparan personas de distinta edad ya que para un mismo nivel de 25(OH)D los valores de PTH son entre 1.5 y 2 veces más altos en personas de edad avanzada que en adolescentes (Arabi y cols 2010). Asimismo, se ha demostrado que la existencia de niveles plasmáticos altos de PTH es un fuerte predictor significativamente asociado a malos resultados en

pacientes de edad avanzada (Fisher y cols 2007, 2009). 25 OH D < 10ng/ml se asocia a hiperparatiroidismo secundario, 40 ng/ml ya es cifra de seguridad para evitarlo (Dawson-Huges 2005).

Los resultados de nuestro estudio demostraron que los niveles plasmáticos de PTH de los pacientes variaban estacionalmente, con valores significativamente más altos en el periodo de baja irradiación solar. Este resultado coincide con el obtenido previamente en otros estudios realizados en personas mayores pero también en jóvenes y adolescentes (Lips y cols. 1983, Oliveri y cols. 1993, Rosen y cols. 1994, Guillemant y cols. 1995). Nuestro estudio mostró una correlación negativa entre los niveles de PTH y de 25(OH)D, resultado que es coherente con el papel crítico que desempeña la vitamina D en la regulación de la secreción de PTH. La dependencia que la PTH tiene del estatus de vitamina D ha quedado de manifiesto por el estudios que han demostrado que la variación estacional de la PTH se atenúa o llega a desaparecer por completo cuando se administra a los pacientes un suplemento de vitamina D (Krall y cols. 1989, Khaw y cols. 1994). El hecho de que nuestra población de pacientes presente una variación estacional en los niveles de PTH es un indicador de que el aporte de vitamina D a través de la dieta no es suficiente.

El hecho de que la población de los países occidentales presente niveles bajos de vitamina D, más acusados en personas de edad avanzada pero también presentes en jóvenes y adolescentes, ha llevado al criterio prácticamente unánime de la necesidad de suplementación alimenticia con vitamina D. Sin embargo, al igual que no existe un acuerdo unánime sobre cuáles son los niveles plasmáticos óptimos de vitamina D, tampoco se ha establecido de forma definitiva una dosis exacta de vitamina D que sea considerada segura a largo plazo de forma unánime. Se ha señalado (Cannell y Hollis 2008) que un problema que se plantea es de tipo subjetivo y se debe a la terminología que se usa para expresar la dosis de vitamina D. Una unidad internacional o IU es sólo 0.025 mg o 25 microgramos, o lo que es lo mismo, 1 microgramo equivale a 40 IU. Esto hace que cuando se expresa la dosis en esta unidad, se habla de cientos o miles de IU y puede parecer que se está tratando con cantidades muy altas cuando no es así. Otro aspecto ya más objetivo es

que la cantidad de vitamina D suplementaria que puede precisar un paciente depende de muchos factores diferentes, como el peso, la grasa corporal, la edad, el grado de pigmentación de su piel, la época del año y sus hábitos de exposición al sol. Como consecuencia de todas estas variables, se hace casi necesario ajustar la dosis a cada paciente de forma individual y resulta muy difícil hablar de dosis que se puedan aplicar de forma generalizada.

Un aspecto a tener en cuenta a la hora de considerar la suplementación alimenticia de vitamina D es su farmacocinética, que se puede considerar única entre las hormonas esteroideas ya que el factor limitante para la producción en el hígado de 25 (OH) D es la concentración de sustrato. Esto significa que las enzimas hepáticas que inicialmente hidroxilan la vitamina D para formar 25(OH)D al igual que las enzimas en el tejido renal y otros tejidos que generan 1,25(OH)₂D operan por debajo de sus constantes de Michaelis-Menten a lo largo de toda la gama de concentraciones del sustrato en el organismo humano. Esto quiere decir que cuanta más vitamina D se ingiere, más se convierte en 25(OH)D, y cuanto más se convierte en 25(OH)D, más se genera 1,25(OH)₂D en los tejidos (Vieth 2005). Esto implica que la producción de la molécula activa no está bajo un control exhaustivo lo cual constituye un caso único en las hormonas esteroideas y plantea el problema de que se puedan alcanzar niveles muy altos a través de la ingestión del sustrato. Sin embargo en nuestro estudio a lo largo del tiempo pudimos ver que si cesa la administración de suplemento nuevamente caen los niveles, lejos de acumularse como clásicamente se dijo.

El Instituto Americano de Medicina para la Nutrición y los Alimentos (FNB) estableció en 1997 una guía de recomendación de ingesta de vitamina D para la población que no estuviese sometida directamente a supervisión médica. En ella se establece que la ingesta diaria recomendada de vitamina D es de 5 microgramos al día desde el nacimiento a los 50 años, equivalente a 200 UI. Los adultos entre 51 y 70 años deben aumentar su ingesta a 10 microgramos diarios, equivalente a 400 UI. A partir de 70 años se recomienda una ingesta diaria de 15 microgramos diarios, equivalente a 600 UI. Las máximas cantidades diarias tolerables son de 25 microgramos diarios en niños y 50 microgramos diarios en adultos, equivalentes a 1000 y 2000 UI, respectivamente. Sin embargo, estas recomendaciones han sido cuestionadas por muchos autores

(Cannell y Hollis 2008) quienes expresan que el aporte de 1000UI/día puede elevar los niveles de 25(OH)D unos 10ng/ml, y aconsejan lograr niveles de 25(OH)D >40ng/ml. La Sociedad Pediátrica Canadiense recomienda que mujeres embarazadas o lactantes tomen 50 microgramos diarios (2000 UI) de vitamina D y que todos los bebés alimentados exclusivamente con lactancia materna deben ser suplementados con 10 microgramos diarios (400 UI). Asimismo, según la Escuela de Salud Pública de Harvard, para lograr unos niveles adecuados de 25(OH)D en sangre, es necesario una ingesta de 25 microgramos diarios (1000 UI). En un trabajo reciente se ha determinado que la dosis efectiva mínima en personas mayores es de 800 UI al día (Demontiero y cols 2011) y que su administración debería ser generalizada especialmente cuando éstas se encuentren institucionalizados, donde la movilidad es reducida. En esta línea, existe un criterio casi unánime de que las personas mayores presentan una correlación positiva entre los niveles plasmáticos de 25(OH) D y su salud ósea por lo que muestran un menor riesgo de sufrir fracturas óseas (Tenta y cols 2010, Bischoff-Ferrari HA y cols 2011).

Se ha descrito que una suplementación de 1000 IU (25 mcg) por día de vitamina D durante 3-4 meses da lugar en un adulto sano de peso medio a una elevación media del orden de 10 ng/mL de los niveles plasmáticos de 25(OH)D (Cannell y Hollis 2008). Ello implica que si consideramos el caso hipotético de un adulto sano con peso normal que tenga un nivel inicial de 25(OH)D de 10 ng/mL, para poder alcanzar un nivel de 30 ng/mL en ausencia de exposición solar se podría pensar que sería necesaria una dosis de 2.000 UI por día. Sin embargo, esto no es exactamente así ya que no existe una cinética lineal sino que según se va subiendo la dosis la elevación de los niveles de 25(OH)D en plasma es más pequeña. Por tanto, para pasar de un nivel inicial de 10 ng/mL a 30 ng/mL es necesaria una dosis superior a 2000 UI. Además, la dosis debe ser más alta cuanto mayor sea el peso corporal del paciente y su contenido en tejido adiposo blanco (Cannell y Hollis 2008).

En un estudio realizado por Grey y cols (2005) 21 pacientes que presentaban deficiencia para la vitamina D fueron tratados con 50.000 IU de colecalciferol a la semana durante las primeras cuatro semanas y luego se rebajó la dosis a 50.000 IU al mes durante un año. Los pacientes, que

presentaban al inicio del tratamiento un valor medio de niveles de 25(OH)D plasmáticos de 11 ng/mL, pasaron a un nivel de 30 ng/mL a los seis meses y de 31 ng/mL después de año. Los resultados de este estudio demostraron que una dosis mensual de 50.000 UI de vitamina D no es suficiente para alcanzar los niveles óptimos de 25(OH)D y esos niveles no siguen aumentando después de seis meses de dicho tratamiento. Los autores de este estudio postularon que para alcanzar los niveles óptimos de 25(OH)D en adultos utilizando dosis altas intermitentes de colecalciferol, sería necesario administrar las dosis de 50.000 IU cada 1 a 2 semanas (Grey y cols 2005).

Se ha descrito que ni el consumo regular de cantidades oficialmente recomendadas de vitamina D (por ejemplo, en un suplemento multivitamínico 400 IU), ni el consumo regular de alimentos fortificado de vitamina D (por ejemplo, leche que contiene 100 UI por vaso), aseguran una prevención eficaz de la deficiencia de vitamina D (Vieth y cols 2001, Brot y cols 2001). En este sentido se ha encontrado que la administración de 2.000 IU/día durante un año a 104 mujeres afroamericanas no fue suficiente para alcanzar el nivel de 32 ng/mL 25(OH)D en el 40% por ciento de las mujeres tratadas (Aloia y cols 2005). Asimismo, la administración de 4.000 IU/día durante más de seis meses en pacientes ambulatorios canadienses de Endocrinología de mediana edad dio como resultado un nivel medio de 25(OH)D de 44 ng/mL y ello no conllevó ningún efecto secundario y contribuyó a un mejor estado de ánimo de los pacientes (Vieth y cols 2004), por otra parte 1000UI/día puede ser tomadas largo tiempo sin supervisión alguna. Algunos autores norteamericanos han estimado que es necesario un aporte de 3.000 IU/día para asegurar que el 97 por ciento de los estadounidenses presenten niveles plasmáticos de 25(OH)D superiores a 35 ng/mL (Heaney 2005). En este sentido se ha estimado que un hombre sano puede utilizar hasta 5000 IU de vitamina D (Heaney y cols 2003).

Como ya se ha comentado en un apartado anterior, un grupo en el que se ha descrito un bajo nivel de 25(OH)D es el de las mujeres embarazadas (Hyppönen y Boucher 2010), hecho que constituye un problema sanitario importante ya que ello puede dar lugar a complicaciones en el neonato. Para solventar este problema, en el Reino Unido, existe un protocolo de

suplementación a las mujeres embarazadas de 10 microgramos diarios (400 IU) de vitamina D. Sin embargo, se ha descrito que en ocasiones esta dosis puede ser insuficiente, por lo que se hace necesario elevarla (Hyppönen y Boucher 2010). En este sentido, algunos autores consideran que las mujeres embarazadas deben recibir una dosis diaria de 5000 IU (Hollis and Wagner 2004, Cannell y Hollis 2008). En la misma línea, se ha considerado que durante la lactancia, se hace recomendable un suplemento de hasta 7.000 UI al día para asegurar que la leche materna tenga suficiente nivel de vitamina D para el lactante (Hollis and Wagner 2004).

Se ha establecido que los pacientes que han sido sometidos a un trasplante de médula ósea presentan niveles bajos de vitamina D debido a la recomendación de baja exposición solar, a alteraciones gástrico-intestinales derivadas de la intervención y al tratamiento con prednisona (Robien y cols 2011), recomendándose para estos pacientes un suplemento diario de 400-600 IU de vitamina D. Asimismo, se ha descrito que en ancianos residentes en centros especializados con niveles plasmáticos de 25(OH)D inferiores a 25 nmol/L, la suplementación con 600 IU diarias de colecalciferol durante 4 meses produce un descenso medio de un 23% en los niveles séricos de PTH y una mejora de la actividad muscular y de respuesta terapéutica de los pacientes (Chel y cols 2008). Este mismo estudio demostró que la utilización de suplementos de ión calcio no afectó a los niveles plasmáticos de PTH. En pacientes con osteoporosis se ha descrito que dosis de 800 IU diarias de vitamina D resultan ineficaces para normalizar los niveles plasmáticos de PTH, por lo que en estos pacientes la dosis debe elevarse hasta las 3000 IU diarias (Leidig-Bruckner y cols 2010). Asimismo, se ha descrito que la administración de 2000 IU diarias durante un año es una medida eficaz para disminuir de forma drástica la incidencia de la gripe y otros tipos de afecciones respiratorias (Cannell y cols 2006).

Los resultados obtenidos por nuestro estudio muestran que la vitamina D es el agente activo más relevante. Ni la adición de calcio, ni la de un inhibidor de la resorción ósea aportaron mejora significativa. No obstante, los incrementos en

plasma obtenidos en nuestros pacientes se pueden considerar moderados y además tendían a bajar en las fases finales del estudio. Esto implica que es posible que una pauta de dosis más elevada que las que hemos administrado podría ser más efectivas. No obstante resulta obvio que es necesario ser prudente.

La ingestión excesiva de vitamina D puede dar lugar a una hipervitaminosis, pero ello no es una situación frecuente. Se considera que existe intoxicación por exceso de vitamina D cuando los niveles séricos son de más de 150 ng/ml, si bien no es fácil alcanzar niveles de esta magnitud. Se ha descrito que la aplicación de una inyección única de 600.000 IU (15 mg) de vitamina D a 10 pacientes de edad avanzada dio lugar a que los niveles plasmáticos de 25(OH)D pasasen de 2 ng/mL a 22 ng/mL a las dos semanas y a 27 ng/mL a las seis semanas sin que se produjeran indicios de toxicidad (Burns y Paterson 1985). De hecho, algunos autores han considerado que las inyecciones únicas de 600.000 UI de vitamina D no sólo son seguras sino que su aplicación es recomendable de forma sistemática a los ancianos al comienzo del otoño para prevenir la deficiencia de vitamina D durante el invierno (Diamond y cols 2005). En esta misma línea se ha descrito que la aplicación de 50.000 IU/día durante 10 días en 32 pacientes ancianos que presentaban una deficiencia severa de vitamina D sólo incrementaba en 5 ng/mL el valor medio de los niveles plasmáticos de 25(OH)D a los tres meses de la administración y en ninguno de los pacientes se producía un incremento de más de 11 ng/mL, por lo que no se producía evidencias de toxicidad (Wu y cols 2003). De la misma forma, no se encontró evidencia de toxicidad en pacientes masculinos jóvenes a los que se administró 50.000 UI de vitamina D al día durante seis semanas, si bien se consideró que una dosis como ésta pasaría a ser tóxica si se administrase durante un período más largo (Barger-Lux y cols 1998).

Existen síndromes de hipersensibilidad de vitamina D cuando tejidos extrarenales producen cantidades altas de 1,25(OH)₂D de forma no regulada, lo que origina hipercalcemia (Sharma 2000). Estos síndromes pueden ser malinterpretados en una primera instancia como fenómenos de toxicidad por vitamina D pero pueden ser identificados por presentar niveles plasmáticos de calcio elevados, niveles de 25(OH)D normales e incluso bajos y niveles de

1,25(OH)₂D elevados. Síndromes de hipersensibilidad de vitamina D pueden ocurrir en algunas de las enfermedades granulomatosas (especialmente sarcoidosis y la tuberculosis) y en algunos cánceres (especialmente Linfoma no Hodgkin y carcinoma de células de avena del pulmón). En las enfermedades granulomatosas tiene lugar síntesis de calcitriol por las células mononucleadas activadas, principalmente macrófagos en pulmón y ganglios linfáticos, que no es regulada por los niveles de PTH (Al-Ali H y cols 2002). Este proceso ha sido descrito en sarcoidosis, tuberculosis, beriliosis, coccidioidomicosis, histoplasmosis, candidiasis, enfermedad de Crohn, histiocitosis X, granulomatosis de Wegener y neumonía por *Pneumocystis Carinii*.

Cuando bien por una patología o bien por una ingesta masiva y prolongada de vitamina D se alcanzan niveles séricos del orden de 150 ng/ml., ello da lugar a un aumento excesivo de la absorción de calcio y de resorción ósea, lo que causa niveles séricos muy altos tanto de calcio como de fosfatos. La hipercalcemia aumenta el riesgo de que el calcio se pueda depositar en tejidos blandos y aparezcan calcificaciones en órganos vitales como el riñón, corazón, pulmones e incluso la membrana timpánica (Joshi 2009). Las calcificaciones en estos órganos producen hipofunción, lo que puede tener consecuencias graves como hipertensión arterial, insuficiencia renal, aterosclerosis y encefalopatía. Con sobredosis más moderadas, hay anorexia, fatiga, náuseas, vómitos, fotofobia, poliuria y cefaleas. No obstante ante hipercalcemias que mantengan nivel elevado o en el límite superior de PTH cabe pensar en hiperparatiroidismo y no en toxicidad. Los difosfonatos que disminuyen la calcemia pueden enmascarar un hiperparatiroidismo (con cifras límite de PTH).

Un aspecto muy importante del significado funcional de la vitamina D es su posible efecto sobre la actividad muscular. En este sentido, se ha postulado que el déficit de esta vitamina D da lugar a debilidad muscular mientras que niveles adecuados contribuyen a mejorar o al menos mantener la función muscular (Bischoff y cols 2001, Holick 2007). Un dato fundamental para esta teoría es el hecho de que el receptor nuclear de vitamina D presenta un alto grado de expresión génica en las células musculares. Asimismo, se ha descrito que la expresión génica del receptor en el músculo disminuye de forma

progresiva con la edad y ello es una de las causas de que la capacidad muscular disminuya con la edad, siendo este efecto independiente de los niveles séricos de 25(OH)D (Bischoff-Ferrari y cols 2004).

Se ha descrito que las personas de edad avanzada que presentan niveles plasmáticos deficientes de 25(OH)D tienen debilidad muscular, siendo ésta especialmente manifiesta en los músculos proximales, lo que conlleva una disminución en la movilidad y la capacidad de coordinación y ello se asocia con un aumento en la frecuencia de caídas (Janssen y cols 2002, Dhese y cols 2002). Asimismo, se ha descrito que niveles séricos de 25(OH)D por debajo de 50 nmol/L se asocian con un incremento de la curvatura postural y que cuando los niveles bajan más aún y se colocan por debajo de 30 nmol/L ello provoca una disminución de la masa muscular (Pfeifer y cols 2002). Igualmente, se ha descrito que en pacientes de más de 65 años de edad con niveles bajos de 25(OH)D y altos de PTH aumenta el riesgo de sarcopenia, esto es, pérdida degenerativa de masa muscular y fuerza asociada al envejecimiento (Visser y cols 2003). En esta misma línea de resultados, se ha descrito que sólo un porcentaje bajo de la población de personas mayores en los Estados Unidos de América presenta unos niveles séricos medios de 25(OH)D por encima de 65 nmol/L (26ng/ml) pero estas personas presentan una mayor capacidad muscular que reduce el riesgo de caídas (Dawson-Hughes y cols 2008). Más aún, se ha descrito que cuando los niveles de 25(OH)D superan los 75 nmol/L se produce un descenso significativo del riesgo de fracturas en las caídas accidentales (Dawson-Hughes y cols 2008). En esta misma línea, en un reciente trabajo se ha descrito que los pacientes veteranos americanos que ingresan en las unidades de cuidados intensivos tienen tasas de supervivencia diferentes en función del status de la vitamina D (McKinney y cols 2011). Además, los pacientes con niveles adecuados (mayores de 20 ng/mL) tienen tiempos de permanencia más reducidos en dichas unidades, por lo que estos autores proponen que los niveles de 25(OH)D deben ser medidos y controlados de forma rutinaria en las unidades de cuidados intensivos (McKinney y cols 2011). Asimismo, se ha detallado que cuando personas de más de 60 años, tanto hombres como mujeres, presentaban niveles plasmáticos iguales o superiores a 40 nmol/L, ello se asociaba con una mejor función musculoesquelética especialmente de las extremidades inferiores mientras que, por el contrario, las

personas con niveles de 25(OH)D inferiores de 40 nmol/L presentaban un rendimiento físico significativamente inferior (Bischoff-Ferrari y cols 2004, Wicherts y cols 2007).

En nuestro estudio hemos demostrado que los resultados del test “stand up” así como la actividad funcional diaria de los pacientes en su ambiente habitual mejoran significativamente como consecuencia de la elevación de los niveles plasmáticos de 25(OH)D derivada del tratamiento con vitamina D. Más aún, los análisis de correlación demostraron que existía una asociación significativa entre los niveles plasmáticos medios de 25(OH)D y, tanto la capacidad de respuesta muscular, como el nivel de actividad funcional. Estos resultados coinciden con estudios que sostienen la hipótesis de que la vitamina D tiene un efecto significativo sobre la capacidad muscular y discrepan de los estudios que sostienen la hipótesis contraria. Los primeros sostienen que la administración de un suplemento de 800 IU de vitamina D produce un incremento de la fuerza muscular y una mejora del equilibrio y la coordinación motora (Bischoff y cols 2003, Pfeifer y cols 2009). Los segundos describen que el tratamiento semanal de 8400 IU de vitamina D a pacientes de 70 años o más que presentaban niveles séricos entre 15 y 50 nmol/L no produjo una disminución significativa de la curvatura postural (Lips y cols 2010). En este reciente trabajo, no obstante, sí se observó de forma específica una mejoría en aquellos pacientes que presentaban al inicio del estudio los niveles más bajos de 25(OH)D, lo que sugiere que, aunque no sea la única causa, la deficiencia de vitamina D provoca un empeoramiento muscular que mejora cuando se administra la vitamina. En resumen nuestros resultados contribuyen a sostener la hipótesis de que los niveles adecuados de vitamina D ayudan a mejorar o al menos mantener la función muscular. Por tanto, los resultados de nuestro trabajo demuestran que la elevación de niveles plasmáticos de 25(OH)D derivada del tratamiento produce mejoría en la capacidad de respuesta muscular de los pacientes.

La vitamina D tiene un papel determinante en el mantenimiento tanto de la salud ósea como de la muscular debido a su función crítica en la homeostasis del calcio, que es un ión fundamental en estos dos tejidos. Se ha postulado que un nivel inadecuado de vitamina D no sólo produce disfunción en

estos tejidos, sino que también pueden dar lugar a síndromes de dolor (Gloth y cols 1991, Vieth 1999, Al Faraj y Al Mutairi 2003, Plotnikoff y Quigley 2003, Holick 2003b, Mascarenhas y Mobarhan 2004, Macfarlane y cols 2005, Reginster 2005, Lotfi y cols 2007, Tavera-Mendoza y White 2007). Esto constituye un aspecto muy relevante ya que el dolor músculo-esquelético es un factor clave del declive funcional y de la discapacidad progresiva asociadas al envejecimiento (Leveille y cols 2001, 2006).

En un estudio bibliográfico realizado por Stewart B. Leavitt (Leavitt 2008) se analizaron 22 estudios clínicos que incluían un total de 3670 pacientes con dolor músculo-esquelético y se encontró que un porcentaje de más del 50% presentaba niveles bajos de vitamina D. Cuando esta deficiencia era corregida en los pacientes, se observó que un porcentaje significativo experimentaba una descenso significativo en su nivel de dolor.

El consumo de opioides era superior en pacientes con nivel de 25(OH)D <20ng/ml (Turner 2008), para este autor y sus colaboradores el estado óptimo se consigue con 40ng/ml. En opinión de otros se debe mantener un nivel de 50ng/ml para evitar dolores (Hollis 2007). De hecho en nuestro estudio la mejoría del dolor fue más notable cuando alcanzamos niveles de 25(OH)D de 60ng/ml en la 5ª visita, que con un nivel inferior de 25 (OH)D en la 7ª visita.

Otro reciente y amplio estudio mostró alta prevalencia de hipovitaminosis D en pacientes con dolor musculo-esquelético inespecífico, cefaleas, fatiga (Knutsen 2010).

Asimismo, un estudio prospectivo realizado con 51 pacientes afectados de diabetes tipo 2 con dolor crónico asociado demostró que una suplementación moderada de vitamina D (2000 IU diarias) durante 3 meses tenía como resultado un descenso de prácticamente el 50% en la valoración de los pacientes del dolor (Lee y Chen 2008). En esta misma línea, se ha descrito que la suplementación de vitamina D y calcio tiene un efecto positivo para el alivio de las migrañas en mujeres tanto post-menopáusicas como pre-menopáusicas (Thys-Jacobs 1994a, Thys-Jacobs S. 1994b).

Se ha descrito que la deficiencia en vitamina D es muy frecuente en pacientes que presentaban dolor crónico músculo-esquelético con un periodo de evolución de más de un año que no respondían de forma satisfactoria a los tratamientos convencionales (Plotnikoff y Quigley 2003). En este estudio los pacientes comprendían un rango muy amplio de edad, entre 10 y 65 años, y se encontró que el 93% de los pacientes presentaban niveles bajos de vitamina D, siendo el valor medio de los niveles de 12.8 ng/ml, lo cual constituía un nivel claramente insuficiente. En estos pacientes con hipovitaminosis, el 28% presentaban deficiencias severas, con niveles por debajo de 8 ng/ml. En este sentido un estudio ha demostrado que el 93% de los pacientes entre 10 y 65 años de edad que eran atendidos en el servicio de urgencias hospitalarias por dolores músculo-esqueléticos derivados de un variado número de diagnósticos como fibromialgia, síndrome de fatiga crónica o depresión, presentaban valores muy deficientes en vitamina D (Plotnikoff y Quigley 2003). A menudo pacientes con deficiencia de vitamina D son mal diagnosticados de fibromialgia, en ellos los síntomas pueden tardar en remitir semanas después de administrar suplementos (Richardson).

Los estudios clínicos que han descrito que la vitamina D tiene un efecto atenuante del dolor señalan que esta vitamina no actúa como un analgésico farmacológico de efecto rápido sino que para que sea efectivo es preciso que se mantenga durante mucho tiempo, del orden de meses. La vitamina D tendría su efecto primario sobre el tejido óseo, contribuyendo al buen funcionamiento de los procesos implicados en la fisiología de este tejido y asegurando una buena salud ósea.

El tejido óseo está constituido por una matriz extracelular formada por un componente proteico fundamentalmente fibras colágenas de tipo 1 y un componente mineral formado por cristales de hidroxapatita originados a partir de cationes de calcio y aniones de fósforo. El componente colágeno otorga la elasticidad mientras que el componente mineral es el responsable de la resistencia mecánica del esqueleto. Los huesos contienen la mayor cantidad de calcio, fósforo y magnesio del organismo, por lo que las demandas del organismo para estos minerales están condicionadas por los requerimientos del

esqueleto a lo largo de las diferentes etapas de la vida. Los principales elementos del metabolismo óseo son el calcio, el fósforo, la vitamina D, la parathormona (PTH), el intestino, el riñón y otras hormonas como los esteroides sexuales, la hormona de crecimiento y la insulina.

Un aspecto clave para el metabolismo óseo es la absorción intestinal del calcio, que ocurre en el intestino delgado. Este proceso es complejo y requiere energía y diversos compuestos coadyudantes, regulados fundamentalmente por la vitamina D. Los procesos que implican la absorción de calcio suponen siempre mecanismos transcelulares, por lo que son altamente específicos y están sometidos a estricta regulación. Por el contrario, la absorción intestinal de fósforo tiene lugar casi en su totalidad de forma pasiva, mediante mecanismos paracelulares que no están influenciados por la vitamina D. No obstante, una pequeña fracción de fósforo se absorbe a través de los enterocitos intestinales mediante un mecanismo regulado por la vitamina D (Peacock 2010). El balance de calcio del compartimiento extracelular está determinado por los ingresos y las pérdidas de este elemento en el intestino, el intercambio con el esqueleto y el intercambio a nivel renal. La concentración insuficiente de vitamina D disminuye la absorción de Calcio e interfiere en el remodelado óseo normal (Simonelli2005).

El calcio filtra libremente a nivel glomerular pero la mayor parte es reabsorbido subsecuentemente a nivel del túbulo distal por efecto de la PTH. Se ha descrito que un individuo sano con una dieta normal que aporta 1000 mg de calcio al día y que está en una situación de equilibrio respecto del metabolismo óseo, absorbe la misma cantidad de calcio que es eliminada a través de la orina. Esto implica que la eliminación urinaria de calcio en 24 horas es habitualmente un buen reflejo de la absorción intestinal neta de este mineral.

Destacable para la funcionalidad del tejido óseo es que éste está en un continuo proceso de remodelación. Se está degradando hueso antiguo al mismo tiempo que se está formando hueso nuevo. Los procesos de degradación y

formación afectan aproximadamente a un 2% del esqueleto en un momento dado. Los dos procesos están equilibrados y ello está estrictamente controlado por regulaciones de tipo endocrino, paracrino y autocrino. Durante las etapas de crecimiento y desarrollo, desde la vida intrauterina hasta los 20-30 años de edad, la formación de tejido óseo supera a la reabsorción con un efecto neto de ganancia de masa ósea, hasta alcanzar la masa ósea máxima. Luego en la vida adulta la remodelación ósea se mantiene en equilibrio. Con la menopausia en las mujeres y posteriormente con la senilidad en ambos sexos, se produce un desequilibrio que da lugar a un balance óseo negativo con una pérdida fisiológica de masa ósea. En esta etapa la remodelación ósea puede ser bastante heterogénea en distintos individuos, observándose en algunos casos un recambio óseo acelerado que se asocia a una mayor pérdida ósea. Durante el proceso de reabsorción ósea se liberan hacia la circulación fragmentos del colágeno de la matriz ósea, como el aminoácido hidroxiprolina y los telopéptidos carboxi y aminoterminal de los puentes del colágeno, los que pueden ser medidos en la orina y sirven para cuantificar la magnitud de la reabsorción. Del mismo modo, durante la formación de la matriz ósea por parte de los osteoblastos, pasan a la circulación pequeñas cantidades de la isoenzima ósea de la fosfatasa alcalina y de la osteocalcina, que es una de las proteínas constituyentes de la matriz ósea además del colágeno tipo I. Estas moléculas pueden medirse en el plasma y sirven como marcadores para cuantificar la formación ósea.

Un fenómeno muy relevante para la salud es la pérdida ósea asociada a la menopausia. Durante este proceso tiene lugar una disminución de la producción de estrógenos que da lugar a un aumento de la actividad osteoclástica que provoca un aumento de la salida de calcio desde el hueso al líquido extracelular. Como consecuencia se produce un desequilibrio en los procesos de degradación/formación y ello da lugar a las tasas de pérdida ósea más altas a lo largo de toda la vida, entre un 1,5% y un 2,5% anual. La salida de calcio desde el hueso al líquido extracelular también provoca una disminución de la secreción de la parathormona, lo que a su vez da lugar a un aumento de la reabsorción tubular de fosfato. La disminución de la PTH y el aumento de fosfato induce un descenso en la producción renal de $1\text{-}25(\text{OH})_2\text{D}$. Este proceso se ve

acentuado por la disminución de la masa renal total y por el descenso del número de receptores intestinales para la vitamina D, procesos que ocurren con la edad. El descenso de la vitamina D conlleva una importante disminución de la absorción intestinal de calcio que el organismo trata de compensar con un aumento de la secreción de PTH, lo que da lugar a un hiperparatiroidismo secundario que estimula la actividad de los osteoclastos y ello resulta en un aumento mayor de la reabsorción ósea y un incremento del desequilibrio degradación/formación hacia la pérdida de masa ósea.

Todo lo anteriormente expuesto implica que los niveles y la funcionalidad de vitamina D se ve marcadamente alterados con la edad y ello es especialmente marcado en las mujeres y constituye un componente importante de las alteraciones del esqueleto. Se ha considerado que el efecto analgésico de la vitamina D es consecuencia de su función principal, esto es, la regulación de los niveles de calcio sérico. Se ha descrito que los niveles inadecuadamente bajos de calcio en sangre podrían estar en el inicio de una cascada de procesos encadenados que tendrían como última consecuencia una afectación negativa del metabolismo óseo y una alteración estructural y funcional de los huesos, lo que estaría asociado con la aparición de dolor de tipo músculo-esquelético. Según esta teoría, los niveles bajos en vitamina D provocarían un descenso en la eficiencia de la absorción intestinal de calcio, lo que llevaría a hipocalcemia, que daría lugar a una activación de la glándula paratiroides con la subsiguiente elevación de los niveles de PTH. La elevación de los niveles de PTH da lugar a un aumento de la reabsorción de calcio a nivel renal y a un incremento en la reabsorción y movilización del calcio que forma parte de la matriz ósea. La salida de calcio del tejido óseo puede dar lugar a un descenso de la densidad ósea y ser el origen de alteraciones funcionales y estructurales del tejido que pueden estar asociadas a procesos de generación de dolor difuso.

La movilización del calcio supone también movilización de ión fosfato ya que ambos iones están unidos formando fosfatos de calcio que constituyen el elemento mayoritario de la matriz ósea. El fosfato liberado pasa al plasma y su exceso es eliminado a través de la orina. Ello implica que cuando se produce un descenso de la absorción de calcio, el calcio plasmático se mantiene en su nivel a expensas de una pérdida por parte de hueso de iones de calcio y también

fosfato, y que estos últimos son eliminados. Por tanto se puede considerar que durante la resorción ósea el calcio pasa de la matriz ósea a la sangre pero que los iones fosfato salen de la matriz y acaban siendo eliminados del organismo, por lo que se produce una pérdida neta de este compuesto por parte del organismo. La disminución de iones de calcio y fosfato en el tejido óseo conlleva una afectación de las células productoras de matriz ósea, los osteoblastos, que normalmente sintetizan de forma continua matriz ósea, proceso que se encuentra equilibrado con la resorción y que es necesario para mantener la funcionalidad del tejido óseo.

Se ha descrito que cuando se produce un descenso de los iones de calcio y fosfato en el tejido óseo, los osteoblastos no se inactivan sino que continúan el proceso de síntesis de matriz extracelular si bien ésta presenta alterada su composición y estructura. En condiciones de déficit de iones de calcio y fosfato, en la matriz que se forma hay predominio de colágeno tipo I que forma una red no mineralizada. Este tipo de matriz ósea no mineralizada recibe el nombre de osteoide y es depositado en las superficies libres del hueso tanto internas como externas, esto es debajo del endostio y del periostio. En realidad la síntesis de osteoide es un proceso normal en la generación de hueso ya que de forma constante la matriz ósea se sintetiza en dos pasos consecutivos. Un primer paso supone la formación del osteoide, esto es, la red colágena que forma la base estructural de la matriz ósea. El colágeno tiene naturaleza proteica por lo que los osteoblastos presentan un retículo endoplásmico rugoso bien desarrollado. Una vez que se ha formado el osteoide, se produce su mineralización. Los iones fosfato y los iones calcio son transportados de forma activa en contra de gradiente desde el plasma sanguíneo a la matriz extracelular, forman fosfatos de calcio tipo hidroxiapatita y son depositados en huecos específicos que dejan las moléculas de colágeno tipo I durante su proceso de polimerización. Como consecuencia de ello, se produce la mineralización de la red colágena y la formación de una matriz extracelular ósea madura fuertemente mineralizada. Este segundo paso es el que está inhibido cuando se dan condiciones de bajos niveles de iones fosfato y calcio, y como consecuencia de ello se produce una acumulación de osteoide colágeno no mineralizado.

Cuando se dan condiciones de bajos niveles de iones fosfato y calcio se produce acumulación de osteoide, lo que altera la estructura de la matriz extracelular y ello da lugar a una alteración ósea que recibe el nombre de osteomalacia. La osteomalacia supone una alteración del tejido óseo caracterizada porque la matriz extracelular conserva la densidad de volumen característica, esto es, no se produce una disminución de la cantidad total de matriz extracelular en el tejido. Sin embargo, esta matriz extracelular presenta alterada su composición, y ello es fundamentalmente debido a una disminución en el contenido de sales de fosfato de calcio lo que hace que la relación fosfatos de calcio/colágeno disminuya significativamente. El descenso de iones en la matriz extracelular hace que las características del tejido se alteren y se produzca una reducción general en la densidad ósea. La osteomalacia no debe ser confundida con la osteoporosis, ya que se trata de una enfermedad muy diferente. La osteoporosis es una enfermedad multifactorial que altera el metabolismo óseo y da lugar a pérdida global de matriz ósea, tanto de su componente colágeno como de su componente inorgánico. Por el contrario, en la osteomalacia sólo se pierde el componente inorgánico, por lo que el contenido total de matriz extracelular permanece básicamente constante. Asimismo, en la osteoporosis existe una disminución significativa de la matriz extracelular, pero la matriz que se mantiene presenta una proporción de fosfatos de calcio/colágeno básicamente normal, mientras que esta proporción aparece muy disminuida en el caso de la osteomalacia. En la osteomalacia el volumen de tejido osteoide supera el 10%, se confunde con otras enfermedades como osteoporosis, fibromialgia, estenosis de canal, algodistrofia, metástasis, mieloma (reginato 2003).

El descenso de contenido mineral en la matriz extracelular hace que las características del tejido se alteren y se puedan producir pequeñas fracturas óseas que reciben el nombre de pseudo-fracturas óseas o también líneas de Looser-Mikmann. Las pseudo-fracturas son bandas radio-transparentes que se cruzan perpendicularmente a la cortical del hueso y se caracterizan por una inadecuada reparación ósea. La formación de microfracturas es un proceso normal en la dinámica ósea que favorece el proceso de remodelación. La formación de microfracturas se ve incrementada de forma significativa durante el ejercicio físico intenso y ello no constituye un efecto negativo sino que favorece

la remodelación ósea y mejora la salud del hueso. Sin embargo, cuando existe osteomalacia, no es posible reparar adecuadamente las microfracturas ya que el proceso de mineralización está muy disminuido. Debido a la defectuosa mineralización, la acumulación de osteoide en lugar de aportar un refuerzo estructural supone una matriz poco consistente y deformable. Esta matriz extracelular no mineralizada presenta una presión oncótica tisular alta por lo que acumula agua y se produce un aumento de volumen que puede provocar una deformación de las membranas periósticas que recubren el hueso y la presión ejercida puede generar dolor, ya que esta zona es muy rica en terminaciones nerviosas sensitivas para dolor (Holick 2003b, Shinchuk y Holick 2007, Yew y DeMieri 2002). Ello lleva a una alteración progresiva del tejido óseo que produce debilidad ósea. Por tanto, se considera que la vitamina D no actuaría directamente en la respuesta dolorosa sino que lo haría de forma indirecta a través del mantenimiento de los niveles de calcio y el mantenimiento de la estructura ósea. Por ello no habría una vía de actuación específica propiamente dicha y ello explicaría la heterogeneidad de los resultados en pacientes y la necesidad de mantener el tratamiento durante largos periodos de tiempo para poder obtener resultados. Sobre la base de todo lo anteriormente expuesto, algunos autores han propuesto que los niveles séricos de vitamina D deberían ser considerados en el diagnóstico diferencial de pacientes con dolor óseo y articular, mialgia, fibromialgia y síndrome de fatiga crónica (Shinchuk y Holick 2007). Es común ver focos múltiples de captación en los pacientes de nuestro estudio portadores de gammagrafía ósea. La insuficiencia de vitamina D predispone a la fatiga ósea y fracturas de stress, en estos casos la gammagrafía revela múltiples lesiones óseas (Juha-Petri 2006). La PTH incrementa el turnover óseo y con ello la fragilización ósea.

Asimismo, se ha descrito que la osteomalacia se asocia con miopatía. La aparición de debilidad muscular es un fenómeno que suele precede a la aparición de dolor (Glerup y cols 2000b). En este sentido también es conocido que la deficiencia en vitamina D provoca debilidad muscular (Boland 1986, Haddad y cols 1976, Schott y Wills 1976, Simpson y cols 1985, Walters 1992). Asimismo, se ha demostrado que la administración de vitamina D es un tratamiento eficaz para revertir la debilidad muscular e incrementar la actividad de los pacientes (Bischoff-Ferrari y cols 2006, Boxer y cols 2008). Es coherente

con estos resultados la caracterización en células musculares de receptores para la vitamina D (Barr y cols 2010).

Aunque la osteomalacia supone una alteración de las características histológicas y estructurales del tejido óseo, muy frecuentemente las alteraciones resultantes pueden presentar niveles por debajo del umbral de detección y no ser clínicamente detectables, por lo que se podría hablar en estos casos de niveles sub-clínicos. La relevancia de estos niveles sub-clínicos parece ser muy alta ya que algunos autores consideran que estas alteraciones idiopáticas subyacen en el 85% de los casos de dolor músculo-esquelético crónico, especialmente en aquellos casos asociados con el dolor de espalda (Deyo y Weinstein 2001). Las alteraciones óseas con niveles por debajo del umbral de detección parecen afectar principalmente al esqueleto axial y pueden tener un papel muy relevante en los dolores lumbares. Este hecho es muy relevante porque los dolores de raquideos constituyen un problema clínico de primer nivel ya que alrededor de dos tercios de los adultos padecen dolor lumbar en algún momento y estas patologías son el origen de la segunda causa de consultas médicas, sólo detrás de los problemas respiratorios (Andersson 1999, Deyo y Weinstein 2001). El dolor lumbar tiene una incidencia anual de 50% y una prevalencia de 80% y puede tener su origen en alteraciones de diversas estructuras espinales, como los ligamentos, los discos intervertebrales, las articulaciones, el periostio vertebral, la musculatura paravertebral, los vasos sanguíneos, o las raíces de los nervios espinales.

Las más comunes son las lesiones que afectan a músculos y ligamentos y los procesos degenerativos en los discos intervertebrales y articulaciones relacionados con la edad (Deyo y Weinstein 2001). Sin embargo, la proporción de pacientes con dolor de espalda con una causa claramente identificable es relativamente baja, siendo estimada en algunos estudios como del 25% o menos (Dwyer 1987). El restante 75 % de los pacientes con dolor lumbar no puede ser diagnosticados de forma precisa y se utiliza términos relativamente inespecíficos como procesos degenerativos, por lo que en realidad se podría hablar de dolor lumbar idiopático (Deyo y Weinstein 2001).

Algunos autores sostienen que la osteomalacia es el problema subyacente a muchos de estos casos (Reginato y cols 1999) y que la deficiencia

en vitamina D puede ser un factor clave en la generación de dolor lumbar debido a su contribución a la aparición de osteomalacia (Al Faraj 2003, Lotfi y cols 2007). De hecho se ha considerado que los niveles bajos en vitamina D tienen un efecto específico sobre el esqueleto axial mientras que apenas ejerce efecto sobre el esqueleto apendicular.

Existiría correlación entre niveles bajos de vitamina D y dolor raquideo en mujeres mayores no en hombres (Hicks y cols 2008). No obstante, también existen pruebas de que la deficiencia de vitamina D puede conducir a un ritmo más rápido de la progresión de la osteoartritis, que es la enfermedad más común musculoesquelética en edad adulta (McAlindon y cols 1996). El déficit en vitamina D da lugar a un descenso en la densidad mineral ósea y esto también tiene un efecto sobre las articulaciones de las extremidades, incrementando el dolor (Zhang y cols 2000, Bischoff-Ferrari y cols 2005).

La posibilidad de que la deficiencia en vitamina D afecte de forma diferencial a los componentes axial y apendicular del esqueleto es plausible si se tiene en cuenta que esqueleto axial y apendicular tienen diferente origen embriológico y los mecanismos de osificación endocondral presentan algunas diferencias. El esqueleto axial se forma a partir de las células mesodérmicas paraxiales y los huesos desarrollan sólo centros de osificación primarios, esto es, carecen de centros de osificación secundarios. Por el contrario, el esqueleto apendicular se forma a partir de las células mesodérmicas laterales y los huesos desarrollan tanto centros de osificación primarios como secundarios.

Es destacable que aunque la prevalencia del dolor de espalda es similar entre hombres y mujeres, la asociación entre niveles bajos de vitamina D y dolor es mayor en las mujeres (Hicks y cols 2008). Este hecho sugiere una potencial diferencia en los mecanismos subyacentes de dolor de espalda en los dos sexos (Nellen 1996). No obstante es un hecho bien conocido de que las mujeres son más propensas a sufrir desequilibrios en su metabolismo óseo, por lo es coherente que las mujeres sean más sensibles al efecto de un descenso de los niveles séricos de vitamina D y que ello genere dolor con más facilidad. El envejecimiento produce una serie de adaptaciones estructurales en el hueso como el incremento tanto del área transversal total como del área de hueso medular.

Estos cambios no son exactamente paralelos en los dos sexos, sino que en las mujeres el incremento del área transversal total es menor que en los hombres mientras que el incremento del área de hueso medular es mucho mayor (Russo y cols 2003, 2006). Como resultado, las mujeres muestran un adelgazamiento mayor del área cortical y del espesor óseo, lo que da como resultado que en las mujeres el envejecimiento conlleva una mayor carga por unidad de superficie y por tanto mayor estrés que en los hombres. Este mayor adelgazamiento cortical en las mujeres puede también hacer que el hueso sea más susceptible al efecto de bajos niveles de Vitamina D (Russo y cols 2003, 2006).

Algunos autores han señalado que un aspecto que también puede ser relevante para explicar el efecto analgésico de la vitamina D es su capacidad como anti-inflamatorio. Estudios epidemiológicos han demostrado que cuando el nivel de vitamina D es bajo conlleva una mala función inmunológica que se asocia a condiciones autoinmunes e inflamatorias y que la administración de suplementos de vitamina D en estas condiciones produce un descenso en los marcadores de inflamación (Barnes y cols 2011). Así varios estudios han demostrado que el tratamiento con vitamina D induce un descenso en los niveles de citoquinas pro-inflamatorias como la proteína C reactiva, la interleuquina-6, la interleuquina-12 y el factor alfa de necrosis tumoral (TNF- α) a la vez que incrementa los niveles de algunas citoquinas anti-inflamatorias, como la interleuquina-10 (Boxer y cols 2008, D'Ambrosio y cols 1998, Schleithoff y cols 2006, Van den Berghe y cols 2003). Asimismo, se ha descrito que la vitamina D puede contribuir a mejorar el dolor asociado con procesos inflamatorios de origen auto-inmune provocados por una excesiva actividad de las citoquinas, como sucede en la enfermedad de Crohn (Tavera-Mendoza y White 2007). Los condrocitos también reciben el mensaje de la vitamina D, en condiciones de insuficiencia estos son estimulados y sintetizan RANKL que provoca la osteoclastogénesis (Masuyama 2006). Para mejorar la masa ósea se requiera nivel < 32 ng/ml.

Esta hipótesis es coherente con la idea de que el dolor asociado al déficit de vitamina D es debido a cambios en la matriz ósea que conllevan una alteración en la presión coloidosmótica tisular que da lugar a un aumento de volumen por acumulación de líquido que incrementa la presión sobre zonas con

inervación. No obstante, también es destacable que algunos autores han señalado que los fármacos anti-inflamatorios no esteroides son muy poco eficaces para mitigar el dolor músculo-esquelético difuso derivado del déficit de vitamina D (Nellen y cols 1996), resultado que no es coherente con la hipótesis de que parte de la capacidad analgésica de la vitamina D se deba a su efecto antiinflamatorio.

Se ha descrito también que la vitamina D afecta a la producción de neurotransmisores como la dopamina, el DABA y la norepinefrina (Walters 1992). Como consecuencia, se ha propuesto la existencia de una relación entre la vitamina D y algunos desórdenes afectivos. Asimismo, se ha descrito que los pacientes diagnosticados con fibromialgia que presentan dolor difuso, depresión y ansiedad muestran niveles insuficientes de vitamina D (Armstrong y cols 2007). En este mismo sentido, también se ha descrito que en personas mayores de 65 años existe una correlación entre desórdenes depresivos, tanto leves como intensos, y niveles deficientes en vitamina D (Hicks 2008, Hoogendijk y cols 2008). Como consecuencia, se ha considerado que al menos parte del empeoramiento estacional que tiene lugar en el periodo de invierno en algunos desórdenes afectivos pueden estar al menos en parte producidos por un descenso en los niveles de vitamina D.

Aunque existen numerosos estudios cuyos resultados describen una relación evidente entre el nivel de vitamina D y el dolor, también existen varios estudios en los que no se encontró una relación significativa (Papadokostakis y cols 2005, Helliwell y cols 2006). Algunos de estos estudios describen que no existe una correlación entre los niveles de vitamina D y el dolor de espalda en mujeres de diferentes edades con osteoporosis valorado mediante la utilización de una escala analógica visual (Basaran y cols 2007) aunque cuando en este mismo estudio se utilizó el cuestionario de calidad de vida de la Fundación Europea para la Osteoporosis sí se encontró diferencias entre la población de pacientes con deficiencia de vitamina D (< 25 nmol/L) y aquellas con niveles más elevados (25-50 nmol/L).

Como consecuencia de la existencia de estudios con resultados desiguales, algunos autores afirman que no es un hecho totalmente demostrado que la vitamina D tenga un efecto relevante sobre el dolor mientras que otros autores sostienen que sí está demostrada una relación evidente. Debido a esta

disparidad de criterios, el posible efecto analgésico de la vitamina D es un aspecto que en la actualidad se encuentra aún en debate, que no ha sido formalmente aceptado por la comunidad médica en su conjunto y que no aparece recogido en los tratados de referencia sobre el tratamiento del dolor. Otro aspecto que también se discute es la conveniencia o no de incluir la determinación de los niveles séricos de vitamina D como parámetro útil para el diagnóstico de enfermedad músculo-esquelética. Incluso en algunas revisiones sobre el posible efecto beneficioso de la suplementación alimenticia de vitamina D se ha generado un acalorado debate entre partidarios y detractores.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio coinciden con los que sostienen la existencia de una correlación significativa entre niveles altos de vitamina D y la capacidad muscular. Nuestro estudio demuestra que la elevación de los niveles de vitamina D inducida por el tratamiento da lugar a que nuestros pacientes tengan una mayor capacidad muscular y funcional. También hemos encontrado una correlación negativa entre los niveles de vitamina D y el grado de dolor y el tratamiento con vitamina D contribuyó a un descenso significativo del grado de dolor. Por lo tanto, los resultados de nuestro estudio son coherentes con la hipótesis de que el nivel de vitamina D influye de forma significativa en la salud del sistema músculo-esquelético de los pacientes y que también tiene un efecto analgésico sobre el dolor que tiene su origen en este sistema. Sobre esta base, nuestros resultados apoyan la conveniencia de incluir la determinación de los niveles séricos de vitamina D, PTH y calcemia como parámetro útil para el diagnóstico de enfermedad músculo-esquelética con gran rentabilidad clínica en la determinación de insuficiencia en vitamina D e hiperparatiroidismo. Esta analítica es sencilla y económica. Son los marcadores bioquímicos de osteomalacia, si el Calcio está alto orienta a hiperparatiroidismo primario. En esta línea, nuestras conclusiones son coherentes con aquellos autores que consideran clínicamente relevante incluir en aquellos pacientes de riesgo la rutina de determinar dos veces al año los niveles de 25(OH)D, una al principio de la primavera para determinar el valor mínimo y otra al final del verano para establecer el máximo y saber así el intervalo de valores en los que se haya la vitamina D en cada paciente (Holick 2005, Cannell y Hollis 2008).

La deficiencia de vitamina D en pacientes sometidos a una intervención de prótesis de cadera se interpreta como factor de riesgo para peor pronóstico y resulta sencillo y económico corregirlo (Nawabi 2010).

Todos estos estudios, tanto los que describen resultados positivos como negativos sobre el efecto de la vitamina D, junto con las conclusiones de nuestro estudio presente, refuerzan la idea de que la vitamina D es un tema importante que requiere estudios adicionales que permitan dilucidar su significado funcional en el organismo, el nivel serico necesario para control del dolor, la dosis de suplemento más alta que con seguridad se puede administrar de forma indefinida.

Como norma podríamos establecer que toda la población debería tomar suplementos de calcifediol a partir de la edad madura para proteger la salud osea, especialmente si hay dolor musculoesqueletico difuso. Nuestra pauta recomendada es:

- **25 OH D >20 ng/ml suplemento de 2 ampollas de hidroferol 0,266 al mes**
- **25 OH D <20 ng/ml y > 50 años suplemento de 3 ampollas de hidroferol 0,266 al mes**

VI. CONCLUSIONES

1. El estado de la población en relación a la vitamina D es **insuficiente**, observando cambios estacionales importantes en el nivel de vitamina D aunque la edad media de la población sea elevada.
2. La **suplementación** con vitamina D determina una elevación significativa de los niveles de 25(OH)D en sangre y resulta **imprescindible**.
3. La vitamina D fue suficiente para inducir la elevación de los niveles de 25(OH)D y disminución subsecuente de los niveles de PTH en sangre, no observándose mejoría adicional por la asociación de calcio.
4. Los niveles bajos de vitamina D se correlacionan con niveles altos de PTH, observándose un porcentaje alto de **Hiperparatiroidismo secundario** asociado y la presencia de **dolor** musculoesquelético difuso.
5. El tratamiento con vitamina D indujo en los pacientes una mejoría de su **capacidad funcional** y un descenso en su percepción de **dolor** musculoesquelético difuso.

VII. BIBLIOGRAFÍA

Adams ND, Garthwite TL, Gray RW. The interrelationship among prolactin, 1,25-dihydroxyvitamin D and parathyroid hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1979 ; 49:628-630.

Al-Ali H, Yabis AA, Issa E y cols. Hypercalcemia in Langerhans' cell granulomatosis with elevated 1,25 dihydroxyvitamin D (calcitriol) level. *Bone* 2002; 30(1):331-4.

Almeras L, Eyles D, Benech Py cols. Developmental vitamin D deficiency alters brain protein expression in the adult rat: implications for neuropsychiatric disorders. *Proteomics* 2007; 7:769-780.

Aloia JF, Talwar SA, Pollack Sy cols. A randomized controlled trial of vitamina D3 supplementation in African American women. *Arch Intern Med* 2005; 165: 1618-1623.

Aloia J, Bojadzievski T, Yusupov Ey cols. The relative influence of calcium intake and vitamin D status on serum parathyroid hormone and bone turnover biomarkers in a double-blind, placebo-controlled parallel group, longitudinal factorial design. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(7):3216–3224.

Al-Allaf A.W. Bone Health in patients with fibromialgia *Rheumatology* 2003;42:1202-1206.

Al Faraj S, Al Mutairi K . Vitamin D deficiency and chronic low back pain in Saudi Arabia. *Spine* 2003; 28:177–179.

Andersson GB. Epidemiologic features of chronic low-back pain. *Lancet* 1999; 354:581–585.

Anderson P, Lam N, Sawyer R y cols. Bone loss due to vitamin D deficiency is a result of reduced osteoblastic vit. D activity. Comincacion a la reunion annual de la American Society for Bone and Mineral research; Denver, 2009.

Anderson PH, Sawyer RK, Moore AJ y cols. Vit.D depletion induces RANKL-mediated osteoclastogenesis and bone loss in a rodent model. *JBone Miner Res* 2008; 23: 1789-1797.

Arabi A, Baddoura R, El-Rassi R. El-Hajj Fuleihan G: Age but not gender modulates the relationship between PTH and vitamin D. *Bone*. 2010; 47(2):408–412.

Armas LAG, Hollis BW, Heaney RP. Vitamin D2 is much less effective than vitamin D3 in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:5387-5391.

Armstrong DJ, Meenagh GK, Bickle I y cols. Vitamin D deficiency is associated with anxiety and depression in fibromyalgia Reported in: *J Musculoskeletal Pain*. 2007;15(1):55.

Baker AR, McDonnell DP, Hughes M y cols. Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988; 85(10):3294-8.

Barbour GL, Coburn JW, Slatopolsky E y cols. Hypercalcemia in an anephric patient with sarcoidosis: Evidence for extrarenal generation of 1,25-dihydroxyvitamin 1). *N Eng J Med* 1981; 305:440-443.

Barger-Lux MJ, Heaney RP, Dowell S y cols. Vitamin D and its major metabolites: serum levels after graded oral dosing in healthy men. *Osteoporos Int* 1998; 8:222-230.

Barnes MS, Horigan G, Cashman KD y cols. Maintenance of Wintertime Vitamin D Status with Cholecalciferol Supplementation Is Not Associated with Alterations in Serum Cytokine Concentrations among Apparently Healthy Younger or Older Adults. *J Nutr*. 2011; 141(3):476-81.

Barr R, Macdonald H, Stewart A y cols. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms, falls, balance and muscle power: results from two independent studies (APOSS and OPUS). *Osteoporos Int*. 2010 Mar; 21(3):457-66.

Basaran S, Guzel R, Coskun-Benlidayi I y cols. Vitamin D status: Effects on quality of life in osteoporosis among Turkish women. *Qual Life Res* 2007; 16:1491–1499.

Beastell G. Vit. D reinvented: implications for Clinical Chemistry. *Clinical Chemistry* 2008; 4: 630-632.

Bilde DD, Nemanic MK, Whitney JO y cols. Neonatal human foreskin keratinocytes produce 1,25-dihydroxyvitamin D. *Biochemistry* 1986;25:1545-1548.

Binkley N, Krueger D, Lensmeyer G. 25 OH D measurement, 2009: A review for clinicians. *J Clin Densitom* 2009; 12: 417-427

Binkley N, Ramamurthy R, Krueger D. Low vitamin D status: definition, prevalence, consequences, and correction. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010; 39(2):287-301.

Bischoff-Ferrari HA. Optimal serum 25-hydroxyvitamin D levels for multiple health outcomes. *Adv Exp Med Biol.* 2008; 624:55-71

Bischoff HA, Borchers M, Gudat F y cols. In situ detection of 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ receptor in human skeletal muscle tissue. *Histochem J.* 2001; 33(1):19–24.

Bischoff HA, Stahelin HB, Dick W y cols. Effects of vitamin D and calcium supplementation on falls: a randomized controlled trial. *J Bone Miner Res.* 2003; 18(2):343–351

Bischoff-Ferrari HA, Dietrich T, Orav EJ y cols. Higher 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with better lower-extremity function in both active and inactive persons aged > or =60 y. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(3):752–758

Bischoff-Ferrari HA, Borchers M, Gudat F y cols. Vitamin D receptor expression in human muscle tissue decreases with age. *J Bone Miner Res.* 2004; 19(2):265–269.

Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB y cols. Fracture prevention with vitamin D supplementation: A meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA* 2005; 293:2257–2264

Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC y cols. Estimation of optimum serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84:18-28

Bischoff-Ferrari HA, Shao A, Dawson-Hughes B y cols. Benefit-risk assessment of vitamin D supplementation. *Osteoporos Int.* 2010;21(7):1121-32.

Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Whiting SJ. Vitamin d supplementation and fracture risk. *Arch Intern Med.* 2011; 171(3):265.

Niedziela SM, Roy HK, Tien XY y cols. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ and 12-O-tetradecanoyl phorbol 13-acetate cause differential activation of Ca(2+)-dependent and Ca(2+)-independent isoforms of protein kinase C in rat colonocytes. *J Clin Invest.* 1995; 95(5):2215-2221.

Boland R. Role of vitamin D in skeletal muscle function. *Endocr Rev.* 1986;7:434-438.

Bordier, Rasmussen, Marie P y cols. Vitamin D metabolites and bone mineralization in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1978; 46:284-294.

Boxer RS, Dauser RA, Walsh SJ y cols. The association between vitamin D and inflammation with the 6-minute walk and frailty in patients with heart failure. *J Am Geriatr Soc.* 2008; 56:454-461.

Brasitus TA. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ and 12-O-tetradecanoyl phorbol 13-acetate cause differential activation of Ca(2+)-dependent and Ca(2+)-independent isoforms of protein kinase C in rat colonocytes. *J Clin Invest.* 1995 95(5):2215-21.

Braumbaugh PF, Haussler MR. Nuclear and cytoplasmic binding components for vitamin D metabolites. *Life Sci* 1975; 16:353-362.

Brot C, Vestergaard P, Kolthoff N y cols. Vitamin D status and its adequacy in healthy Danish perimenopausal women: relationships to dietary intake, sun exposure and serum parathyroid hormone. *Br J Nutr* 2001; 86:S97-S103.

Brown AJ, Zhong M, Finch J y cols. Rat calcium-sensing receptor is regulated by vitamin D but not by calcium. *Am J Physiol* 1996; 270:F454– F460

Burns J, Paterson CR. Single dose vitamin D treatment for osteomalacia in the elderly. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1985; 290:281-282.

Cannell JJ, Vieth R, Umhau JC y cols. Epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiol Infect.* 2006; 134(6):1129-40.

Cannell JJ, Hollis BW. Use of vitamin D in clinical practice. *Altern Med Rev.* 2008; Mar;13(1):6-20.

Cannell JJ, Hollis BW, Zasloff M y cols. Diagnosis and treatment of vitamin D deficiency. *Expert Opin Pharmacother* 2008;9:107-118

Carnevale V, Nieddu L, Romagnoli E y cols. Regulation of PTH secretion by 25-hydroxyvitamin D and ionized calcium depends on vitamin D status: a study in a large cohort of healthy subjects. *Bone.* 2010; 47(3):626–630.

Cavalier Etienne. Serum vit. D measurement may not reflect what you give to your patients. *J Bone and Mineral Research* 2008; 23,nº 11.

Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M y cols. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int* 1997; 7:439-443.

Chel V, Wijnhoven HA, Smit JH y cols. Efficacy of different doses and time intervals of oral vitamin D supplementation with or without calcium in elderly nursing home residents. *Osteoporos Int.* 2008;19(5):663–671.

Christakos S, Dhawan P, Benn y cols. Vitamin D: molecular mechanism of action. *Ann N Y Acad Sci.* 2007; 1116:340-348.

Chun Rene F. Back to the Future: a new look at old vit. D. *Journal of endocrinology* 2008; 198: 261-269.

Costa AF, dos Reis LM, Ribeiro MC y cols. Effects of calcitriol on parathyroid function and on bone remodelling in secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant.* 2003 18(4):743-9.

Cozzolino M, Pasho S, Fallabrino G y cols. Pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. *Int J Artif Organs.* 2009 32(2):75-80.

Cutolo M Vit. D in reumathoid arthritis. *Autoimmun Rev* 2007; 7(1): 59-64.

D'Ambrosio D, Cippitelli M, Cocciolo MG y cols. Inhibition of IL-12 production by 1,25-Dihydroxyvitamin D3. *J Clin Invest* 1998;10 :252-262.,

Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF y cols. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int* 2005;16:713–6.

Dawson-Hughes Bess. Therapy of osteoporosis with Ca y vit. D. *J Bone Miner Res* 2007; 22: S2; V 59-V63.

Dawson-Hughes B. Serum 25-hydroxyvitamin D and functional outcomes in the elderly. *Am J Clin Nutr.* 2008; 88(2):537S-540S.

Delmez JA, Tindira C, Grooms P y cols. Parathyroid hormone suppression by intravenous 1,25-dihydroxyvitamin D. A role for increased sensitivity to calcium. *J Clin Invest* 1989; 83:1349–1355

Demontiero O, Herrmann M, Duque G. Supplementation with vitamin d and calcium in long-term care residents. *J Am Med Dir Assoc.* 2011; 12(3):190-4.

Deyo RA and Weinstein JN. Low back pain. *New Engl J Med* 2001; 344:363–370.

Dhesi JK, Bearne LM, Moniz C y cols. Neuromuscular and psychomotor function in elderly subjects who fall and the relationship with vitamin D status. *J Bone Miner Res.* 2002; 17(5):891–897

Diamond TH, Ho KW, Rohl PG y cols. Annual intramuscular injection of a megadose of cholecalciferol for treatment of vitamin D deficiency: efficacy and safety data. *Med J Aust* 2005; 183:10-12.

Dipack K.Roy. Vit. D status and bone mass in UK South asian women. *Bone* 2007; 40: 200-204.

Dunlay R, Rodríguez M, Felsenfeld A y cols. Direct inhibitory effect of calcitriol on parathyroid function (sigmoidal curve) in dialysis patients. *Kidney Int* 1989; 36:1093-1098

Dwyer AP. Backache and its prevention. *Clin Orthop Relat Res* 1987;222:35–43

Esteve-Vives J, Rivera J, Salvat I y cols. Propuesta de una versión de consenso del Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ) para la población española. *Reumatol Clin.* 2007; 3:21-4.

Feron F, Burne TH, Brown J y cols. Developmental Vitamin D3 deficiency alters the adult rat brain. *Brain Res Bull* 2005; 65:141-148.

Fisher AA, Southcott EK, Sriksalanukul W y cols. Relationships between myocardial injury, all-cause mortality, vitamin D, PTH, and biochemical bone turnover markers in older patients with hip fractures. *Ann Clin Lab Sci.* 2007; 37(3):222–232.

Fisher A, Goh S, Sriksalanukul W y cols. Elevated serum PTH is independently associated with poor outcomes in older patients with hip fracture and vitamin D inadequacy. *Calcif Tissue Int.* 2009 85(4):301–309.

Fraser D, Kooh SW, Scriver CR. Hyperparathyroidism as the cause of hyperaminoaciduria and phosphaturia in human vitamin D deficiency. *Pediatr Res.* 1967; 1:425–435.

Gannage-Yared M.H. Hipovit. D in a sunny Country: Relation to lifestyle and bone markers *J Bone and mineral research* 2000; vol.15,nº 9,1856-1862.

Garabedian M, Holick MF, DeLuca HF y cols. Control of 25-hydroxycholecalciferol metabolism by parathyroid glands. *Proc Natl Acad Sci USA* 1972; 69: 1973-1976.

Garland CF, French CB, Baggerly LL y cols. Vitamin D supplement doses and serum 25-hydroxyvitamin d in the range associated with cancer prevention. *Anticancer Res.* 201; 31(2):607-11.

Glerup H, Mikkelsen K, Poulsen L y cols. Hypovitaminosis D myopathy without biochemical signs of osteomalacic bone involvement. *Calcif Tissue Int.* 2000 ;66b:419-424.

Gloth FM 3rd, Gundberg CM, Hollis BW y cols. Vitamin D deficiency in homebound elderly persons. *JAMA* 1995; 274:1683–1686.

Gloth FM III, Lindsay JM, Zelesnick LB y cols. Can vitamin D deficiency produce an unusual pain syndrome? *Arch Intern Med* 1991; 151:1662–1664.

Gómez-Alonso C, Naves-Díaz ML, Fernández-Martín JL y cols. Vitamin D status and secondary hyperparathyroidism: the importance of 25-hydroxyvitamin D cut-off levels. *Kidney Int Suppl.* 2003; 85:S44-8.

Gozdzik A. Low wintertime vit. D levels in a sample of healthy young adults of diverse ancestry living in the Toronto area: associations with vit. D intake and skin pigmentation. *BMC public health* 2008; 8: 336 1-9.

Gray TK, Lester GE, Lorenc RS. Evidence for extrarenal 1-hydroxylation of 25-hydroxyvitamin D₃ in pregnancy. *Science* 1979; 204:1311-1313.).

Grethen E, McClintock R, Gupta CE y cols. Vitamin D and Hyperparathyroidism in Obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011

Grey A, Lucas J, Horne A y cols. Vitamin D repletion in patients with primary hyperparathyroidism and coexistent vitamin D insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:2122-2126.

Guillemant J, Cabrol S, Allemandou A y cols. Vitamin D-dependent seasonal variation of PTH in growing male adolescents. *Bone.* 1995 17(6):513-6.

Habener JF, Potts JT. Fundamental considerations in the physiology, biology, and biochemistry of parathyroid hormone. In *Metabolic bone disease and clinically related disorders*. Avioli & Krane 2nd ed. Ed WB Saunders Company. 1990;p:69-130.

Haddad JG, Walgate J, Min C y cols. Vitamin D metabolite-binding proteins in human tissue. *Biochem Biophys Acta.*1976; 444:921-925.

Hannah SS, Norman AW. 1 alpha,25(OH)₂ vitamin D₃-regulated expression of the eukaryotic genome. *Nutr Rev.* 1994; 52(11):376-82.

Hansen Karen E. Vitamin D insufficiency: Disease or no Disease? *J Bone Miner Res* 2008; 23: 1052-1060.

Hathcock J.N. Risk assessment for vit. D. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 6-18.

Haussler MR, McCain TA. Basic and clinical concepts related to vitamin D metabolism and action (first of two parts). *N Eng J Med* 1977; 297:974-983.

Haussler MR, Haussler CA, Jurutka PW y cols. The vitamin D hormone and its nuclear receptor: molecular actions and disease states. *J Endocrinol.* 1997 Sep;154 Suppl:S57-73.

Heaney RP, Barger-Lux MJ, Dowell MS y cols. Calcium absorptive effects of vitamin D and its major metabolites. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82 :4111–4116.

Heaney RP, Dowell MS, Hale CA y cols. Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D. *J Am Coll Nutr*. 2003 22(2):142-146.

Heaney RP, Davies KM, Chen TC y cols. Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. *Am J Clin Nutr* 2003; 77:204-210.

Heaney RP. The vitamin D requirement in health and disease. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005; 97:13-19.

Helliwell PS, Ibrahim GH, Karim Z y cols. Unexplained musculoskeletal pain in people of South Asian ethnic group referred to a rheumatology clinic Relationship to biochemical osteomalacia, persistence over time and response to treatment with calcium and vitamin D. *Clin Exp Rheumatol* 2006;24:424–427.

Henneman PH, Dempsey EF, Carroll EL y cols. The cause of hypercalciuria in sarcoid and its treatment with cortisone and sodium phytate. *J Clin Invest* 1956; 35: 1229- 1242.

Hess AF, Unger U. Cure of infantile rickets by sunlight. *JAMA* 1921; 77:39-43.

Hicks GE, Shardell M, Miller RR y cols. Associations between Vitamin D Status and Pain in Older Adults: The Invecchiare in Chianti Study. *J Am Geriatr Soc*. 2008; 56(5): 785–791

Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357:266-81.

Holick MF. The vitamin D epidemic and its health consequences. *J Nutr* 2005; 135:2739S-2748S.

Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:1678S–1688S.

Holick M. Vit. D2 is as effective as vit. D3 in maintaining circulating concentrations of 25 OH D. *Journal Clin Endocrin and Metab* 2008; vol 93 nº 3 677-81

Holick MF. Vitamin D deficiency: what a pain it is. *Mayo Clin Proc.* 2003b;78:1457-1459.

Holick MF, MacLaughlin JA, Doppelt SH. Factors that influence the cutaneous photosynthesis of previtamin D3. *Science* 1981 ; 21 1:590-593.

Holick MF. Vitamin D requirements for the elderly. *Clin Nutr* 1986; 5:121-129.

Holick MF. Photosynthesis of vitamin D in the skin: effect of environmental and life-style variables, *Fed Proc* 1987;46:1876-1882.

Hollis BW. Circulating 25-hydroxyvitamin D levels indicative of vitamin D sufficiency: implications for establishing a new effective dietary intake recommendation for vitamin D. *J Nutr* 2005; 135:317-322.

Hollis BW, Wagner CL. Assessment of dietary vitamin D requirements during pregnancy and lactation. *Am J Clin Nutr* 2004; 79:717-726.

Hollis BW, Wagner CL. Vitamin D requirements during lactation: high-dose maternal supplementation as therapy to prevent hypovitaminosis D for both the mother and the nursing infant. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:1752S-1758S.

Hollis BW, Wagner CL, Drezner MK y cols. Circulating vitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D in humans: An important tool to define adequate nutritional vitamin D status. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2007; 103(3-5):631-4.

Hoogendijk VJG, Lips P, Dik MG y cols. Depression is associated with decreased 25-hydroxyvitamin D and increased parathyroid hormone in older adults. *Arch Gen Psychiatry*. 2008; 65(5):508-512).

Hooten. Vit. D inadequacy may exacerbate chronic pain. Annual meeting ASA

Howard GA, Turner RT, Sherrad J y cols. Human bone cells in culture metabolize 25-hydroxyvitamin D₃ to 1,25-dihydroxyvitamin and 24,25-dihydroxyvitamin D₃. *J Biol Chem* 1981; 256:7738-7740.

Hyppönen E. Hypovit. D in British adults at age 45 y: nationwide cohort study of dietary and lifestyle predictors. *Am. J Clin Nutr* 2007; 85: 860-8

Hyppönen E, Boucher BJ. Avoidance of vitamin D deficiency in pregnancy in the United Kingdom: the case for a unified approach in National policy. *Br J Nutr*. 2010 Aug;104(3):309-14. Epub 2010 Jul 2.

Issa LL, Leong GM, Eisman JA. Molecular mechanism of vitamin D receptor action. *Inflamm Res*. 1998 ; 47(12):451-75.

Ito H, Ogata H, Yamamoto M, Takahashi K y cols. Comparison of oral falecalcitriol and intravenous calcitriol in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism: a randomized, crossover trial. *Clin Nephrol*. 2009 Jun;71(6):660-8.

Janssen HC, Samson MM, Verhaar HJ. Vitamin D deficiency, muscle function, and falls in elderly people. *Am J Clin Nutr*. 2002; 75(4):611–615.

Jones Issues with vitamin D in routine clinical practice. *Reumatology* 2008; 47: 1267-1268.

Joshi R. Hypercalcemia due to hypervitaminosis D: report of seven patients. *J Trop Pediatr*. 2009; 55(6):396-8.

Juha –Petri Ruohola, Association between Serum 25(OH) D concentration and bone stress fractures in Finnish Young men. *Journal of Bone and mineral research*.2006;Vol.2:1483-1488.

Kennel KA, Matthew T, Drake MT y cols. Vitamin D Deficiency in Adults: When to Test and How to Treat. *Mayo Clin Proc*. 2010; 85(8):752-758.

Khanal RC, Peters TM, Smith NM y cols. Membrane receptor-initiated signaling in 1,25(OH)(2)D(3)-stimulated calcium uptake in intestinal epithelial cells. *J Cell Biochem*. 2008 105(4):1109-1116.

Khaw K.-T., Scragg R., Murphy S. Single-dose cholecalciferol suppresses the winter increase in parathyroid hormone concentrations in healthy older men and women: A randomized trial. *Am J Clin Nutr* 1994; 59:1040-1044.

Knutsen K.V., Brekke M., Gjelstad S., Lagerlov P. Vitamin D status in patients with musculoskeletal pain, fatigue and headache: a cross-sectional descriptive study in a multi-ethnic general practice in Norway. *Scand J Prim Health Care*. 2010 Sep; 28 (3) 166-171.

Krabbe S, Hummer L, Christiansen C. Serum levels of vitamin D metabolites and testosterone in male puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62:503-507.

Kragstrup TW. Vitamin D supplementation for patients with chronic pain. *Scand J Prim Health Care*. 2011; Mar;29(1):4-5.

Krall, E. A., Sahyoun, N., Tannenbaum y cols. Effect of vitamin D intake on seasonal variations in parathyroid hormone secretion in postmenopausal women. *N Engl J Med* 1989; 321:1777-1783-

Kream BE, Reynolds RD, Knutson JC y cols. Intestinal cytosol binders of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D. *Arch Biochem Biophys* 1976; 176:779-787.

Kuchuk NO, Pluijm SM, Schoor NM y cols. Relationships of serum 25-hydroxyvitamin D to bone mineral density and serum parathyroid hormone and markers of bone turnover in older persons. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94(4):1244–1250.

Lamberg-Allardt Christel JE . Vit. D deficiency and bone health in healthy adults in Finland: Could this be a concern in other parts of Europe?. *J Bone and mineral research.* 2001;Vol. 16, nº11, 2066-2073.

Lanham-New SA, Buttriss JL, Miles LM y cols. Proceedings of the Rank Forum on Vitamin D. *Br J Nutr.* 2011; 105(1):144-156.

Larrosa M. Administracion de Calcidiol y valores sericos de 25 OH D ¿Qué pauta utilizar? *Rev Esp Reumatol.* 2003; 30(10): 548-53.

Leavitt, Vitamin D – A Neglected ‘Analgesic’ for Chronic musculoskeletal Pain. An Evidence-Based Review & Clinical Practice Guidance, *Pain Treatment Topics* 2008.

Lee P, Chen R. Vitamin D as an analgesic for patients with type 2 diabetes and neuropathic pain. *Arch Intern Med.* 2008; 168(7):771-772.

Leidig-Bruckner G, Roth HJ, Bruckner T y cols. Are commonly recommended dosages for vitamin D supplementation too low? Vitamin D status and effects of supplementation on serum 25-hydroxyvitamin D levels-an observational study during clinical practice conditions. *Osteoporos Int* 2010.

Leveille SG, Ling S, Hochberg MC y cols. Widespread musculoskeletal pain and the progression of disability in older disabled women. *Ann Intern Med* 2001;135:1038–1046.

Leveille SG, Bean J, Ngo L y cols. The pathway from musculoskeletal pain to mobility difficulty in older disabled women. *Pain* 2006; 128:69–77.

Levis S, Gómez A, Jiménez C y cols. Vitamin D deficiency and seasonal variation in an adult South Florida population. *J Clin Endocrinol Metab* 2005 ;90:1557-1562.

Liao J, Ozono K, Sone T y cols. Vitamin D receptor interaction with specific DNA requires a nuclear protein and 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990; 87(24):9751-5.

Lin R, White JH. The pleiotropic actions of vitamin D. *Bioessays*. 2004; 26(1):21-8.

Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev*. 2001; 22:477-501.

Lips P, Hackeng W H L, Jongen C y cols. Seasonal variation in serum concentrations of parathyroid hormone in elderly people. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 57:204-206.

Lips P, Duong T, Oleksik A y cols. A global study of vitamin D status and parathyroid function in postmenopausal women with osteoporosis: baseline data from the multiple outcomes of raloxifene evaluation clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86.

Lips P, Binkley N, Pfeifer M y cols. Once-weekly dose of 8400 IU vitamin D(3) compared with placebo: effects on neuromuscular function and tolerability in older adults with vitamin D insufficiency. *Am J Clin Nutr*. 2010; 91(4):985–991

Lo CW, Paris PW, Clemens TL. Vitamin D absorption in healthy subjects and in patients with intestinal malabsorption syndromes. *Am J Clin Nutr* 1985; 42:644-649).

Lotfi A, Abdel-Nasser AM, Hamdy A y cols. Hypovitaminosis D in female patients with chronic low back pain. *Clin Rheumatol* 2007;26:1895–1901.

Long RG, Skinner RK, Meinhard E. Serum 25-hydroxyvitamin D values in liver disease and hepatic osteomalacia. *Gut* 1976; 17:824-827.

Looker AC, Dawson-Hughes B, Calvo MS y cols. Serum 25-hydroxyvitamin D status of adolescents and adults in two seasonal subpopulations from NHANES III. *Bone* 2002;30:771–777.

Lyman David.MD. Undiagnosed vit.D deficiency in the Hospitalized Patient. *American Family Physician* Jan 2005 vol.71 nº2.

Macfarlane GD. Hypovitaminosis D in a normal, apparently healthy urban European population. *Journal of steroid Biochemistry and Molecular biology* 2004; 89-90: 621-622.

Macfarlane GJ, Palmer B, Roy D y cols. An excess of widespread pain among South Asians: Are low levels of vitamin D implicated? *Ann Rheum Dis* 2005; 64:1217–1219.

Malabanan A, Veronikis IE, Holick MF. Redefining vitamin D insufficiency. *Lancet*. 1998; 351(9105):805–806.

Malberti F, Corradi B, Cosci P y cols. Long-term effects of intravenous calcitriol therapy on the control of secondary hyperparathyroidism. *Am J Kidney Dis*. 1996 28(5):704-12.

Mascarenhas R, Mobarhan S. Hypovitaminosis D-induced pain. *Nutr Rev* 2004; 62:354–359.

Masuyama R, Stockmans I, Torrekens S y cols. Vitamin D receptor in chondrocytes promotes osteoclastogenesis and regulates FGF23 production in osteoblasts. *J Clin Invest* 2006;116: 3150-3159.

Mazzaferro S, Brancaccio D, Messa P y cols. Management of secondary hyperparathyroidism in Italy: results of the Italian FARO survey. *J Nephrol*. 2010 23.

McAlindon TE, Felson DT, Zhang Y y cols. Relation of dietary intake and serum levels of vitamin D to progression of osteoarthritis of the knee among participants in the Framingham Study. *Ann Intern Med* 1996;125:353–359.

McCollum EV, Simmonds N, Becker JE y cols. Studies on experimental rickets. An experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium deposition. *J Biol Chem* 1922; 53:293-312.

McDonnell DP, Scott RA, Kerner SA, y cols. Functional domains of the human vitamin D3 receptor regulate osteocalcin gene expression. *Mol Endocrinol.* 1989 Apr;3(4):635-44.

McKinney JD, Bailey BA, Garrett LH y cols. Relationship between vitamin D status and ICU outcomes in veterans. *J Am Med Dir Assoc.* 2011; 12(3):208-11.

McLaughlin JA, Holick MF. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. *J Clin Invest* 1985; 76:1536-1538.

Meyer Haakon E. Can vitamin D supplementation reduce the risk of fracture in Elderly? A randomized Controlled Trial. *J Bone Mineral Research* 2002 ;17,nº 4:709-715

Mezquita-Raya P. Relation between vit.D insufficiency, Bone density and Bone Metabolism in healthy postmenopausal women. *J Bone and mineral research* 2001;16, nº8: 1408-1415.

Mithal A, Wahl DA, Bonjour JP y cols. IOF Committee of Scientific Advisors (CSA) Nutrition Working Group. Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. *Osteoporos Int.* 2009; 20(11):1807-20. Erratum in: *Osteoporos Int.* 2009;20(11):1821.

Mouyis. M. Hypovit. D among rheumatology outpatients in clinical practise. *Rheumatology* 2008; 47: 1348-51.

Nawabi D.H., Chin K.F., Keen R.W., Haddad F.S. Vitamin D deficiency in patients with osteoarthritis undergoing total hip replacement. *J Bone Joint Surg (Br)* 2010; 92-B: 362-366.

Nielsen. Vit. D and rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism*. 2007; vol. 56 nº 5 may: 1719-1724.

Nellen J, Smulders YM, Frissen PHJ y cols. Lesson of the week—Hypovitaminosis D in immigrant women: Slow to be diagnosed. *BMJ* 1996; 312(7030):570–572.

Niño M. Niveles de vit.D en población >65 años- REEMO 2008; 17:1-4

Oliveri MB, Ladizesky M, Mautalen C y cols. Seasonal variations of 25 hydroxyvitamin D and parathyroid hormone in Ushuaia (Argentina), the southernmost city of the world. *Bone Miner* 1993;20:99–108

O'Loan J, Eyles DW, Kesby J y cols. Vitamin D deficiency during various stages of pregnancy in the rat; its impact on development and behaviour in adult offspring. *Psychoneuroendocrinology* 2007; 32:227-234.

Papadokostakis G, Katonis P, Damilakis J y cols. Does raloxifene treatment influence back pain and disability among postmenopausal women with osteoporosis? *Eur Spine J* 2005; 14:977–981.

Park EA. The etiology of rickets. *Physiol Rev* 1923; 3:106-159

Pasco Julie A. Seasonal Periodicity of Serum vit- D and Parathyroid Hormone, Bone resorption and fractures: The Geelong osteoporosis Study. *J Bone and Mineral research* 2004; 19 nº 5.

Peacock M. Calcium metabolism in health and disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010; Jan;5 Suppl 1:S23-30.

Peterlik M, Boonen S, Cross HS y cols. Vitamin D and calcium insufficiency-related chronic diseases: an emerging world-wide public health problem. *Int J Environ Res Public Health*. 2009; 6(10):2585-607.

Pfeifer M, Begerow B, Minne HW. Vitamin D and muscle function. *Osteoporos Int*. 2002; 13(3):187–194.

Pfeifer M, Begerow B, Minne HW y cols. Effects of a long-term vitamin D and calcium supplementation on falls and parameters of muscle function in community-dwelling older individuals. *Osteoporos Int*. 2009; 20(2):315–322.

Phadnis R, Nemere I. Direct, rapid effects of 25-hydroxyvitamin D3 on isolated intestinal cells. *J Cell Biochem*. 2003; 90(2):287-93.

Pietrek J, Kokot F. Serum 25-hydroxyvitamin 1) in patients with chronic renal disease. *Eur J Clin Invest* 1977;7:283-287.

Pike JW, Zella LA, Meyer MB y cols. Molecular actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on genes involved in calcium homeostasis. *J Bone Miner Res*. 2007 ; 22 Suppl 2:V16-9.

Plotnikoff GA, Quigley JM. Prevalence of severe hypovitaminosis D in patients with persistent, nonspecific musculoskeletal pain. *Mayo Clin Proc* 2003; 78:1463-70.)

Portale AA, Halloran BP, Murphy MM y cols. Oral Intake of phosphorus can determine de semm concentration of 1,25-dihydroxyvitamin by determining its production rate in humans. *J Clin Invest* 1986;77:7-12

Poskitt EM, Cole TJ, Lawson DE. Diet, sunlight, and 25-hydroxy vitamin D in healthy children and adults. *Br Med J* 1979; 1:221-223.

Quesada JM., Luque F. Funciones óseas y extraóseas del sistema endocrino de la vitamina D. En: Rapado Erratzi a, Díaz Curiel M eds. Hipovitaminosis D en España. Fondo editorial FHOEMO. Madrid 2000; 15-27

Rastinejad F, Perlmann T, Evans RM y cols. Structural determinants of nuclear receptor assembly on DNA direct repeats. *Nature*. 1995, 375(6528):203-211.

Reginato A J. Musculo esqueletal manifestations of osteomalacia and rickets Best Practice and research Clinical Rheumatology 2003 vol.17 Nº 6 pp1063-1080.

Reginato AJ, Falasca GF, Pappu R y cols. Musculoskeletal manifestations of osteomalacia: report of 26 cases and literature review. *Semin Arthritis Rheum* 1999; 28:287–304.

Reginster J-Y. The high prevalence of inadequate serum vitamin D levels and implications for bone health. *Curr Med Res Opin*. 2005;21(4):579-585,

Richardson J P. Vit. D deficiency. The once and present epidemic. Editorial

Riggs RL, Gallagher JC, DeLuca HF. A syndrome of osteoporosis increased serum immunoreactive parathyroid hormone, and inapropiately low serum 1,25-dihydroxyvitamin D. *Mayo Clin Proc* 1978;53:701-706.

Rigotti NA, Nussbaum SR, Herzog DB y cols. Osteoporosis in women with anorexia nervosa. *N Engl J Med* 1984; 311:1601-1606.

Rivera J, González T. The Fibromyalgia Impact Questionnaire: a validated Spanish version to assess the health status in women with fibromyalgia. *Clin Exp Rheumatol*. 2004; 22:554-60.

Robien K, Strayer LG, Majhail N y cols. Vitamin D status among long-term survivors of hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2011 Jan 17

Rohde CM, DeLuca HE. All-trans retinoic acid antagonizes the action of calciferol and its active metabolite, 1,25-dihydroxycholecalciferol, in rats. *J Nutr* 2005; 135:1647-1652.

Rodriguez M, Caravaca F, Fernandez E y cols. Parathyroid function as a determinant of the response to calcitriol treatment in the hemodialysis patient. *Kidney Int.* 1999 Jul; 56(1):306-17.

Rodríguez Sangrador M, Beltrán de Miguel B, Cuadrado Vives C y cols. Influence of sun exposure and diet to the nutritional status of vitamin D in adolescent Spanish women: the five countries study (OPTIFORD Project). *Nutr Hosp.* 2010 25(5):755-762.

Rosen CJ, Morrison A, Zhou H y cols. Elderly women in northern New England exhibit seasonal changes in bone mineral density and calciotropic hormones. *Bone Miner* 1994; 25: 83–92.

Rucker D, Allan JA, Fick GH y cols. Vitamin D insufficiency in a population of healthy western Canadians. *CMAJ* 2002; 166:1517-1524.

Russo CR, Lauretani F, Bandinelli S y cols. Aging bone in men and women: Beyond changes in bone mineral density. *Osteoporos Int* 2003;14: 531–538.

Russo CR, Lauretani F, Seeman E y cols. Structural adaptations to bone loss in aging men and women. *Bone* 2006; 38:112–118.

Schleithoff SS, Zittermann A, Tenderich G y cols. Vitamin D supplementation improves cytokine profiles in patients with congestive heart failure: a double-blind randomized, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2006; 83:754-759.

Shinchuk LM, Holick MF. Vitamin D and rehabilitation: improving functional outcomes. *Nutr Clin Pract.* 2007; Jun;22(3):297-304.

Schindler S, Mannstadt M, Urena P y cols. PTH secretion in patients with chronic renal failure assessed by a modified CiCa clamp method: effects of 1-year calcitriol therapy. *Clin Nephrol.* 2004 61(4):253-60.

Schott G, Wills M. Muscle weakness in osteomalacia. *Lancet.* 1976; 2:626-629.

Silver J, Russell J, Sherwood LM. Regulation by vitamin D metabolites of messenger ribonucleic acid for preproparathyroid hormone in isolated bovine parathyroid cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985; 83:1349-1355.

Sharma OP. Hypercalcemia in granulomatous disorders: a clinical review. *Curt Opin Pulm Med* 2000; 6:442-447.

Simonelli C. Prevalencia de insuficiencia vit. D en población con fracturas por traumatismos mínimos. *Current Medical Research and opinión* 2005;21,nº7: 1069-1074.

Simpson RU, Thomas GA, Arnold AJ. Identification of 1,25- dihydroxyvitamin D3 receptors and activities in muscle. *J Biol Chem*. 1985; 260:8882-8891.

Slatopolsky EA, Weerts C, Thielan J y cols. Marked suppression of secondary hyperparathyroidism by intravenous administration of 1,25-dihydroxy-cholecalciferol in uremic patients. *J Clin Invest* 1984; 74:2136–2143.

Song CS, Echgadda I, Seo YK y cols. An essential role of the CAAT/enhancer binding protein- α in the vitamin D-induced expression of the human steroid/bile acid-sulfotransferase (SULT2A1). *Mol Endocrinol*. 2006; 20(4):795-808.

Sterling TM, Nemere I. 1,25-dihydroxyvitamin D3 stimulates vesicular transport within 5 s in polarized intestinal epithelial cells. *J Endocrinol*. 2005; 185(1):81-91;

Sterling TM, Nemere I. Calcium uptake and membrane trafficking in response to PTH or 25(OH)D3 in polarized intestinal epithelial cells. *Steroids*. 2007; 72(2):151-157.

Stewart B. Leavitt, MA. Vitamin D – A Neglected 'Analgesic' for Chronic Musculoskeletal Pain. *An Evidence-Based Review & Clinical Practice Guidance Pain Treatment Topics*, June 2008.

Sutton AL, MacDonald PN. Vitamin D: more than a "bone-a-fide" hormone. *Mol Endocrinol.* 2003; 17(5):777-91.

Tanaka Y y De Luca HF. The control of 25-hydroxyvitamin D metabolism by inorganic phosphorus. *Arch Biochem Biophys* **1973**;154:566-574.

Tangpricha V. Tannig is associated with optimal vit. D status and higer bone mineral density. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1645-1649.

Tavera-Mendoza LE, White JH. Cell defenses and the sunshine vitamin. *Scientific American.* November 2007.

Tenta R, Moschonis G, Koutsilieris M, y cols. Calcium and vitamin D supplementation through fortified dairy products counterbalances seasonal variations of bone metabolism indices: the Postmenopausal Health Study. *Eur J Nutr.* 2010; 14:123-135

Thacher TD, Clarke BL. Vitamin D insufficiency. *Mayo Clin Proc.* 2011; Jan;86(1):50-60.

Thys-Jacobs S. Alleviation of migraine with therapeutic vitamin D and calcium. *Headache.* 1994a; 34(10)590-592.

Thys-Jacobs S. Vitamin D and calcium in menstrual migraine. *Headache.* 1994b; 34(9)544-546.

Trivedi D.P. Effect of four monthly oral vit.D3 on fractures and mortality in men and women living in the community. Randomised double blind controlled trial. *BMJ* 2003; vol 326 march.

Turner MK, Hooten WM, Schmidt JE y cols. Prevalence and clinical correlates of vit. D inadequacy among patients with chronic pain. *Pain Med.* 2008; 9(8):979-84.

Van den Berghe, Van Roosbroeck D, Vanhove Py cols. Bone turnover in prolonged critical illness: effect of vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88:4623-4632.

Vieth R. The Pharmacology of Vitamin D, Including Fortification Strategies. In *Vitamin D* Editors D. Feldman, F. Glorieux. Second Edition 2005.

Vieth R. Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D concentrations, and safety. *Am J Clin Nutr.* 1999; 69:842-856.

Vieth R, Kimball S, Hu A, y cols. Randomized comparison of the effects of the vitamin D3 adequate intake versus 100 mcg (4000 IU) per day on biochemical responses and the wellbeing of patients. *Nutr J* 2004;3:8.

Vieth R. Critique of the considerations for establishing the tolerable upper intake level for vit. D: Critical need for revision upwards. *American society for nutrition.* 2006.

Vieth R. Urgent need to recommend an intake of vit. D that is effective. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 649-650.

Vieth R, Cole DE, Hawker Gay cols. Wintertime vitamin D insufficiency is common in young Canadian women, and their vitamin D intake does not prevent it. *Eur J Clin Nutr* 2001; 55:1091-1097.

Visser M, Deeg DJ, Lips P. Low vitamin D and high parathyroid hormone levels as determinants of loss of muscle strength and muscle mass (sarcopenia): the Longitudinal Aging Study Amsterdam. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88(12):5766–5772.

Walters MR. Newly identified actions of the vitamin D endocrine system. *Endocr Rev.* 1992 13(4):719-64.

Whitfield GK, Hsieh JC, Jurutka PW y cols. Genomic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3. *J Nutr.* 1995;125(6 Suppl):1690S-1694S.

Wicherts IS, Schoor NM, Boeke AJ y cols. Vitamin D status predicts physical performance and its decline in older persons. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92(6):2058–2065.

Windaus A. Lettre 8, Schenck F. 7-dehydrocholesterol. *Ann* 1935;520:98-106.

Yamamoto M, Igarashi T, Muramatsu M y cols. Hypocalcemia increases and hypercalcemia decreases the steady-state level of parathyroid hormone messenger RNA in the rat. *J Clin Invest* 1989; 83:1053-1056.

Winzenberg T, Powell S, Shaw KA y cols. Effects of vitamin D supplementation on bone density in healthy children: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2011 ; 25;342:c7254.

Wu F, Staykova T, Horne A y cols. Efficacy of an oral, 10-day course of high-dose calciferol in correcting vitamin D deficiency. *N Z Med J* 2003; 116:U536.

Yamauchi M, Kaji H, Nawata K y cols. Role of Parathyroid Hormone in Bone Fragility of Postmenopausal Women with Vitamin D Insufficiency. *Calcif Tissue Int.* 2011.

Yew KS, DeMieri PJ. Disorders of bone mineral metabolism. *Clin Fam Pract.* 2002;4:522–572.

Zhang Y, Hannan MT, Chaisson CE y cols. Bone mineral density and risk of incident and progressive radiographic knee osteoarthritis in women: The Framingham Study. *J Rheumatol* 2000; 27:1032–1037.

Zhao B, Nemere I. 1,25(OH)₂D₃-mediated phosphate uptake in isolated chick intestinal cells: effect of 24,25(OH)₂D₃, signal transduction activators, and age. *J Cell Biochem.* 2002; 86(3):497-508.

Zhu K. Randomized controlled trial of the effects of Calcium with or without vit.D on Bone structure and bone related chemistry in Elderly Women with vit.D insufficiency. J bone Miner Research 2008; vol 23,nº 8: 1343-1348.

Zisman AL, Ghantous W, Schinleber P y cols. Inhibition of parathyroid hormone: A dose equivalency study of paricalcitol and doxercalciferol. Am J Nephrol 2005; 25 :591– 595.