



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Máster

IMPLICACIONES DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCIO Y NIVELES DE VITAMINA D EN NIÑAS CON PUBERTAD PRECOZ

*IMPLICATIONS OF THE PHOSPHOCALCIC METABOLISM AND LEVELS OF
VITAMIN D IN PRECOCIOUS PUBERTY CHILDREN*

Juan Hidalgo Sanz (DNI 16630828-B)

Médico Residente de Pediatría Hospital Infantil
Universitario “Miguel Servet”

Máster en Condicionantes Genéticos, Nutricionales y Ambientales del
Crecimiento y Desarrollo

Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica

Universidad de Zaragoza

TUTORES:

Dra. Ruth García Romero

Dr. Feliciano J. Ramos Fuentes

ÍNDICE

I.	RESUMEN/ABSTRACT	
II.	ABREVIATURAS	
III.	INTRODUCCIÓN.....	1
	1. Vitamina D.....	1
	1.1 Síntesis.....	1
	1.2 Regulación.....	3
	1.2.1 PTH y calcio.....	4
	1.2.2 FGF-23.....	4
	1.2.3 Retroalimentación negativa.....	4
	1.2.4 Otras hormonas reguladoras.....	5
	1.3 Transporte.....	5
	1.3.1 Receptor nuclear de la vitamina D	6
	1.4 Determinación en el laboratorio.....	7
	1.5 Niveles séricos adecuados de vitamina D.....	8
	1.6 Acciones de la vitamina D.....	8
	1.6.1 Acciones genómicas y no genómicas.....	9
	1.6.2 Acciones esqueléticas.....	10
	1.6.3 Metabolismo óseo.....	11
	1.7 Acciones extraesqueléticas	13
	2. Pubertad precoz.....	17
	2.1 Fisiología de la pubertad.....	19
	2.1.1 Eje hipotalámico-hipofisario-gonadal.....	19
	2.1.2 Hormona de crecimiento e IGF-1.....	21
	2.1.3 Leptina.....	21
	2.1.4 Andrógenos.....	22
	2.2 Factores implicados en la pubertad precoz	22
	2.3 Diagnóstico de laboratorio y por imagen.....	25
	2.4 Pubertad precoz y vitamina D.....	26
IV.	OBJETIVOS	28
	1. Objetivo general.....	28
	2. Objetivos específicos.....	28
V.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	28
	1. Tipo de estudio.....	28
	2. Ámbito del estudio	28

IMPLICACIONES DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCIO Y NIVELES DE VITAMINA D EN NIÑAS CON
PUBERTAD PRECOZ

3.	Diseño del estudio.....	28
3.1	Definición de la población de estudio.....	28
3.1.1	Criterios de inclusión	29
3.1.2	Criterios de exclusión	29
3.2.	Determinación del tamaño muestral.....	29
3.3.	Fases del estudio.....	29
3.3.1	Reclutamiento.....	29
3.3.2	Recogida y análisis de muestras	30
3.3.3	Entrevista clínica.....	30
3.3.4	Análisis estadístico.....	31
3.4.	Técnica de laboratorio.....	31
4.	Aspectos éticos	31
4.1.	Hoja de información para el paciente y formulario de consentimiento informado.....	31
4.2.	Confidencialidad de los datos	32
4.3.	Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos	32
5.	Revisión bibliográfica	32
6.	Análisis y base de datos.....	32
7.	Limitaciones del estudio.....	33
VI.	RESULTADOS	34
1.	Selección de la muestra.....	34
2.	Análisis descriptivo del total de la muestra.....	34
2.1	Género y edad.....	34
2.2	Edad inicio puberal.....	35
2.3	Edad ósea al inicio de la pubertad.....	35
2.4	Telarquia y pubarquia.....	35
2.5	Parámetros antropométricos.....	35
2.5	Parámetros analíticos.....	36
2.6	Concentración de vitamina D.....	37
2.7	Control antropométrico en el momento d la extracción.....	37
2.8	Edad ósea en el momento de la extracción.....	38
3.	Correlaciones múltiples de los distintos parámetros analíticos.....	38
3.1	Correlación entre vitamina D e IMC	39
3.2	Correlación entre vitamina D y edad ósea.....	39
3.3	Correlación entre vitamina D y test de estimulación de LHRH.....	40
3.4	Correlación entre vitamina D y resto de parámetros.....	40

IMPLICACIONES DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCIO Y NIVELES DE VITAMINA D EN NIÑAS CON
PUBERTAD PRECOZ

4. Análisis bivariante.....	41
VII. DISCUSIÓN.....	42
VIII. CONCLUSIONES	45
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	46
X. ANEXOS.....	55

Título: “Implicaciones del metabolismo fosfocálcio y niveles de vitamina D en mujeres”
afectas de pubertad precoz

Autor: Juan Hidalgo Sanz

DNI: 16630828B

Tutor académico: Ruth García Romero

DNI: 25169727E

Línea de investigación: Crecimiento y desarrollo.

Centro: Universidad de Zaragoza (UNIZAR)

I. RESUMEN

Existe un gran interés en la función que realiza la vitamina D, no sólo a nivel del metabolismo mineral óseo, sino también por su papel a nivel extraesquelético, a pesar de lo cual, su déficit ha aumentado a nivel mundial.

Asimismo, se ha observado un adelanto progresivo de la menarquia con un aumento en la incidencia de pubertad precoz, especialmente en niñas. Este hecho responde no sólo al componente genético sino también a factores ambientales y su modificación puede contribuir a la disminución de enfermedades relacionadas con una pubertad precoz.

El presente estudio pretende evaluar la relación entre ambos hechos, por lo que se llevó a cabo un estudio observacional descriptivo transversal en niñas diagnosticadas de pubertad precoz (PP) a las que se les realizó un despistaje de déficit de vitamina D en un sector sanitario de Zaragoza, analizando un total de 20 pacientes.

Se observó una prevalencia media de déficit de vitamina D en pacientes afectas de PP de $21 \pm 7,12$ ng/mL, significativamente mayor a la obtenida de la población general pediátrica del mismo sector. Además, se estudió diferentes parámetros antropométricos y bioquímicos implicados en la pubertad precoz, que pudieran estar relacionados con niveles bajos de vitamina D, hallándose únicamente una correlación con valores mayores de hormona luteinizante en el test diagnóstico de estimulación con análogos de LHRH.

Como conclusión, nuestro estudio sugiere una implicación del déficit de vitamina D en el desarrollo de pubertad precoz, aunque se necesitaría continuar la línea de investigación con un mayor tamaño muestral.

Palabras clave: “vitamina D”, “pubertad precoz”, “receptor nuclear de vitamina D”, “factor de crecimiento insulinoide 1”, “hormona luteinizante”

ABSTRACT

Over the last few decades, considerable research work has been undertaken regarding the role that vitamin D performs on our body, at the level of bone mineral metabolism and extra-skeletal level role.

Likewise, a progressive advance of menarche alongside an increase in the incidence of precocious puberty has been observed, especially in girls. This fact responds not only to the genetic component but also to environmental factors. Changes in these factors could contribute to precocious puberty disease reduction.

The present study intends to evaluate that both facts may be related. Hence, a cross-sectional descriptive observational study was carried out in girls diagnosed with precocious puberty (PP) who were screened for vitamin D deficiency in a health sector in Zaragoza over a period of one year, analyzing a total of 20 patients.

An average prevalence of vitamin D deficiency was found in patients affected by PP of 21 ± 7.12 ng/mL, higher risk of obtaining the general pediatric population of the same sector. In addition, different anthropometric and biochemical parameters involved in precocious puberty, which could be related to low levels of vitamin D, were studied when analyzing a correlation with higher luteinizing hormone (LH) values in a diagnostic stimulation test with LH analogs.

In conclusion, our study implies an implication of vitamin D deficiency in the development of precocious puberty, although it is true that it would be necessary to continue this line of research with a larger sample size.

Key words: “vitamin D”, “precocious puberty”, “vitamin D receptor”, “insulin-like growth factor-1”, “luteinizing hormone”

II. ABREVIATURAS

1,25-(OH)₂-D₃: 1,25-Hidroxivitamina D o calcitriol

24,25-(OH)₂-D₃: 24,25-Dihidroxivitamina D₃

25-OH-D: 25-Hidroxivitamina D₃ o calcidiol

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ARN: Ácido ribonucleico

CaBP: Proteínas de unión al calcio o Calbidina

CBP: Métodos de competición proteica

DBP: Proteína de unión a vitamina D o transcalciferina

dl: Decilitro

DM1: Diabetes mellitus tipo 1

DM2: Diabetes mellitus tipo 2

DS: Desviación estándar

EI: Enfermedad inflamatoria intestinal

FGF-23: Factor de crecimiento fibroblástico-23

FSH: Hormona folículo-estimulante

GHRH: Hormonas hipotalámicas liberadoras de GH

GnRH: Factor liberador de gonadotrofinas

HPLC: Cromatografía líquida de alta eficacia

IGF-I: Factor de crecimiento insulínico tipo 1

IGF-BP3: Proteína 3 de unión al factor de crecimiento parecido a la insulina

IMC: Índice de masa corporal

LH: Hormona luteinizante

NMID: Osteocalcina intacta

PFAPA: Síndrome de Fiebre Periódica, Estomatitis Aftosa, Faringitis y Adenitis cervical

PINP: Propéptido N-terminal del colágeno tipo I

PICP: Propéptido C-terminal del colágeno tipo 1

PPC: Pubertad precoz central

PTH: Paratohormona

PTHi: Paratohormona intacta

RANK: Receptor activador para el factor nuclear K

RANKL: Ligando del receptor activador para el factor nuclear K

SPSS: *Statistical Package for the Social Sciences*

TDHA: Trastorno por déficit de atención de hiperactividad

UI: Unidad internacional

URO: Unidad de remodelado óseo

IMPLICACIONES DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCIO Y NIVELES DE VITAMINA D EN NIÑAS CON
PUBERTAD PRECOZ

UVA: Ultravioleta A

UVB: Ultravioleta B

VDR: Receptor nuclear de la vitamina D

VDBP: Proteína de unión a la vitamina D

III. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN DEL TEMA

1. VITAMINA D

1.1 Síntesis

El concepto de vitamina D abarca dos moléculas precursoras diferentes que precisan de procesos interorgánicos para su formación. Éstas se pueden encontrar en el organismo de forma endógena o exógena (1-4):

- La vitamina D₂ o ergocalciferol se obtiene a través de la dieta pues es aquella formada por la acción de la radiación ultravioleta sobre el esteroide ergosterol en las plantas y que absorbemos en duodeno y yeyuno, gracias a la presencia de grasas, suponiendo entre un 55 y un 99% de la ingesta oral (1-4).
- La principal fuente de vitamina D es la D₃ o colecalciferol, que es la forma de producción endógena en la piel de los mamíferos por la acción de la radiación ultravioleta. Se produce por la conversión fotoquímica a partir de 7-dehidrocolesterol, precursor esteroide que se encuentra en la epidermis (fundamentalmente en el estrato basal y en el estrato espinoso) y que se ve inducida por la exposición de la piel a los rayos ultravioleta B (UVB) de la luz solar, convirtiéndola en previtamina D₃. Posteriormente la previtamina D₃ debe sufrir una isomerización térmica no enzimática para convertirse en vitamina D₃. Una vez formada la vitamina D₃, necesita, al igual que la vitamina D₂, una serie de procesos hasta convertirse en su forma activa (2,4,5) (Figura 1).

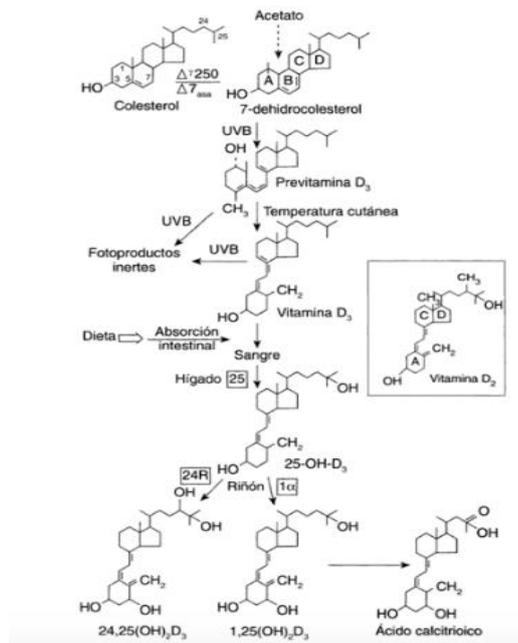


Figura 1. Proceso de síntesis bioquímica de vitamina D₃

Tras la formación de vitamina D3, ésta es transportada unida a la transcalfiferina o proteína fijadora específica de vitamina D (DBP) mediante un proceso de difusión al torrente sanguíneo desde la epidermis, a través de los capilares de la unión dermoepidérmica (6). La DBP entra en el torrente sanguíneo y viaja por la circulación hasta llegar primero al hígado, donde deposita la prohormona, la cual sufrirá una primera hidroxilación por acción de la 25 hidroxilasa dando lugar a la 25-hidroxivitamina D3 (25(OH)D), conocida como calcidiol o calcifediol. Aunque ambas vitaminas (D2 y D3) tienen funciones biológicas idénticas, algunos estudios sugieren que la vitamina D3 puede ser 2 o 3 veces más potente para mantener los niveles de 25(OH)D; además, la vitamina D3 podría unirse a DBP con mayor afinidad que la vitamina D2 (4).

La 25-hidroxivitamina D3 es transportada por la DBP al riñón, para sufrir la segunda hidroxilación llevada a cabo principalmente en el túbulo renal proximal mediante la enzima mitocondrial 1-alfa hidroxilasa y así completar su proceso de activación (Figura 2).

Aunque la gran mayoría de la síntesis la lleva a cabo la 1-alfa hidroxilasa en las células de los túbulos renales, esta también se encuentra en otros tejidos que también expresan receptores de vitamina D, como placenta, monocitos, próstata, mama, corazón, pulmón, colon, páncreas, cerebro, queratinocitos, células mononucleares activadas y osteoblastos que tienen capacidad de producir la forma activa de vitamina D (2,4,7,8).

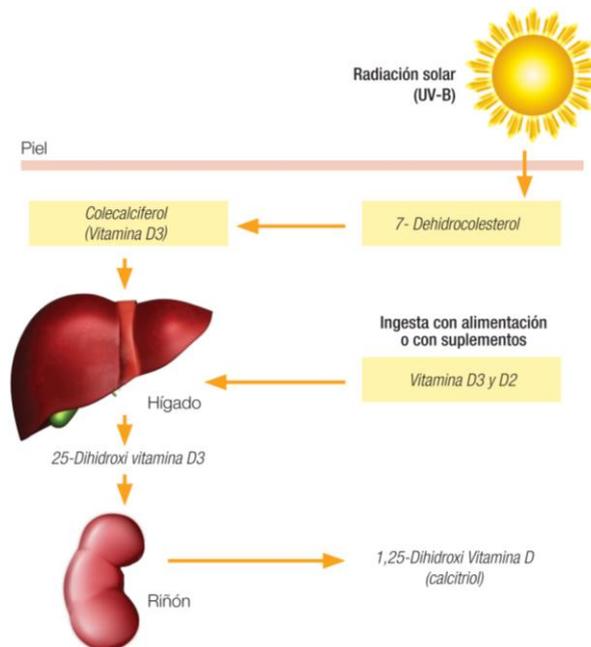


Figura 2. Síntesis y metabolismo de la vitamina D

1.2 Regulación

La síntesis renal de 1,25(OH)₂D está regulada por múltiples factores, ya que para realizar sus funciones necesita una estricta regulación de activación y desactivación a través de una serie de procesos de retroalimentación positiva y negativa. La hidroxilación que realiza la 1-alfa hidroxilasa es el principal mecanismo de control del metabolismo de la vitamina D, que es activada por la paratohormona (PTH) y la calcitonina, y es inhibida por la concentración plasmática de calcio, fósforo y la propia 1,25(OH)₂D mediante un proceso de retroalimentación negativa. El factor de crecimiento fibroblástico-23 (FGF-23), la hormona del crecimiento, la insulina, el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-I), los estrógenos o la prolactina también actúan de manera directa o indirecta sobre la 1-alfa hidroxilasa renal (4,9-13) (Figura 3).

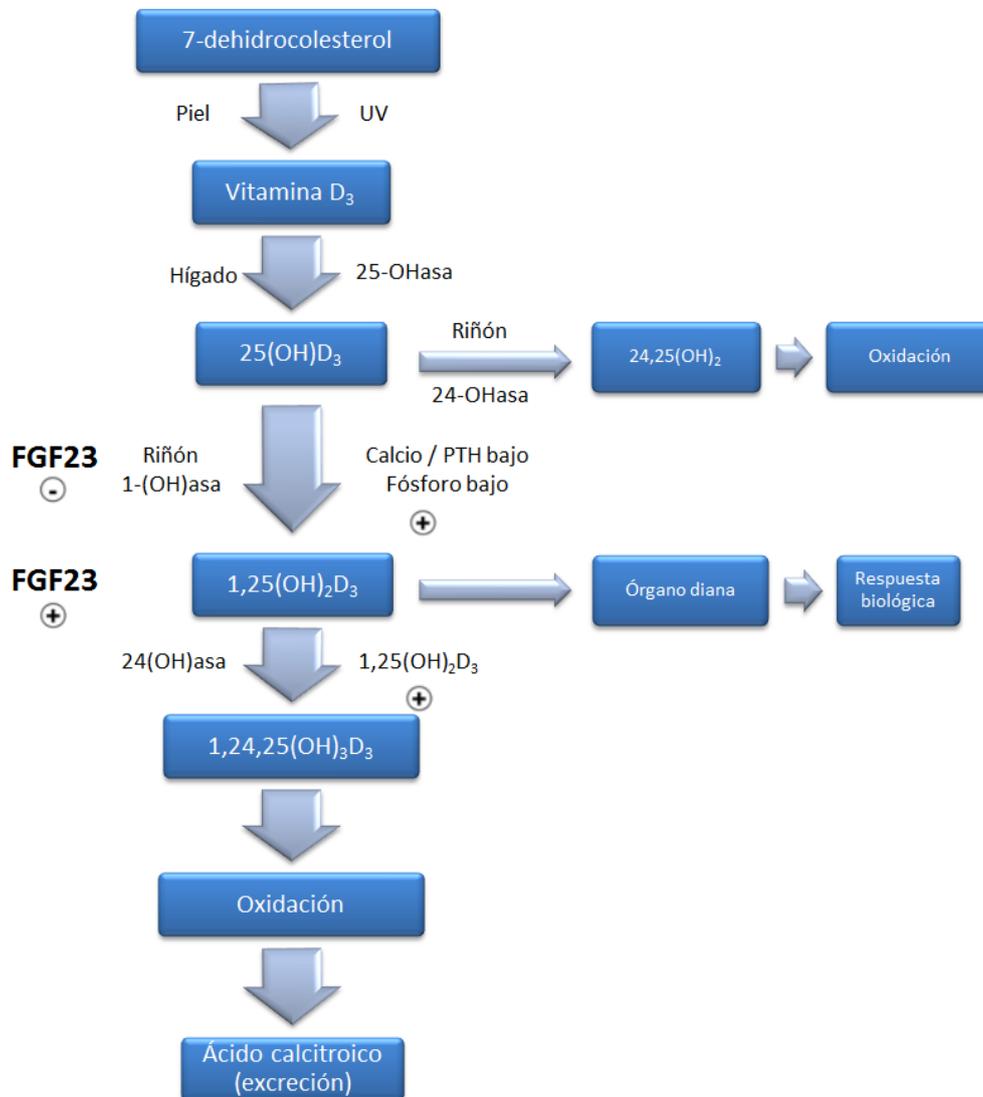


Figura 3. Metabolismo de la vitamina D y su regulación

1.2.1 PTH y Calcio

La hipocalcemia es detectada por la glándula paratiroides, aumentando así la expresión de la PTH que, a su vez, estimula la expresión de la 1-alfa hidroxilasa en el riñón, y con ello la formación de 1,25(OH)D₂ (2,14). La PTH es un potente estimulante de la formación de 1,25(OH)D₂ (7). Por el contrario, la 1,25(OH)D₂ suprime la producción de PTH a nivel de su transcripción, y regula negativamente también a la 1-alfa hidroxilasa. La 1,25(OH)D₂ interactúa con los receptores (VDR) promoviendo la absorción intestinal de calcio y fósforo y liberando calcio y fósforo de la matriz mineral ósea. Al corregirse el déficit en la concentración sérica de calcio, se produce regulación a la baja del eje 1,25(OH)D-PTH, controlado por el FGF-23, liberado a partir del hueso (13).

1.2.2 FGF-23

El FGF-23 es un factor fosfatúrico producido por el hueso, que promueve la excreción renal de fosfato por disminución de su reabsorción en el túbulo proximal. La expresión de FGF-23 en el hueso es inducida por la 1,25(OH)D₂, y a su vez, el aumento de FGF-23 suprime la expresión de la 1-alfa hidroxilasa e induce la expresión de la 24-hidroxilasa. El FGF-23 hace que el cotransportador de sodio-potasio de las células renales e intestinales sea internalizado, suprimiendo así la síntesis de 1,25(OH)D₂. De esta manera se genera un ciclo de retroalimentación negativa entre el FGF-23 y la vitamina D (2,12,14).

1.2.3 Retroalimentación negativa

Cuando existe hipercalcemia y los niveles de 1,25(OH)D₂ requieren atenuación, ella misma genera su propia destrucción mediante la activación de la enzima 24-hidroxilasa (CYP24), que mediante una serie de procesos catabólicos hace que tanto la 1,25(OH)D₂ como la 25(OH)D se transformen en metabolitos biológicamente inactivos, como el ácido calcitrico, que posteriormente se excretarán por la orina. La CYP24 también produce 24,25-dihidroxitamina D (24,25(OH)D₂), un metabolito relativamente inactivo si se compara con la 1,25(OH)D₂, como respuesta a la elevación de fosfato inorgánico o cuando los niveles de PTH se encuentran bajos (2,11,12,14,15).

1.2.4 Otras hormonas reguladoras

La calcitonina estimula la producción de 1,25(OH)D₂ cuando los niveles séricos de calcio son normales, pero también tiene un papel relevante en la reducción de los osteoclastos cuando existe un alto contenido de calcio en el organismo. Esta estimulación puede tener una importancia fisiológica durante la lactancia cuando los niveles de calcitonina y de 1,25(OH)D₂ son elevados y está aumentada la necesidad de calcio (14). Se ha sugerido que la prolactina, que también está elevada durante la lactancia, puede estimular la producción de 1,25(OH)D₂.

1.3 Transporte

Los metabolitos de la vitamina D son moléculas lipofílicas con baja solubilidad en agua, que deben ser transportados unidos a proteínas plasmáticas (2,8). Los niveles plasmáticos de DBP son 20 veces más altos que la cantidad total de metabolitos de vitamina D, estando el 99% de los metabolitos circulantes unidos a proteínas. En circunstancias normales, aproximadamente el 85% de 1,25(OH)D₂ está unido a la DBP y el 15% a albúmina, siendo su circulación libre en plasma inferior al 0,5% para 1,25(OH)D₂ e inferior al 0,05% para 25(OH)D. Los metabolitos unidos a DBP son menos susceptibles de depuración hepática y tienen acceso limitado a las células diana, con lo que se prolonga su vida media. Sólo una pequeña fracción de los metabolitos no unidos a DBP entran pasivamente en las células diana para ser adicionalmente metabolizados y ejercer sus efectos biológicos. La actividad biológica se correlaciona con las concentraciones de hormona libre, por lo que la DBP actúa como regulador de la concentración libre de vitamina para así evitar la intoxicación (2,4,16).

La vitamina D₃, sintetizada endógenamente mediante fotosíntesis, circula en suero casi exclusivamente transportada por DBP, lo cual representa una parte fundamental en la translocación de la vitamina D de la piel a la circulación.

1.3.1. Receptor nuclear de la vitamina D

La mayor parte de las acciones biológicas de la 1,25(OH)D₂ se consiguen a través del receptor nuclear de la vitamina D (VDR) que se expresa en múltiples tejidos (tabla 1), siendo esta amplia distribución lo que subyace a la infinidad de posibles acciones fisiológicas de la vitamina D (2,5,16).

IMPLICACIONES DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCIO Y NIVELES DE VITAMINA D EN NIÑAS CON PUBERTAD PRECOZ

El VDR tiene dos dominios que le permiten, por un lado, unirse a la 1,25(OH)₂D₃ en el citoplasma celular, para desplazarse hasta el núcleo, y por otro lado unirse al ácido desoxirribonucleico (ADN) a través del otro dominio. En el núcleo, la unión de la 1,25(OH)₂D₃ y el VDR forma un heterodímero con el receptor del ácido retinoico (RXR), formando el complejo 1,25(OH)₂D₃-VDR-RXR. Este complejo se une a sitios específicos del genoma, donde puede influir sobre la producción del ácido ribonucleico (ARN) que codifica proteínas de gran importancia biológica. Las alteraciones del gen codificante del VDR pueden deberse a alteraciones en uno de los dominios codificantes, produciéndose una de las formas de raquitismo resistente más graves (7,16,17,18).

SISTEMA	ÓRGANOS Y TEJIDOS
Sistema renal	Células tubulares Aparato yuxtglomerular Podocitos
Sistema endocrino	Paratiroides Células C tiroideas Células beta pancreáticas Glándulas suprarrenales Hipófisis
Sistema gastrointestinal y hepático	Esófago Estómago Intestino Hepatocitos
Sistema cardiovascular	Células del músculo esquelético liso arterial Cardiomiocitos Células endoteliales
Sistema musculoesquelético	Osteoblastos Condrocitos Músculo estriado esquelético
Sistema respiratorio	Células alveolares pulmonares

IMPLICACIONES DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCIO Y NIVELES DE VITAMINA D EN NIÑAS CON PUBERTAD PRECOZ

Sistema reproductor	Ovarios Placenta Útero Testículos Epididímo
Piel	Queratocitos y folículos pilosos
Sistema nervioso central	Neuronas
Otros	Tejido adiposo Mama Fibroblastos

Tabla 1. Órganos y tejidos en los que se expresa el VDR.

1.4 Determinación en el laboratorio

La determinación de la concentración plasmática de 25(OH)D proporciona la mejor medida del estado de reserva de vitamina D, y por tanto debe ser el “gold standard” para su evaluación. Este consenso se basa en que tanto la vitamina D ingerida como la producida en la piel se convierte, casi totalmente en 25(OH)D en el hígado, aunque sólo una parte de ésta es transformada en su metabolito activo. Además, se trata de un metabolito estable y es el mayoritario en el suero. Asimismo, se ha observado en casos de hiperparatiroidismo severo que el nivel de 1,25(OH)D₂ tiende a mantenerse dentro del rango normal. Por lo tanto, la medición directa de 1,25(OH)D₂ puede no ser, en todos los casos, un reflejo de la cantidad de 1,25(OH)D₂ que se encuentra biológicamente activa en el organismo (3,14).

Para la determinación de 25(OH)D se pueden utilizar dos tipos de métodos: inmunoquímicos (radioactivos, enzimáticos o quimioluminiscentes) o cromatográficos (HPLC y LCMS-MS), encontrándose en los distintos estudios realizados buena correlación entre ellos (19).

1.5 Niveles séricos adecuados de vitamina D

A diferencia de lo que ocurre con otras vitaminas, es importante tener en cuenta que los términos deficiencia o insuficiencia no conllevan una enfermedad clínicamente manifiesta, sino que pueden asociarse a un riesgo mayor de una serie de eventos de distinta índole con resultados a largo plazo.

En el caso de la vitamina D, además de ser un micronutriente esencial, debe considerarse como una hormona involucrada en un complejo sistema endocrino que regula la homeostasis mineral, protege la integridad del esqueleto y modula el crecimiento y la diferenciación celular en una amplia variedad de tejidos, por lo que estos estados de deficiencia e insuficiencia implican un mayor riesgo de las múltiples enfermedades que se han comentado previamente, así como una alteración en la regulación del metabolismo fosfocálcico.

Existe una gran controversia sobre cuál debería ser el nivel óptimo de vitamina D, y por tanto el punto de corte a partir del cual consideraríamos que existe déficit. Todo ello, unido al hecho de la variabilidad en los niveles de vitamina D debido a las estaciones, la dieta o los suplementos, hace difícil valorar el punto óptimo necesario para mantener un equilibrio adecuado y un control en las distintas enfermedades en las que la vitamina D podría participar. En 2011 se publicaron las guías de práctica clínica que catalogaban el déficit de vitamina D como aquel con concentraciones de 25(OH)D por debajo de 20 ng/mL, y la insuficiencia entre 21-29 ng/mL. Otros grupos también han establecido sus recomendaciones basándose en distintos estudios sin llegarse a un consenso mundial (20–22). En cuanto a la hipervitaminosis D su rango ha sido arbitrariamente definido por la mayoría de expertos como concentraciones de 25(OH)D superiores a 100 ng/ml, sin embargo los síntomas de la intoxicación por vitamina D generalmente no se hacen manifiestos hasta que aumenta la concentración circulante de 25(OH)D por encima de 150 ng/ml (20).

1.6 Acciones

La principal acción de la vitamina D es mantener la concentración de calcio y fósforo dentro del rango fisiológico que permita el metabolismo, la transmisión neuromuscular y la mineralización ósea, actuando sobre las células epiteliales intestinales, renales, osteoblastos y osteoclastos; pero también se ha descrito la presencia de receptores de vitamina D en médula ósea, cartílago, folículo piloso, tejido adiposo, suprarrenal, cerebro, estómago, colon, páncreas (células beta), hígado,

pulmón, músculo, linfocitos B y T activados, corazón, aparato yuxtaglomerular, células del músculo liso vascular, gónadas, próstata, mama, células paratiroideas, parótida, placenta, retina, timo y tiroides (figura 4). Por este motivo, se le suponen funciones diversas, las cuales están siendo investigadas en la actualidad (2,4,18).

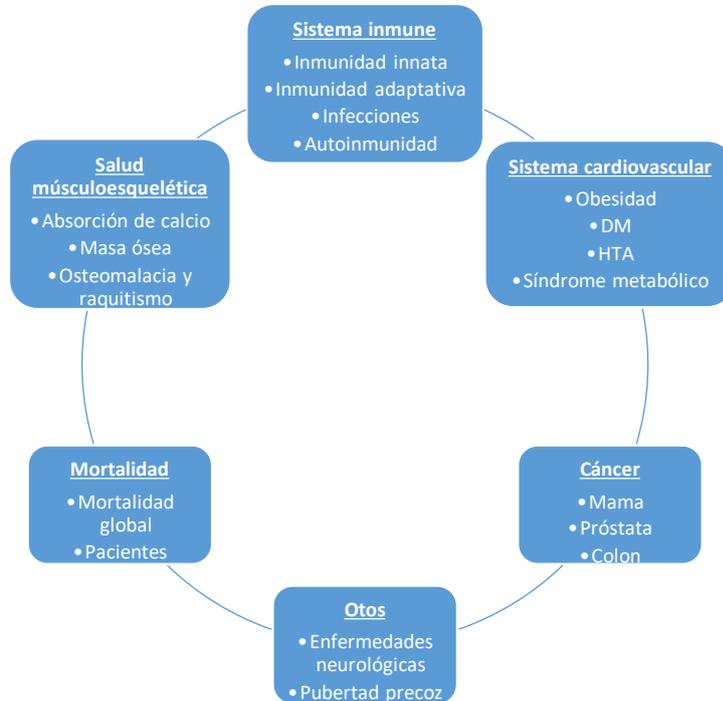


Figura 4. Acciones no genómicas de la vitamina D

1.6.1 Acciones genómicas y no genómicas

Una vez unida al receptor VDR, la 1,25(OH)D₂ puede inducir respuestas a nivel genómico, regulando la transcripción de genes, y a nivel no genómico, de actuación rápida. Sus acciones genómicas más importantes son la regulación del metabolismo mineral óseo, por la acción sobre las células epiteliales intestinales, renales, osteoblastos y osteoclastos. Todo ello se realiza mediante la regulación de la expresión de la 1-alfa hidroxilasa, así como de las bombas iónicas y transportadores de calcio entre otros. Dada la gran variedad de tejidos en los que actúa, la 1,25(OH)D₂ se relaciona también con un gran número de genes que son influenciados por su efecto. Se cree que regula la transcripción de aproximadamente un 3% del genoma humano (2,7,23,24).

Al igual que otras hormonas esteroideas, puede generar respuestas rápidas sin tener que generar cambios en la expresión génica. Estas acciones se llevan a cabo mediante receptores de VDR en la superficie celular, aunque todavía no se conoce por

completo su alcance. Entre estas múltiples acciones cabe destacar la absorción intestinal rápida de calcio, la secreción de insulina por las células beta pancreáticas, la apertura de los canales de calcio y cloro dependientes de voltaje en osteoblastos y la migración rápida de las células endoteliales (2,13).

1.6.2 Acciones esqueléticas

Para mantener la homeostasis fosfocálcica y una correcta mineralización ósea, la vitamina D tiene un papel fundamental interactuando con los riñones, el hueso, la glándula paratiroides y el intestino. La 1,25(OH)D₂ al interactuar con los receptores VDR fundamentalmente promueve la absorción intestinal de calcio y fósforo, y libera calcio y fosfato de la matriz mineral ósea (25).

La 1,25(OH)D₂ incrementa la eficiencia de la absorción del calcio y fósforo tanto renal como intestinal (11). Una vez absorbidos, la 1,25(OH)D₂ ayuda a conservar una concentración sérica suficiente para mantener la mineralización pasiva de la matriz ósea. Pero además influye en distintos procesos a nivel óseo, que van desde el desarrollo de la placa de crecimiento, hasta el control de la homeostasis ósea, al regular el equilibrio entre la resorción osteoclástica y la formación osteoblástica (2, 26).

Cuando existe deficiencia de calcio sérico, se activa la resorción de calcio en el hueso que es llevada a cabo por la 1,25(OH)D₂ al actuar en el VDR de los osteoblastos para activar, a su vez, la expresión de la citoquina del receptor activador para el factor nuclear K (RANK). El RANK de la membrana de los precursores de los osteoclastos se une con el ligando del receptor activador para el factor nuclear K (RANKL), induciendo su diferenciación a osteoclastos maduros, que comienzan a disolver la matriz mineral y osteoide, permitiendo la liberación de calcio y fósforo a la circulación (2,7,26,27).

La glándula paratiroides presenta una correlación estrecha con el metabolismo de la vitamina D, intensificando la reabsorción tubular de calcio y estimulando a los riñones a producir 1,25(OH)D₂ a partir de 25(OH)D. Cuando existe deficiencia de 1,25(OH)D₂, la glándula paratiroides se hiperplasia e incrementa la síntesis de PTH. Por lo tanto, la PTH conserva el calcio, aumentando la reabsorción tubular proximal y distal, por un lado, y, por otro, activando los osteoblastos, los cuales estimulan la transformación de preosteoclastos en osteoclastos maduros, para llevar a cabo la resorción ósea (11,27).

A nivel renal, la vitamina D regula su propia homeostasis, suprimiendo la función de la 1-alfa hidroxilasa y estimulando la 24-hidroxilasa. Además, aumenta la reabsorción

tubular de calcio y acelera el transporte de calcio en el túbulo distal inducido por la PTH. La PTH inhibe la reabsorción tubular renal de fósforo, condicionando la pérdida de fósforo por la orina e induce la formación de 1,25(OH)D₂, que aumentará a su vez la absorción intestinal de calcio y fósforo (10).

1.6.3 Metabolismo óseo

El remodelado óseo es el proceso por el que esqueleto se renueva continuamente. El recambio óseo comprende dos fases: la formación y la resorción ósea que son llevadas a cabo gracias al esfuerzo colaborativo y secuencial de los osteoblastos y los osteoclastos que se encuentran dentro de una estructura temporaria denominada "unidad de remodelado óseo" (URO) (28).

Los osteoblastos, al sintetizar la matriz orgánica o sustancia osteoide, expresan una enzima característica, la fosfatasa alcalina, responsable de la mineralización ósea. Estas células son las responsables de sintetizar las proteínas colágenas y no colágenas de la matriz orgánica del hueso y dirigen la disposición de las fibrillas de la matriz extracelular, contribuyendo a la mineralización de la sustancia osteoide y que, junto a la acción de la fosfatasa alcalina, median en la reabsorción llevada a cabo por los osteoclastos a través de la síntesis de citoquinas específicas.

Los osteoclastos son las células encargadas de la reabsorción ósea que contienen fosfatasa ácida tartrato resistente, la cual permite la defosforilación de las proteínas. La matriz orgánica o sustancia osteoide representa un tercio del peso óseo y está formada fundamentalmente por proteínas entre las que destaca el colágeno (90%). En ella se encuentran tanto osteoblastos como osteoclastos. La matriz orgánica juega un papel importante en el conjunto del sistema óseo, pues no sólo actúa como reservorio de calcio y fósforo, sino que también constituye una verdadera reserva de proteínas que participan en la regulación de la diferenciación celular y de la integridad y función del tejido óseo (26).

Existe una serie de marcadores específicos, denominados biomarcadores óseos, que reflejan tanto la formación como la resorción ósea:

- Los marcadores que provienen de la actividad de los osteoblastos se denominan marcadores de formación ósea y todos ellos se determinan en sangre (fosfatasa alcalina ósea, osteocalcina y propéptidos del colágeno tipo I amino y carboxilo terminal).

IMPLICACIONES DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCIO Y NIVELES DE VITAMINA D EN NIÑAS CON PUBERTAD PRECOZ

- Los marcadores que provienen de la actividad de los osteoclastos se denominan marcadores de resorción ósea, y aunque en principio se determinaron únicamente en orina (piridinolinas, hidroxiprolina y calciuria), actualmente es posible disponer de marcadores que se determinan en suero (fosfatasa ácida tartrato resistente isoforma 5b y telopéptidos carboxilo y amino terminales, CTX y NTX respectivamente) (29,30).

Marcadores de formación	Marcadores de resorción
Suero	Suero
Fosfatasa alcalina total (FA)	Fosfatasa ácida tartrato-resistente (TRAP)
Fosfatasa alcalina ósea (FAO)	Telopéptido C-terminal del colágeno tipo I (ICTP)
Osteocalcina (OC)	β -CrossLaps (β -CTX)
Propéptido C-terminal del protocógeno tipo I (PICP)	Telopéptido N-terminal del colágeno tipo I (NTX)
Propéptido N-terminal del protocógeno tipo I (PINP)	
	Orina
	Excreción urinaria de calcio
	Hidroxiprolina
	Piridinolina (Pir)
	Deoxipiridinolina (Dpir)
	Telopéptido C-terminal del colágeno tipo I (ICTP)
	α -CrossLaps (α -CTX)
	Telopéptido N-terminal del colágeno tipo I (NTX)

Tabla 2. Marcadores bioquímicos de remodelado óseo

Cuando se produce deficiencia de vitamina D tanto en niños como en adultos, disminuye un 15% la absorción de calcio y hasta un 60% la de fósforo, disminuyendo el calcio sérico ionizado (2,7,11,31). Al presentar niveles bajos de calcio, la secreción de PTH es estimulada como respuesta para mantener el equilibrio fosfocálcico, produciéndose finalmente una menor mineralización de la matriz ósea y del cartílago de la placa de crecimiento, que pueden abocar, por tanto, en osteomalacia y raquitismo.

1.6.4 Acciones extraesqueléticas

La expresión de VDR así como la presencia de la enzima hidroxilasa en multitud de células del organismo diferentes a las del intestino, riñón o sistema musculoesquelético,

sugiere que existen múltiples acciones no calciotrópicas de la vitamina D. Además, directa o indirectamente, la vitamina D controla infinidad de genes, incluyendo aquellos responsables de la proliferación y apoptosis celular, así como de la inmunomodulación (11). Estas acciones, entre otras, explican la relación de su deficiencia con múltiples tipos de enfermedades tales como las enfermedades autoinmunes, la diabetes, las enfermedades cardiovasculares, las infecciones y el cáncer.

- Sistema inmune:

Las interacciones con el sistema inmune son las más conocidas entre sus efectos no clásicos. El receptor VDR se expresa en la mayoría de las células del sistema inmune, haciendo que la presencia de vitamina D aumente la efectividad de la acción del sistema inmune ante las infecciones e inhibiendo el desarrollo de autoinmunidad, así como el rechazo a los trasplantes. Recientemente, se ha descrito que alteraciones en el VDR también pueden generar alteraciones en la respuesta inmune y un mayor riesgo de infecciones por micobacterias (32).

- Autoinmunidad:

Paralelamente a su relación con el sistema inmune, el déficit de vitamina D mediante el efecto inhibitor del fenotipo Th1 y la activación del fenotipo Th2 en combinación específicamente con la tolerancia a autoantígenos, podría desencadenar o exacerbar las reacciones autoinmunes. Recientes estudios postulan que niveles inadecuados de vitamina D confieren un alto riesgo de desarrollar enfermedades autoinmunes como sucede en la esclerosis múltiple, artritis reumatoide, artritis idiopática juvenil y el síndrome de PFAPA (33). Se ha demostrado que la EII empeora en ausencia de suplementación con vitamina D y disminuyen los brotes con su administración (34,35), así como en la dermatitis atópica y/o sospecha de alergia alimentaria, observando que los pacientes con sensibilización a ciertos alimentos, predominantemente el trigo y la leche, presentaban niveles más bajos de vitamina D, habiendo una correlación inversa entre los niveles de vitamina D y la cantidad de sensibilizaciones que presentaban (36).

- Infecciones respiratorias:

En un sujeto sano, la vitamina D se encarga de mantener en equilibrio la compleja interacción entre la inmunidad innata y adaptativa para obtener una respuesta adecuada a las infecciones tales como la otitis media aguda, la faringoamigdalitis aguda, la rinosinusitis, la neumonía y la bronquiolitis. El sistema inmune detecta y responde a la presencia de bacterias intracelulares produciendo más 1,25(OH)D₂ para activar el VDR y expresar los péptidos antimicrobianos endógenos que permiten al sistema inmune innato atacar a los patógenos intracelulares (37,38). También se ha podido observar

que niveles más bajos de vitamina D suponen un riesgo de presentar mayor severidad del proceso, y de requerir mayores necesidades de oxigenoterapia y soporte respiratorio durante su estancia hospitalaria (39).

- Asma:

Varios estudios han demostrado una alta prevalencia de déficit de vitamina D entre los pacientes asmáticos (40,41). Algunos autores relacionan la función pulmonar de los pacientes con enfermedades pulmonares y la concentración de vitamina D tanto en niños como en adultos, debido a que la vitamina D juega un papel crucial en la remodelación de la vía aérea o bien debido a su papel activo en la regulación de la inflamación y en la modulación del riesgo de infecciones respiratorias (42).

- Sistema cardiovascular:

Las células endoteliales, las del músculo liso o los cardiomiocitos, que tienen una función relevante en la fisiología y patología del sistema cardiovascular, están influenciadas por la vitamina D, pues la mayoría expresan CYP27B1 permitiendo la síntesis local de 1,25(OH)D₂, lo que podría explicar la asociación entre enfermedad cardiovascular y vitamina D.

Algunos estudios han mostrado que los niveles circulantes de vitamina D podrían estar relacionados con los niveles de presión arterial y de riesgo cardiovascular (43). La 1,25(OH)D₂ interviene en el sistema renina-angiotensina-aldosterona, participando así en la regulación de la presión sanguínea. La suplementación con vitamina D₃ reduce la presión arterial en pacientes con hipertensión y la 1,25(OH)D₂ reduce la presión arterial, la actividad de la renina plasmática y los niveles de angiotensina II en pacientes con hiperparatiroidismo (44). Indirectamente en el estudio de Framingham se demostró que la deficiencia de vitamina D también actúa como factor de riesgo cardiovascular independiente ya que aumenta la inflamación asociada con la aterosclerosis (45).

- Obesidad:

La vitamina D circulante se deposita en el tejido adiposo, por lo que la existencia de grasa corporal excesiva retendría la vitamina D (46-49). Recientemente, algunos estudios relacionan la hipovitaminosis D con el exceso de grasa corporal. En la población pediátrica también se ha podido observar que la concentración de vitamina D disminuye en aquellos pacientes obesos durante la pubertad, en comparación con los obesos prepúberes (50,51).

Además, se ha podido relacionar también el déficit de vitamina D con un aumento de la concentración de triglicéridos en sangre. En la edad pediátrica se han realizado múltiples estudios hasta la fecha en los que niños con una concentración de vitamina D inferior a 17,4 ng/ml tenían significativamente mayor concentración de triglicéridos en sangre que los que presentaban concentraciones superiores de vitamina D (52).

- Diabetes mellitus:

La vitamina D juega un papel primordial en la regulación de la secreción de insulina, pudiendo aumentar la secreción y la sensibilidad a ésta, por lo que su déficit confiere un mayor riesgo de sufrir diabetes mellitus de tipo 1 y 2 (53).

En cuanto a la diabetes mellitus de tipo 2 (DM2), se ha descrito que los receptores que existen en las células beta pancreáticas tras el estímulo de la vitamina D₃, facilitan la producción de insulina, presentando los pacientes mejoría de la resistencia a la insulina cuando tienen mayores concentraciones de vitamina D. También encontramos estos receptores en los tejidos diana de la insulina, favoreciendo así la sensibilidad de estos tejidos y disminuyendo la resistencia periférica (54).

- Cáncer:

Se conoce que la vitamina D regula la expresión genética en muchos procesos celulares, como son la apoptosis, la proliferación, la diferenciación y la modulación de la respuesta inmune. De manera específica, la 1,25(OH)D₂ frena el ciclo celular de las células malignas haciendo que permanezcan en las fases G₀/G₁ (55). También se ha observado que la vitamina D inhibe el crecimiento de los queratinocitos y estimula su diferenciación, y que las concentraciones de vitamina D por encima de 75 nmol/l (30 ng/ml) mantienen el crecimiento celular bajo control y previenen que las células sean autónomas y se malignicen (56). Estudios epidemiológicos han demostrado a su vez que existe una asociación entre factores relacionados con concentraciones bajas de vitamina D, como son una latitud mayor, o menor exposición solar, y mayor incidencia de ciertos tipos de cáncer, como el de colon, mama y próstata entre otros (57,58).

- Enfermedades neurológicas:

Se realizó un estudio en pacientes con trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDHA) en los que se compararon 60 individuos frente a 30 controles sanos, observando que aquellos pacientes con TDHA presentaban concentraciones de vitamina D estadísticamente significativas más bajas que los controles sanos, sin encontrar otras diferencias en el metabolismo fosfocálcico (59).

Se realizó también un estudio con el objetivo de ver si existe relación entre las enfermedades psiquiátricas y el déficit de vitamina D, y se observó que el 48,8% de los pacientes estudiados presentaban niveles deficientes, siendo sólo un 13,9% los que presentaban niveles suficientes definidos como niveles de vitamina D superiores a 30 ng/mL.

- Pacientes críticos:

El déficit de vitamina D también ha sido estudiado en pacientes críticos, tanto en la edad adulta como en la pediátrica. El hecho de que se haya relacionado la vitamina D a través de la presencia de sus receptores en sistemas tales como el cardiovascular, el respiratorio o el inmune con distintas acciones extraesqueléticas implicaría que pudiera estar directamente involucrado en la fisiopatología de la enfermedad y de la inflamación, y llegar a ser un factor de riesgo modificable en estos pacientes (60-65). Existe una creciente evidencia de que el déficit de vitamina D en poblaciones en estado crítico se asocia con un aumento del riesgo de mortalidad, una estancia prolongada en las unidades de cuidados intensivos (UCI) y un aumento del riesgo de infecciones (66). También parece ser que el déficit de vitamina D es predictor de sepsis en el paciente crítico y hace que los pacientes presenten un riesgo aumentado de mortalidad durante su ingreso (67).

- Pubertad precoz:

Finalmente, otra de las patologías con las que se ha intentado relacionar el déficit de vitamina D es con la pubertad precoz. Varias líneas de investigación han obtenido resultados que vinculan niveles bajos de vitamina D con el desarrollo de la pubertad precoz (68,69,70).

Se desconoce aún el mecanismo exacto mediante el cual se produce este fenómeno, pero sí se sabe que estaría implicado el VDR, que se expresa en casi todas las células del cuerpo, incluidos los ovarios y la hipófisis humana. No obstante, algunos autores sugieren que sea debido a un efecto indirecto que tiene la deficiencia de vitamina D, relacionado con un exceso de grasa corporal como hemos citado anteriormente (71).

Es en este apartado en el que nos centraremos en este estudio y desarrollaremos más adelante.

2. PUBERTAD PRECOZ

La pubertad consiste en la aparición de los caracteres sexuales secundarios en relación con la secreción de esteroides gonadales, que pueden valorarse directamente a través de sus niveles en sangre o indirectamente a través de los estadios de Tanner (fig.5). En los niños se inicia coincidiendo con el incremento del volumen testicular a unos 4 ml, siendo el pico máximo de crecimiento cuando se alcanza un volumen de 15 ml y un desarrollo genital entre los estadios III y IV de Tanner. En el caso de las niñas, se inicia con la aparición del botón mamario, si bien es cierto que es un signo más tardío puesto que el desarrollo gonadal no es visible externamente, y el pico máximo de crecimiento puberal se alcanza para un estadio III del desarrollo mamario (72).

La edad cronológica en la que se inicia el desarrollo puberal difiere entre ambos sexos. En promedio, las niñas inician el desarrollo puberal dos años antes que los niños, aunque también existen diferencias entre individuos del mismo sexo. Las niñas inician el desarrollo puberal a edades comprendidas entre los 9 y los 11 años, y los niños entre los 12 y 14 años de edad.

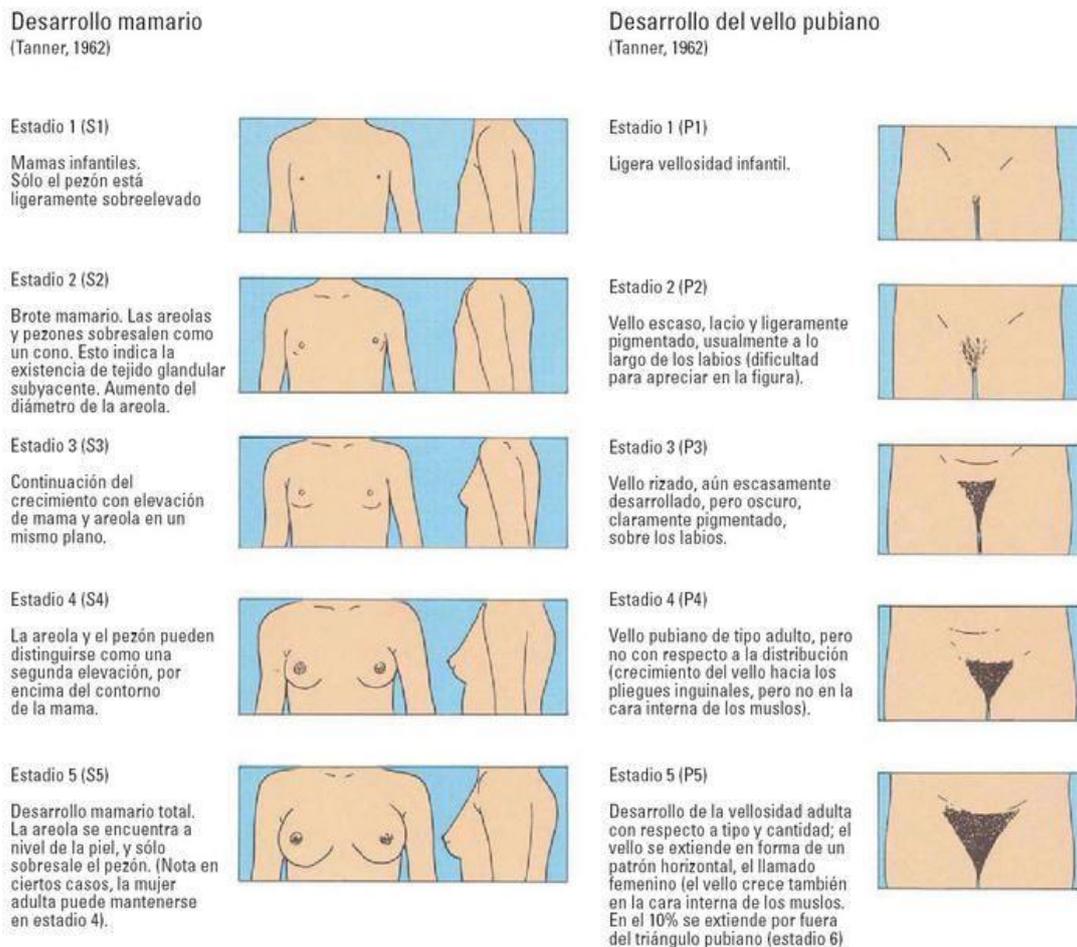


Figura 5. Estadios de Tanner para sexo femenino.

La pubertad precoz (PP) sería aquella que aparece a una edad no fisiológica, que igualmente varía según el sexo, siendo anterior a los ocho años en las niñas y anterior a los 9 años en los niños. Distinguimos tres tipos de pubertad precoz:

- PP central: Aquella que es producida por una activación prematura del factor liberador de gonadotrofinas (GnRH)
- PP periférica: Mediada por la secreción autónoma de esteroides sexuales
- PP combinada: cuando la maduración del eje hipotalámico-hipofisario se produce tras el estímulo de cualquier causa periférica

La PP es una entidad predominantemente femenina, y de ella el 98% de los casos corresponde a PP central. Una activación prematura del Gn-RH puede ser inducida por tumores u otros factores del sistema nervioso central, o bien por factores no identificables o PP central idiopática (PPCI) (73).

En un estudio multicéntrico realizado en nuestro país se expone que la incidencia de PP central en niñas se encuentra entre 1/5.000 a 1/10.000 y en niños es de 1/20.000. Durante la última década se ha prestado mayor atención a los disruptores endocrinos ambientales. Son sustancias químicas, tanto naturales como sintéticas, capaces de alterar la homeostasis hormonal por múltiples mecanismos, por ejemplo, aumentando la actividad del receptor de estrógenos, bloqueando dicha actividad, actuando directamente sobre sistemas neuroendocrinos cerebrales, mediante modificaciones epigenéticas, etc. Son capaces de alterar la función reproductora y trascender a la siguiente generación. La dificultad para valorar el efecto nocivo de estas sustancias es que son activas ya en periodo fetal y tienen un largo tiempo de latencia (74).

Una situación límite que se puede definir como “pubertad adelantada” se correspondería con el inicio del desarrollo puberal alrededor de los ocho años en niñas y los nueve en niños. Este cuadro, aunque estrictamente no pueda considerarse patológico, puede tener repercusiones negativas en la talla final o en las consideraciones sociales, y su manejo terapéutico es semejante a la pubertad precoz (PP) verdadera.

El desarrollo puberal precoz acelera el ritmo de crecimiento, pero más aún la maduración ósea; de forma que, aunque estos niños parezcan inicialmente altos, el cierre de los cartílagos de crecimiento y la finalización del crecimiento a una edad temprana conlleva un riesgo de modificación de las proporciones corporales (acortamiento de extremidades) y, especialmente, de pérdida de talla final. Esta pérdida puede ser muy variable, pero suele ser tanto mayor cuanto más precoz es el inicio

puberal, mayor la edad ósea (EO), mayor el tiempo de evolución y mayor la rapidez de progresión de la EO y del desarrollo puberal.

Hay que hacer constar que la edad de inicio de la pubertad se ha ido adelantando de manera significativa en los últimos años, en parte debido a contaminantes ambientales de acción estrogénica, con una tendencia secular autolimitada, según se ha comprobado en algunos países del este de Europa (74).

2.1. Fisiología de la pubertad

2.1.1. Eje hipotalámico-hipofisario-gonadal

La pubertad comienza con una serie de cambios madurativos, que se manifiestan de una manera ordenada y progresiva. En ellos se encuentran involucrados el hipotálamo produciendo el factor liberador de gonadotrofinas (GnRH), las hormonas hipotalámicas liberadoras de GH (GHRH) y de somatostatina. De igual modo, el lóbulo anterior de la hipófisis libera FSH y LH, y GH, estimulando en las gónadas la producción de gametos maduros (espermatozoides y ovocitos), y esteroides sexuales (andrógenos, progestágenos, estrógenos e inhibinas). Finalmente, los factores de crecimiento semejantes a la insulina (IGFs) van a contribuir al estirón de la pubertad junto con la secreción de esteroides sexuales (75).

Los niveles circulantes de FSH y LH se incrementan tras el nacimiento debido a una disminución de los niveles de esteroides sexuales dado que estos son aportados por la madre. A la edad de uno a dos años, los niveles de FSH y LH disminuyen, y quedan prácticamente suprimidos (“prepuberales”) hasta el comienzo de la pubertad, que vuelven a elevarse.

En los estadios iniciales de la pubertad, durante el sueño se produce el incremento en la producción de LH; a continuación, este patrón se extiende a la FSH y, en los estadios más avanzados de la pubertad, este incremento se produce tanto de noche como de día de ambas gonadotrofinas.

El desarrollo puberal quedaría regulado por un mecanismo complejo de genes interrelacionados que actúan a distintos niveles (76) (figura 6):

- El incremento de estímulos excitatorios de las neuronas secretoras de GnRH (vía glutamato, kisspeptina, neuroquinina, disminución de los estímulos inhibitorios, disminución del estímulo de neuronas gabaérgicas y de neuronas productoras de sustancias opioides)

IMPLICACIONES DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCIO Y NIVELES DE VITAMINA D EN NIÑAS CON PUBERTAD PRECOZ

- Las células de la glía contribuyen a la activación de la secreción de GnRH a través de la liberación de factores de crecimiento que actúan sobre receptores de las neuronas GnRH (factor de crecimiento transformador tipo β [TGF β], factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 IGF-1)
- Los efectos inhibitorios más importantes se efectúan por el ácido gamma aminobutírico (GABA) y las neuronas opiáceas (77).

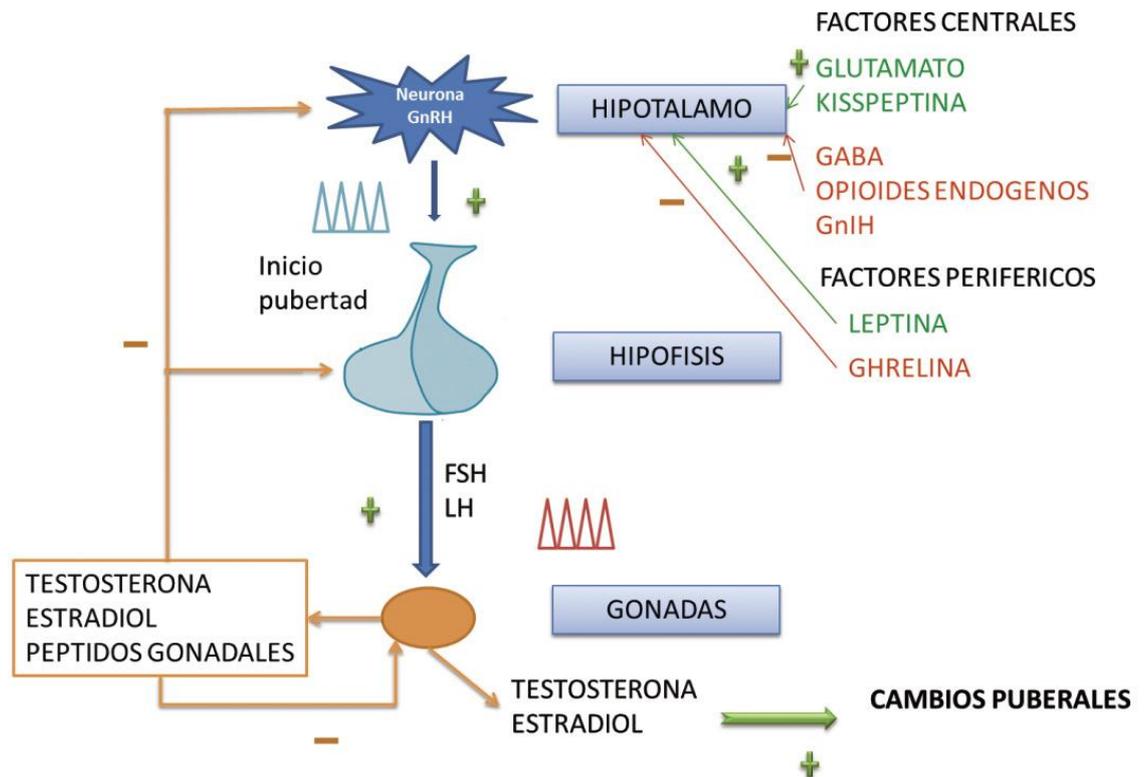


Figura 6. Desarrollo puberal. Eje hipotálamo-hipofisario-gonadal

Este aumento en la liberación de FSH y LH conlleva la estimulación de las gónadas, que provoca la maduración de las células germinales y la formación de esteroides sexuales. En las células de Sertoli, la FSH aumenta los receptores para la LH y la testosterona producida por estas células incrementa la acción de la FSH sobre la espermatogénesis. En el varón, la FSH al inicio de la pubertad incrementa el volumen testicular y eleva la testosterona plasmática, que va a ser responsable del estirón puberal, del aumento de masa muscular, del desarrollo de los genitales externos e internos, de la aparición de vello sexual y pelo facial. Actuando de forma sinérgica con la FSH, regula el crecimiento y la maduración de los túbulos seminíferos.

En cambio, la FSH en la mujer mantiene la función de las células de la granulosa y la maduración del folículo ovárico, al tiempo que estimula la secreción de estradiol. Este es responsable del desarrollo de las mamas, de los cambios sobre los genitales externos e internos, de la distribución de la grasa corporal, del cierre del cartílago de crecimiento y, en combinación con la FSH y LH, intervienen en la maduración de los folículos primordiales.

2.1.2. Hormona de crecimiento e IGF-I

Los niveles plasmáticos de GH aumentan durante la pubertad en ambos sexos. Este incremento se debe, en parte, a la acción estimuladora de los esteroides gonadales, que aumentan durante el proceso puberal. En las niñas se produce durante la fase temprana de la pubertad y ligeramente más tarde en los varones, como corresponde al tiempo diferente del estirón puberal en ambos sexos. Los individuos con deficiencia de GH experimentan un retraso en la pubertad, lo que sugiere que una secreción normal de esta hormona es importante para el inicio de la pubertad a una edad normal (78).

Durante la pubertad, los niveles plasmáticos de IGF-I aumentan, lo cual, se correlaciona estrechamente con los niveles plasmáticos de esteroides sexuales, pudiendo ser debido, bien al efecto directo de los esteroides sexuales sobre la producción de IGF-I, o bien a un efecto indirecto mediado por el incremento en la secreción de GH. Las concentraciones séricas de IGF-I se correlacionan con la velocidad de crecimiento (VC) durante las fases iniciales del estirón puberal, pero en la pubertad tardía, cuando la VC disminuye, los niveles de IGF-I permanecen elevados y no se correlacionan con la VC (78).

2.1.3. Leptina

En el comienzo de la pubertad y en la función reproductora, el estado nutricional y las fuentes de energía disponibles pueden tener un intenso impacto. La información sobre la energía disponible es dirigida al hipotálamo por la leptina, que desempeña una función permisiva en la regulación del comienzo de la pubertad.

La leptina es un péptido liberado de los adipocitos que actúa en el hipotálamo induciendo saciedad, y también a nivel central induciendo la actividad simpática y el gasto energético. Las concentraciones de leptina se correlacionan con el índice de masa corporal (IMC) y, consiguientemente, transmiten información sobre la energía

almacenada disponible al cerebro y a otros órganos. Las concentraciones de leptina se incrementan en las mujeres durante la pubertad, pero disminuyen en los varones después de iniciarse la pubertad en el estadio 2 de maduración gonadal. Estas diferencias podrían reflejar cambios en la composición corporal que ocurren durante la pubertad (79).

2.1.4. Andrógenos

La adrenarquia consiste en la maduración de las glándulas suprarrenales que secretan andrógenos, hecho que ocurre varios años antes del comienzo de la maduración gonadal. Los andrógenos liberados por las glándulas suprarrenales estimulan el desarrollo de algunos caracteres sexuales secundarios y, una vez convertidos en estrógenos en la periferia, estimulan el crecimiento de la glándula mamaria. En ambos sexos, los andrógenos estimulan el crecimiento del vello corporal y pubiano, aceleración de la edad ósea y modificación de la conducta.

2.2 Factores implicados en la pubertad precoz

- Familiares y étnicos:

La influencia genética en la edad de inicio puberal ha sido plenamente demostrada mediante estudios familiares y de concordancia entre gemelos monocigóticos; no obstante, sus bases genéticas no han sido claramente establecidas. Se han identificado polimorfismos en determinados genes que parecen estar relacionados con el momento de la menarquia [receptor de andrógenos, receptor alfa de estrógenos, CYP17 o proteína transportadora de esteroides sexuales (SHBG), entre otros]. Más recientemente, mediante estudios de asociación del genoma completo (GWAS), se han identificado más de 100 loci relacionados con el momento de la menarquia (80); entre los más importantes, uno en 6q21 (región próxima a LIN28B) y otro en 9q31.2 (región intergénica). También, recientemente, se ha demostrado que mecanismos epigenéticos modulan la interrelación entre genética y ambiente para poner en marcha la pubertad (81). Las diferencias en la edad de inicio puberal entre razas y etnias, al igual que ocurre entre diferentes áreas geográficas, es, probablemente, un reflejo de la combinación de factores genéticos, socioeconómicos y ambientales, cuya influencia individual es difícil de establecer; no obstante, determinadas razas, como la negra, en condiciones de vida similares, parecen mostrar una tendencia a una maduración más temprana.

- Factores nutricionales y socioeconómicos:

Una adecuada nutrición y un ambiente socioeconómico favorable se asocian a un desarrollo puberal más temprano; por el contrario, condiciones nutricionales o socioeconómicas desfavorables condicionan un desarrollo puberal más tardío. En este sentido, la nutrición parece ser uno de los principales factores determinantes del momento de inicio puberal, una interrelación probablemente mediada por la leptina liberada por los adipocitos; aunque, otras sustancias, como glucosa, insulina o ghrelina podrían también actuar como fuentes de información para el hipotálamo del estado nutricional. En los países en vías de desarrollo, la malnutrición calórico-proteica (marasmo) temprana, pero no la proteica (*kwashiorkor*) condicionan un retraso puberal. Fuera de estas situaciones extremas, la malnutrición crónica, en general, induce un retraso puberal en ambos sexos y es, probablemente, uno de los factores responsables del retraso puberal asociado a las patologías crónicas o a la amenorrea atlética. En el otro extremo, el exceso de grasa subcutánea y el aumento del índice de masa corporal (IMC) durante el periodo prepuberal se asocian con un incremento en el riesgo de presentar una pubertad temprana, especialmente en niñas, y podrían ser uno de los factores implicados en la aceleración puberal observada en algunos países occidentales con tasas crecientes de obesidad infantil en las últimas décadas.

- Ciclo luz-oscuridad y condiciones climáticas:

Aunque algunos estudios sugieren un gradiente norte-sur en la edad de la menarquía (más tardía en las latitudes norte) y la posibilidad de un efecto inhibitorio de la luz mediado por la melatonina sobre el desarrollo puberal, los efectos de la luz, el clima y la latitud en humanos son inciertos.

- Estrés crónico:

El estrés crónico parece ser capaz de inhibir el eje HHG y sería uno de los factores implicados en el retraso puberal asociado a: enfermedades crónicas, ejercicio físico intenso-competición o conflictos bélicos, entre otras potenciales situaciones de estrés. No obstante, en muchas de ellas, es difícil separar el componente de estrés de otros componentes, habitualmente presentes en estas situaciones, como sería el caso de la malnutrición.

- Condiciones de vida intrauterina:

Algunos estudios indican, que los recién nacidos, especialmente las niñas, con bajo peso al nacimiento (Peso RN < 2.500 g) o pequeños para su edad gestacional

(RNPEG), muestran una mayor incidencia de pubertad adelantada o precoz, sobre todo, si experimentan un rápido crecimiento de recuperación.

- Disruptores endocrinos:

En las últimas décadas, la industrialización ha producido un incremento gradual, pero significativo, en el número y cantidad de contaminantes ambientales. Algunos de ellos son sustancias, naturales o de síntesis, que debido a su similitud estructural con determinadas hormonas, pueden tener efectos negativos sobre el sistema endocrino (disruptores endocrinos) (81,82). En algunos de ellos: fitoestrógenos, estrógenos naturales (tópicos o sistémicos), pesticidas, fungicidas, sustancias químicas industriales o ftalatos, entre otros, se ha demostrado que son agentes capaces de producir en humanos: pubertad adelantada/precoz, pubertad retrasada o, incluso, trastornos de la diferenciación sexual, dependiendo de su mecanismo de acción (estrogénico, androgénico, anti-androgénico o anti-estrogénico) y momento de actuación.

- Adopción:

Los últimos 30 años han puesto de manifiesto la importancia, como causa de adelanto puberal, de la adopción internacional. Entre un 15-30% de los casos de pubertad precoz central (PPC) idiopática corresponden a niños adoptados de otros países, habitualmente en vías de desarrollo (83). En todos los estudios, existe un claro predominio de niñas, lo que podría estar en relación con la clásica e inexplicada preponderancia femenina en lo que a la PPC idiopática se refiere. En el año 2010, se publicaron los primeros resultados del Registro Español de Pubertad Precoz (84), donde se observó un riesgo 25 veces mayor de desarrollar PPC idiopática entre niñas adoptadas de otros países respecto a la población nacida en España. Las causas que motivan el adelanto puberal en estas niñas son desconocidas, aunque se han sugerido distintos factores, entre ellos: traslado a un ambiente socioeconómico más favorable, mejoría nutricional, reducción de la situación de estrés crónico o reducción de la exposición a disruptores endocrinos que pudieran estar inhibiendo y madurando el eje HHG. Se ha postulado, también, que el adelanto puberal podría ser el resultado de la combinación de unas condiciones vitales adversas en la infancia temprana, asociadas a condiciones de opulencia en el periodo prepuberal tardío, dos condiciones opuestas que favorecerían el desarrollo puberal temprano (85).

2.3 Diagnóstico de laboratorio y por imagen

Ante signos de desarrollo puberal precoz, la determinación de la edad ósea nos servirá de guía dentro del proceso diagnóstico. En verdaderas pubertades precoces, la edad ósea normalmente está acelerada con respecto a la cronológica. Cabe destacar dos excepciones: cuando la PP mediada por gonadotrofinas se asocia a un déficit de GH, pudiendo la edad ósea en ese caso ser muy variable, y cuando se asocia a un hipotiroidismo, lo cual cursa con edad ósea retrasada.

El siguiente paso es valorar el desarrollo gonadal para encuadrar el cuadro como PP central (eje hipotálamo-hipofisario-gonadal activo como origen de los esteroides sexuales) o como periférica o pseudo-PP (producción de esteroides sexuales sin una activación de dicho eje como desencadenante).

En el caso del sexo femenino, la exploración gonadal no es directa, sino que se realiza a través de la ecografía, capaz de determinar la longitud del cuerpo uterino (> 3 cm en fase puberal) y la relación cuerpo/cuello uterinos, que aumenta con la pubertad (aproximadamente de 1:1 a 2:1). Los cambios en el volumen ovárico durante la pubertad han sido objeto de diversos estudios, encontrándose correlación entre volúmenes mayores de 4-4,5 cm³ y pubertad clínicamente objetivable. La existencia de microquistes (diámetro < 9 mm) ováricos no es específica del cambio puberal, estando presente en el 53% de las niñas prepúberes normales y en el 63% de las pubertades precoces. Caso aparte es el de los quistes de mayor tamaño, con asimetrías asociadas en el volumen ovárico, que son muy sugestivos de PP periférica (quistes autónomos, síndrome de McCune-Albright, etc.). En ocasiones, la telarquia en niñas obesas puede confundirse con una mera adipomastia, pudiendo en estos casos la ecografía mamaria sacarnos de dudas al distinguir grasa de tejido glandular.

En ambos sexos, la medición de las gonadotrofinas tras un estímulo con GnRH puede confirmar la activación del eje hipotalámico-hipofisario-gonadal (elevación de la ratio LH/FSH por encima de 0,6 en la niña y de 3,6 en el niño). Es importante reseñar que el hecho de que dicho estímulo no produzca los citados cambios en las gonadotrofinas propios de pubertad, no excluye esta, ni excluye un eje activo, ya que en los primeros meses de desarrollo puberal dicha activación es progresiva y oscilante, dependiendo por tanto el resultado del momento en que se practique. Igual sucede con los niveles basales de gonadotrofinas o de esteroides sexuales (sobre todo de los estrógenos); si se encuentran elevados aportan una información valiosa, pero no así si se encuentran, en un momento dado, en rango prepuberal normal. En nuestro centro, niveles de estradiol por encima de 10 mUI/mL, son sugestivos de inicio de pubertad y

niveles superiores a 20 confirman pubertad. Además, cifras de LH por encima de 7 mUI/mL, tanto en determinaciones aisladas como tras estímulo con test de LHRH son sugestivas igualmente de inicio de pubertad (86).

2.4 Pubertad precoz y vitamina D

Como se ha mencionado anteriormente, durante los últimos años se han abierto varias líneas de investigación para el estudio del papel que tiene la vitamina D en el desarrollo de pubertad precoz. Desde mediados del siglo XIX se ha podido observar un claro adelanto en la edad media con la que las niñas inician el desarrollo puberal, por lo que, a la indudable influencia de un factor genético, hay que sumar factores ambientales que juegan también un papel muy importante. Paralelo a ello, se ha objetivado en los últimos 50 años una disminución en los niveles plasmáticos de vitamina D. Dado que el VDR está presente en la gran mayoría de células, muchas de las cuales desenvuelven un papel relevante en el desarrollo puberal, parece lógico investigar si estos dos fenómenos están relacionados.

Los primeros estudios en animales mostraron que la deficiencia de vitamina D conducía a una reducción general en la capacidad reproductora de ratas hembras, regulando directamente expresión génica la aromatasa (87,88). Así mismo, el déficit de vitamina D en la lactancia materna, programa la disfunción reproductiva en las crías hembras adultas a través de efectos adversos sobre el hipotálamo (89). Otro estudio reciente en roedores demostró que la suficiencia de vitamina D peripubertal es importante para una transición puberal adecuada y el mantenimiento oportuno de la fisiología reproductiva femenina normal (90).

En humanos, el polimorfismo del gen VDR en el sitio Apal está significativamente asociado con tener un inicio temprano de menarquia (91). Un estudio prospectivo analizó una muestra de 242 niñas (edad media 8.8 ± 1.6 años) durante una media de 30 meses y concluyó que el déficit de vitamina D se asocia con menarquia temprana (92). Además, el nivel de 25 [OH] D fue significativamente menor en niñas con pubertad precoz que en el grupo control. En este estudio se observa que las niñas con pubertad precoz tienen un alto riesgo de deficiencia de vitamina D, lo que sugiere una asociación entre los niveles séricos de 25 [OH] D y la pubertad precoz.

También se ha relacionado el déficit de vitamina D con la latitud geográfica, observándose una menarquia a una edad más temprana en niñas que viven a mayor latitud geográfica que las niñas que viven hacia el ecuador (93).

Por otro lado, se establece que la deficiencia de vitamina D está asociada con la obesidad, por lo que los niveles plasmáticos de la vitamina D podría afectar indirectamente la edad en la menarquia por su efecto sobre la obesidad.

Otros estudios avalan este efecto indirecto de niveles bajos de vitamina D, obteniéndose pesos más elevados en niñas con PPC que los sujetos de control normales, aunque el SDS de IMC no fue significativamente diferente entre los dos grupos (94).

Otro posible mecanismo del efecto de la vitamina D en la pubertad es a través de su acción sobre los niveles de IGF-1, ya que se observó que la vitamina D tenía correlación inversa con dicho factor de crecimiento similar a la insulina-1, fundamental para establecer el inicio de la pubertad y la progresión puberal (95).

Si bien es cierto que aún se desconoce el mecanismo exacto a través del cual el déficit de vitamina D está implicada en el desarrollo de pubertad precoz, ya sea de manera directa o indirectamente, los hallazgos obtenidos en los últimos estudios indican una relación entre ambas entidades. Por lo tanto, al tratarse de una patología con amplia repercusión tanto a nivel socioeconómico como en términos de salud, es nuestro deber continuar las líneas de investigación para ampliar nuestro conocimiento en lo relacionado a su fisiopatología y poder realizar, de esta manera, un manejo más adecuado de esta patología.

IV. OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

Determinar si existe relación entre niveles bajos de vitamina D sérica y la aparición de pubertad precoz en niñas pertenecientes al Sector Sanitario II de Zaragoza.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudiar la posible relación entre la vitamina D y otros parámetros bioquímicos que intervienen en el adelanto de la pubertad así como parámetros antropométricos.
- Establecer la prevalencia de déficit de vitamina D en pacientes con pubertad precoz.
- Comprobar si existe relación entre parámetros antropométricos y los niveles plasmáticos de vitamina D.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

1. TIPO DE ESTUDIO

Estudio observacional descriptivo transversal realizado desde agosto de 2018 hasta mayo de 2019.

2. ÁMBITO DEL ESTUDIO

Unidad de pediatría del Hospital Infantil Universitario “Miguel Servet” (HIUMS) de Zaragoza.

3. DISEÑO DEL ESTUDIO

3.1 Definición de la población de estudio

Niñas atendidas en consultas externas de Endocrinología Pediátrica del HIUMS de Zaragoza, a las que se les haya solicitado una analítica para estudio de pubertad precoz que se incluya, además, despistaje de déficit de vitamina D.

3.1.1 Criterios de inclusión

- Edad: Niñas mayores de 4 años y menores de 14 años.
- Pacientes atendidas en consultas externas de Endocrinología Pediátrica del HIUMS de Zaragoza, a las que se les haya solicitado una analítica para estudio de pubertad precoz en la que se incluya estudio de despistaje de déficit de vitamina D.
- Analíticas realizadas entre los meses de agosto de 2018 y mayo de 2019.
- No estar recibiendo ningún tratamiento médico que pudiera interferir con los parámetros analizados.
- Haber firmado el consentimiento informado tras lectura de la hoja de información.

3.1.2 Criterios de exclusión

- Edad: menores de 4 años o mayores de 14 años.
- Pacientes en tratamiento con vitamina D.
- Pacientes que hayan permanecido largo tiempo encamadas, hospitalizadas o en reposo.
- Pacientes afectas de enfermedades crónicas que afecten a su desarrollo puberal.
- Niños varones.

3.2 Determinación del tamaño muestral

La muestra se obtuvo seleccionando a todas aquellas pacientes que en contexto de estudio por sospecha de pubertad precoz se les realizó despistaje de déficit de vitamina D, habiéndose reclutado un total de 32 pacientes. Dadas las limitaciones temporales y económicas, la intención es prolongar el estudio un año más hasta obtener un tamaño muestral adecuado.

3.3. Fases del estudio

3.3.1 Reclutamiento

Se facilitó la información del estudio a los pacientes que presentaban los criterios de inclusión descritos. Tras leer la hoja de información al paciente (Anexo 1) y firmar el

consentimiento informado (Anexo 2) se procedió a realizar la recogida y análisis de los datos.

3.3.2 Recogida y análisis de muestras

Se realizó la analítica sanguínea en la que se incluyeron una serie de parámetros bioquímicos que se procesaron y se analizaron en el Servicio de Bioquímica Clínica del HIUMS de Zaragoza (tabla 3).

Datos epidemiológicos	Fecha de nacimiento Sexo
Datos antropométricos	Peso Talla IMC
Datos analíticos	Calcio, Fósforo y Magnesio IGF1 e IGFBP3 Calcitonina Fosfatasa alcalina ósea Osteocalcina. Vitamina D PTH Fosfatasa alcalina Fosfatasa alcalina específica NMDI osteocalcina PINP Estradiol 17-OH-Progesterona S-DHEA LH FSH
Parámetros clínicos	Estadío puberal Tratamiento con análogos LHRH

Tabla 3. Parámetros epidemiológicos, antropométricos, analíticos y clínicos analizados

3.3.3 Entrevista clínica

Se realizó una entrevista a cada paciente con el fin de recoger datos antropométricos (peso, talla, IMC), así como datos sobre distintos aspectos de salud.

3.3.4 Análisis estadístico

Se procedió al análisis estadístico de los datos obtenidos del estudio observacional descriptivo y analítico.

3.4. Técnica de laboratorio

Para la determinación de la 25(OH)D se utilizó el analizador IDS-iSYS. El ensayo que se emplea utiliza una tecnología de quimioluminiscencia. Las muestras de los pacientes son sometidas a una fase de pretratamiento para desnaturalizar la proteína de unión a la vitamina D (VDBP). Posteriormente, las muestras tratadas son neutralizadas en tampón de ensayo y se añade un anticuerpo anti-25(OH)D específico marcado con acridinio y biotina. Tras una fase de incubación, se añaden partículas magnéticas unidas a 25(OH)D. Después de una nueva fase de incubación, se captura el complejo magnético utilizando un imán y se lleva a cabo una fase de lavado para eliminar los posibles analitos no ligados. Se añaden reactivos desencadenantes y la luz emitida por el marcador acridinio es inversamente proporcional a la concentración de 25(OH)D en la muestra original. Dicha técnica se encuentra estandarizada como garantía de calidad de los resultados. El intervalo de linealidad del ensayo es de 5 a 140 ng/mL (12,5 a 350 nmol/L). Cualquier concentración por debajo de 5 ng/mL (12,5 nmol/L) se informó como “<5 ng/mL” ó “<12,5 nmol/L”. Las muestras con concentraciones superiores a 140 ng/mL o 350 nmol/L se diluyeron manualmente.

4. ASPECTOS ÉTICOS

El proyecto ha sido presentado al Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (CEICA) para garantizar que se cumplen los principios éticos de investigación en seres humanos. La participación en el estudio ha sido voluntaria y la solicitud de participación se realizó como propuesta de investigación de salud, independientemente del proceso asistencial que se fuera a llevar a cabo.

4.1. Hoja de información para el paciente y formulario de consentimiento informado

Se pidió autorización a todos los representantes legales de los participantes del estudio para la utilización de los datos recogidos en su historia clínica. Se proporcionó a cada paciente, además de la información verbal, una hoja de información (Anexo 1)

en la cual se indicaba que se tendría acceso a sus datos personales contenidos en la historia clínica y donde se solicitaba su consentimiento para acceder y tratar sus datos de forma confidencial.

4.2. Confidencialidad de los datos

Los datos han sido recogidos y registrados garantizando la confidencialidad de todos los datos de los pacientes incluidos en el estudio, cumpliéndose en todo momento lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal. Los pacientes han sido identificados mediante un número asignado en la base de datos. Se garantiza la total confidencialidad de los datos, en particular la identidad de los participantes, que no ha sido comunicada a terceros. El uso de los mismos ha sido única y exclusivamente para los fines establecidos en el estudio. Se han tomado las medidas oportunas para proteger y prevenir el acceso a estos datos por parte de terceras partes no autorizadas.

4.3. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos

Los investigadores se comprometieron a realizar el estudio de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki, de principios éticos para investigación médica en seres humanos, incluida la investigación del material humano y de información identificables. Así mismo, el estudio asegura el cumplimiento de las Normas de Buena Práctica Clínica, tal y como se describe en las Normas Tripartitas Armonizadas de la ICH para Buena Práctica Clínica 1997.

5. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Se ha realizado una revisión bibliográfica en las bases de datos de Embase, Pubmed, Up to Date, MEDES y Cochrane. Se realizó una revisión basada en la búsqueda de artículos y libros relevantes de la vitamina D y la pubertad precoz, haciendo especial hincapié en aquellos publicados en los últimos 10 años. Así mismo, se indagó con especial interés aquellos estudios realizados en los últimos años cuya finalidad era investigar la relación de la vitamina D y la pubertad precoz. Se han seleccionado los artículos más interesantes, y de sus referencias, las más relevantes.

6. ANÁLISIS Y BASE DE DATOS

Para la realización de la base de datos, los gráficos y el estudio descriptivo y analítico se utilizó el programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versión 22.0. Se aplicó el test de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk para comprobar si la distribución de las diferentes variables incluidas en el estudio eran normales y para aquellas que no seguían una distribución normal se aplicó una transformación logarítmica, previa al análisis univariante. Las variables cuantitativas que siguen una distribución normal se describen mediante la media y la desviación típica, utilizando el test estadístico t de Student para comparación entre 2 grupos, mientras que aquellas que no siguen una distribución normal se describen mediante la mediana y el rango intercuartílico, empleando en este caso la U de Mann-Whitney, o el test de Kruskal Wallis para la comparación de 3 o más grupos. Así mismo, para medir el grado de relación entre variables cuantitativas y continuas se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson y de Spearman. Para las variables cualitativas se expresan las frecuencias absolutas y los porcentajes, utilizando la prueba de Chi cuadrado (χ^2) y el test exacto de Fisher cuando no se cumplen los supuestos para poder aplicar aquella. Para estudiar la posible asociación entre dos variables categóricas se realizó el test de la χ^2 y el test exacto de Fisher, mientras que para relacionar dos variables numéricas se utilizó la regresión lineal. El nivel de significación estadístico empleado fue de $p < 0.05$ en todos los análisis.

7. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Una de las limitaciones importantes del estudio es el tamaño muestral, no habiendo conseguido la población inicial deseada. Esto es debido a que no en todas las pacientes derivadas para estudio de pubertad precoz se realiza despistaje de déficit de vitamina D. Por otro lado, el diagnóstico de esta entidad requiere un seguimiento, por lo que el reclutamiento de pacientes es lento y hace que se demore en el tiempo.

Los varones no fueron utilizados en nuestro estudio porque la pubertad precoz en niños es principalmente de origen periférico y los datos sobre los niños con PPCI son difíciles de recoger a gran escala.

VI. RESULTADOS

1. SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Durante el periodo comprendido entre agosto de 2018 y mayo de 2019 se incluyeron en el estudio un total de 32 pacientes. De todas ellas, 2 pacientes fueron excluidas debido a que no se confirmó finalmente el diagnóstico de pubertad precoz y 2 de ellas presentaban patologías que podían alterar los resultados del estudio (Hepatitis B, una de las cuales en tratamiento con vitamina D). De los 28 pacientes elegibles, 4 rechazaron firmar el consentimiento informado, en 3 pacientes hubo incidencias con la muestra y una paciente no se realizó la analítica. Finalmente, se incluyeron para el estudio un total de 20 pacientes (figura 7).

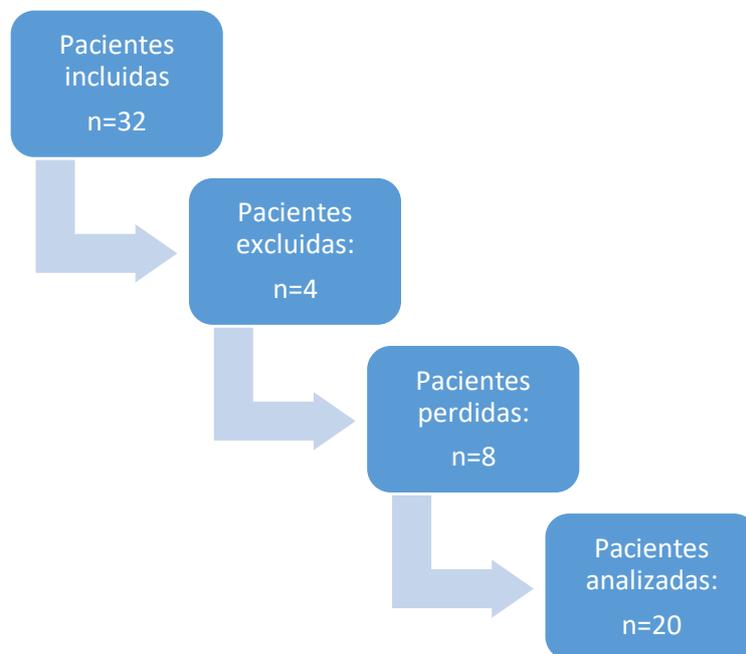


Figura 7. Diagrama de flujo que describe el proceso de selección de la muestra

2. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DEL TOTAL DE LA MUESTRA:

2.1 Género y edad:

Las 20 pacientes objetos de estudio eran mujeres. La muestra estaba formada por pacientes de edades comprendidas entre los 8,5 años y los 12,1 años, con una media de edad de 9.80 años \pm 1,12 años.

2.2 Edad de inicio de la pubertad:

La edad mínima con la que las pacientes comenzaron con signos de inicio de pubertad fue a los 5 años, con una media de 7,55 años \pm 1,07 años.

2.3 Edad ósea al inicio de la pubertad:

La edad ósea media al inicio de la pubertad, calculada por el pediatra de atención primaria o en el momento de la consulta fue de 9,68 años \pm 1,77 años lo que suponía una edad avanzada media con respecto a la edad cronológica de 2,12 años \pm 1,01 años.

2.4 Telarquia y pubarquia

En el momento de la primera visita en nuestras consultas, las pacientes presentaban un desarrollo mamario medio de 2 según los estadios de Tanner, así como un desarrollo púbico medio de 1-2 (Figura 8).

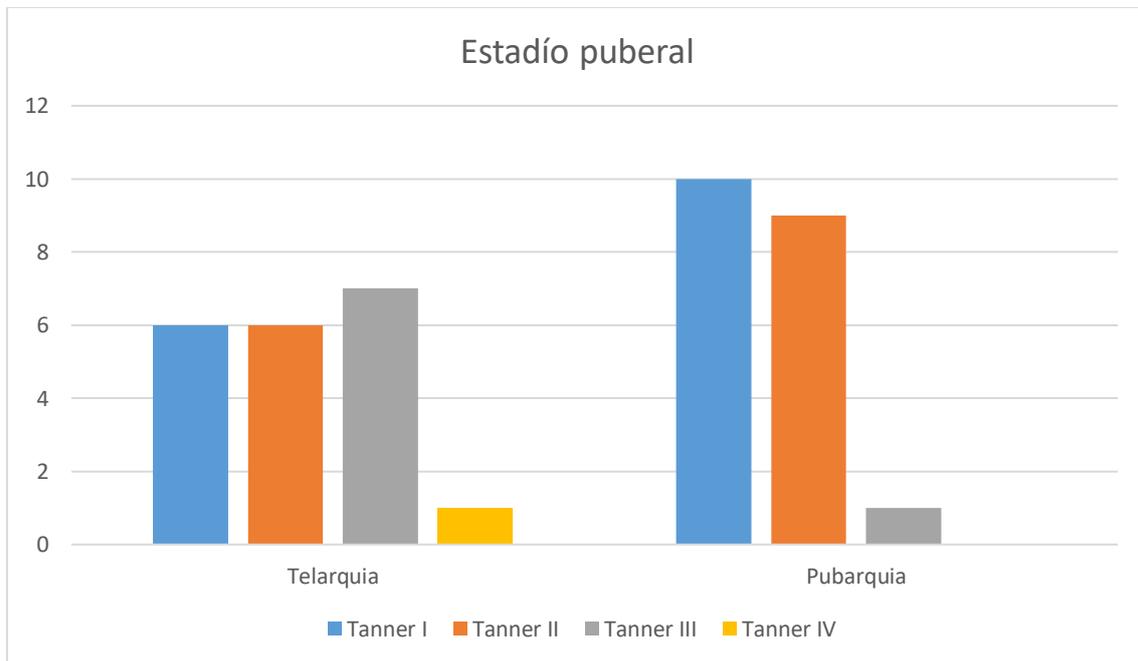


Figura 8. Estadío puberal de la muestra analizada

2.5 Parámetros antropométricos:

Los parámetros antropométricos se exponen en la tabla (4):

IMPLICACIONES DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCIO Y NIVELES DE VITAMINA D EN NIÑAS CON PUBERTAD PRECOZ

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.	Varianza
Peso (kg)	20	19,10	50,90	32,5095	8,85031	78,328
Z score peso	20	-1,03	3,39	,6071	1,09996	1,210
Talla (cm)	20	112,60	150,30	134,2381	10,70147	114,521
Z score talla	20	-1,01	3,15	1,0957	1,13366	1,285
IMC (kg/m ²)	20	13,67	23,85	17,6800	2,51815	6,341
Z score IMC	20	-1,05	2,32	,1624	,83188	,692
N válido (según lista)	20					

Tabla 4. Parámetros antropométricos analizados de la muestra

Los z-scores de peso estaban comprendidos entre -1,03 y +3,39.

En cuanto a la talla, los z-scores se encontraban entre -1,01 y +3,15.

Con relación al peso y la talla, se calculó el IMC según la fórmula peso(kg)/talla(m²), cuya media de z-score fue de $0,16 \pm 0,83$, con un máximo de 2,32 y un mínimo de -1,05.

2.6 Parámetros analíticos

En la muestra, se estudiaron una serie de parámetros analíticos los cuales se muestran en la tabla 5.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.	Varianza
PTH	20	12,40	110,90	39,2714	23,07462	532,438
FA	20	108,00	445,00	287,2381	93,83651	8805,290
FA específica	20	63,40	304,00	133,3200	50,47974	2548,204
Calcio	20	9,10	10,20	9,7810	,27860	,078
Fósforo	20	3,80	5,50	4,8095	,42884	,184
Magnesio	20	1,70	2,30	2,0524	,15690	,025
NMID	20	42,40	128,40	87,7300	22,51830	507,074
PINP	20	332,90	1166,00	706,9900	259,74351	67466,694
Calcio	20	,59	5,81	2,4419	1,34782	1,817
Estradiol	20	9,00	228,00	40,2857	55,66340	3098,414
Progesterona	8	,40	,98	,7038	,21738	,047
SDHEA	7	,55	1,83	1,0143	,43154	,186
IGFI	20	174,00	436,00	311,9524	89,09741	7938,348
IGBP	20	4,00	8,20	6,5143	1,09146	1,191
LH	19	,10	8,55	2,3684	2,56032	6,555
FSH	19	1,75	10,66	4,3889	2,51970	6,349
N válido (según lista)	7					

Tabla 5. Parámetros analíticos de la muestra analizada

2.6.1 Concentración de vitamina D:

La siguiente figura muestra la concentración de vitamina D del total de la muestra que se extrajo dicha determinación, presentando una media de 21,05 ng/mL \pm 7,12 ng/mL, con un mínimo de 4,36 y un máximo de 32,52 (Figura 9).

La prevalencia de insuficiencia de vitamina D, entendido como aquellas concentraciones por debajo de 30 ng/mL, fue del 85%. Si consideramos la prevalencia de déficit de vitamina D, como aquellas concentraciones que se encuentran por debajo de 20 ng/dL, el porcentaje de la muestra total fue del 45%.

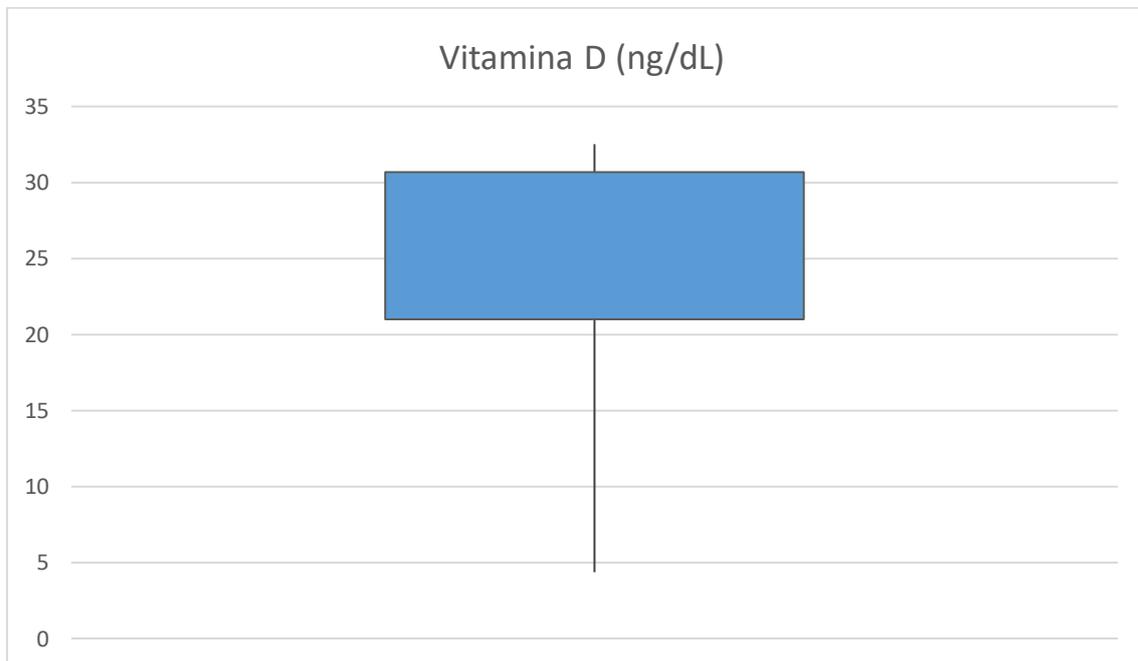


Figura 9. Diagrama que muestra la concentración de vitamina D

2.6.2 Control antropométrico en el momento de la extracción analítica

Los parámetros antropométricos en el momento de la extracción se exponen en la tabla (6):

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.	Varianza
Peso (kg)	15	27,20	60,40	40,5733	10,37837	107,711
Z score peso	15	-,92	2,17	,3173	,87043	,758
Talla (cm)	15	129,90	165,90	146,6200	9,92725	98,550
Z score talla	15	-1,11	2,95	,8293	1,16233	1,351
IMC (kg/m ²)	15	15,78	25,77	18,5740	2,73870	7,500
Z score IMC	15	-,77	1,87	-,0327	,67982	,462
N válido (según lista)	15					

Tabla 6. Parámetros antropométricos en el momento de la extracción analítica

Los z-scores de peso estaban comprendidos entre -0,92 y +2,17.

En cuanto a la talla, los z-scores se encontraban entre -1,11 y +2,95.

En relación al peso y la talla, se calculó el IMC según la fórmula $\text{peso}(\text{kg})/\text{talla}(\text{m}^2)$, cuya media de Z-score fue de $-0,77 \pm 0,67$, con un máximo de 1,87 y un mínimo de -0,03.

2.6.3 Edad ósea en el momento de la extracción

La edad ósea media presente en el momento de la extracción, fue de 10,16 años $\pm 0,89$ años lo que suponía una edad avanzada media con respecto a la edad cronológica de 1,38 años $\pm 0,85$ años (Figura 10).

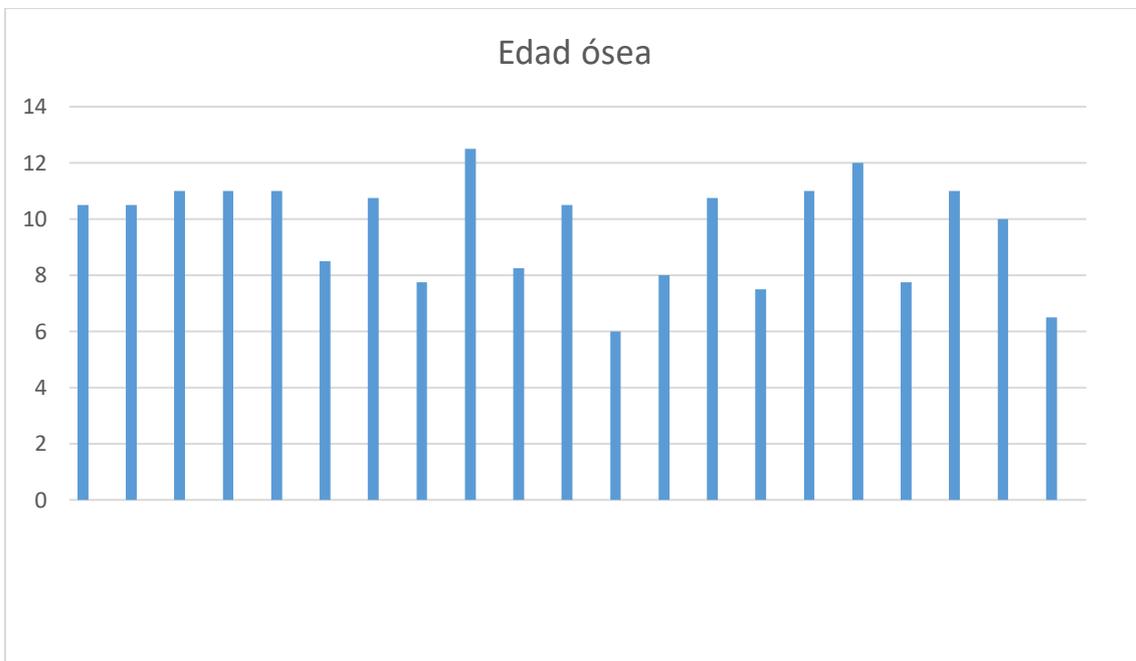


Figura 10. Edad ósea de cada paciente incluida en la muestra

3. CORRELACIONES MÚLTIPLES DE LOS DISTINTOS PARÁMETROS ANALÍTICOS

Se realizó un análisis para comprobar la relación existente entre la concentración de vitamina D y los distintos parámetros analíticos:

3.1 Correlación entre vitamina D e IMC

Se analizó si el presentar un elevado IMC estaba relacionado con niveles deficitarios de vitamina D y se observó que no existía correlación entre ambos parámetros ($p=0,199$) (Figura 11).

Además, se estudió dicha posible correlación dividiendo la muestra en dos grupos, diferenciándose aquellos pacientes con déficit de vitamina D (<20 ng/mL) y aquellos con niveles insuficientes o normales (>20 ng/mL) sin encontrar tampoco diferencias significativas ($p =0,345$).

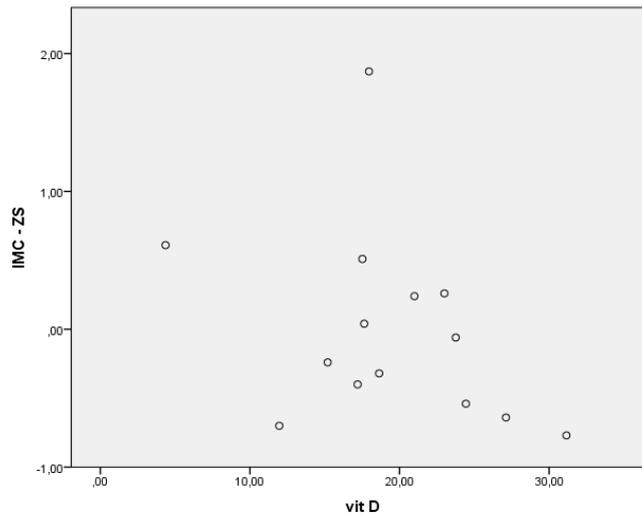


Figura 11. Diagrama de dispersión que muestra la correlación de la vitamina D (vit. D) con el IMC

3.2 Correlación entre vitamina D y edad ósea

Se estudió también la correlación de la diferencia de edad ósea con respecto a la edad cronológica de los sujetos de la muestra con los niveles de vitamina D, no obteniéndose diferencias significativas entre ambos parámetros ($p= 0,43$) (Figura 12).

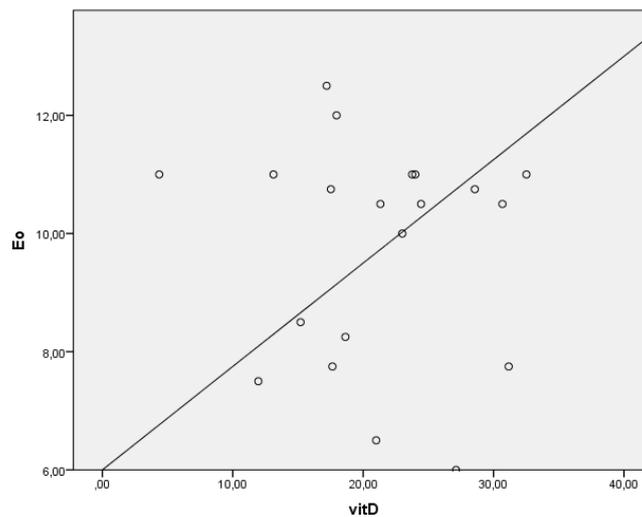


Figura 12. Correlación entre la vitamina D (vit D) y la edad ósea (Eo)

3.3 Correlación entre vitamina D y test de estimulación de LH-RH

Se analizó una posible correlación entre el test de estimulación de LH-RH y los niveles de vitamina D obteniéndose una correlación lineal negativa de -0.563 ($p=0,029$) (Figura 13).

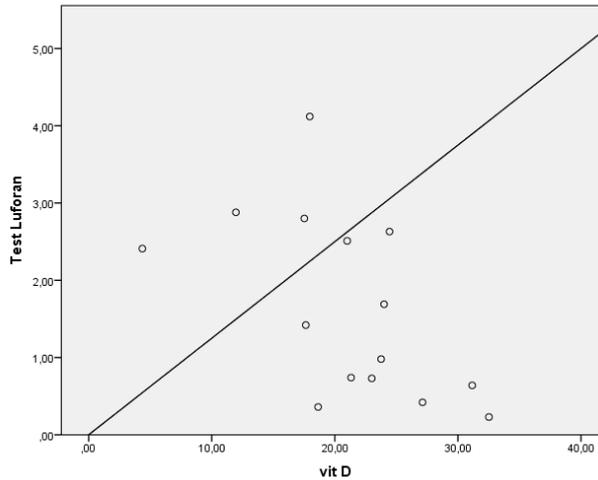


Figura 13. Diagrama de dispersión en el que se observa la correlación entre el test con análogos LH-RH (test de Luforan) y la vitamina D (vit D)

3.4 Correlación entre vitamina D y resto de parámetros

Así mismo se intentó correlacionar los diferentes parámetros analíticos del estudio de pubertad precoz con los niveles de vitamina D, sin encontrar una asociación significativa con los niveles de progesterona, estrógenos, SDHEA, estradiol, IGFI e IGBP, con una $p > 0,05$ en todos los casos (tabla 7).

		Vitamina D	Progest.	SDHEA	IGFI	IGBP
Vitamina D	Correlación de Pearson	1	-,119	,669	-,307	-,156
	Sig. (bilateral)		,779	,100	,189	,512
	N	20	8	7	20	20
Progesterona	Correlación de Pearson	-,119	1	-,332	,015	,408
	Sig. (bilateral)	,779		,467	,971	,315
	N	8	8	7	8	8
SDHEA	Correlación de Pearson	,669	-,332	1	-,878**	-,595
	Sig. (bilateral)	,100	,467		,009	,159
	N	7	7	7	7	7
IGFI	Correlación de Pearson	-,307	,015	-,878**	1	,683**

IMPLICACIONES DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCIO Y NIVELES DE VITAMINA D EN NIÑAS CON PUBERTAD PRECOZ

	Sig. (bilateral)	,189	,971	,009		,001
	N	20	8	7	21	21
	Correlación de Pearson	-,156	,408	-,595	,683**	1
IGBP	Sig. (bilateral)	,512	,315	,159	,001	
	N	20	8	7	20	20

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Tabla 7. Correlación de los diferentes parámetros analíticos y la vitamina D

4. ANÁLISIS BIVARIANTE

Se llevó a cabo un análisis entre los valores plasmáticos de vitamina D en nuestra muestra de pacientes con pubertad precoz comparándolos con los niveles obtenidos en el estudio llevado a cabo por Martínez Redondo y col sobre la deficiencia de vitamina D en niños aragoneses sanos (96).

Se analizó la muestra estableciendo dos grupos en función de si estaban afectados de pubertad precoz o se trataba de niños sanos. Se observó unos niveles medios de vitamina D de nuestra muestra de $52,65 \pm 17,8$ ng/mL con respecto a los niveles medios de la población general de $66 \pm 20,07$ ng/mL. Se realizó la prueba de Levene pudiéndose confirmar con >95% de confianza que existen diferencias significativas entre las dos varianzas ($p=0,03$) (Figura 14).

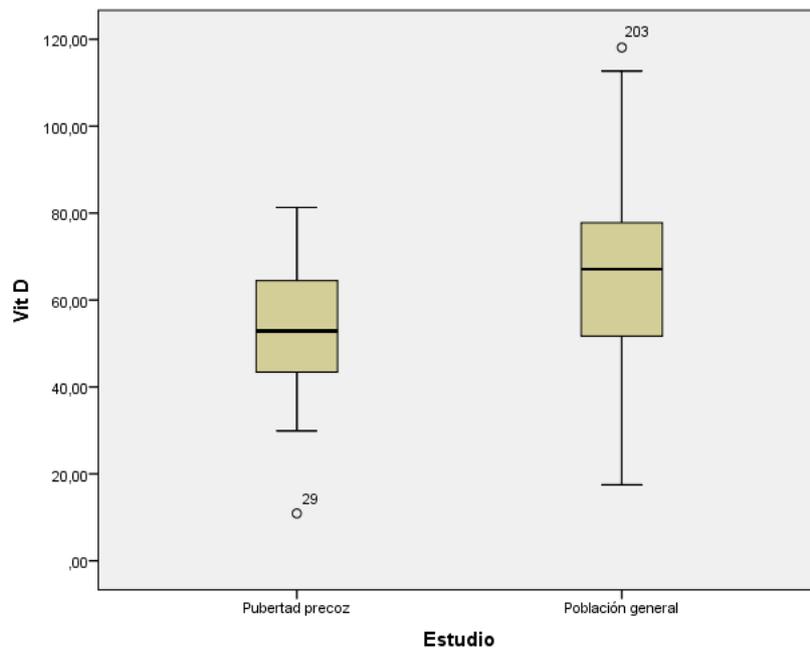


Figura 14. Diagrama de cajas que muestra la correlación entre los niveles de vitamina D en la muestra analizada con respecto a la población pediátrica general

VII. DISCUSIÓN

Durante los últimos años, numerosos estudios han mostrado un aumento de la incidencia de PPC y una disminución de la edad al inicio de la pubertad en niñas. A pesar de que muchos autores han investigado sobre la pubertad precoz, la etiología subyacente a la activación temprana del eje hipotalámico-hipofisario-gonadal aún no está clara. Los factores genéticos son los principales contribuyentes en el momento de la pubertad. Sin embargo, la tendencia secular observada en el inicio puberal con una disminución constante de la edad de inicio en las últimas décadas sugiere claramente que el factor ambiental puede estar influyendo en el cambio actual del desarrollo puberal.

En las últimas décadas, la prevalencia de deficiencia de vitamina D ha aumentado en muchas partes del mundo. La vitamina D juega un papel clave en el metabolismo óseo, siendo importante para el mantenimiento de la homeostasis del calcio a través de la absorción de calcio intestinal y renal). La gran mayoría de los efectos de la vitamina D están mediados por el VDR, que es la única proteína que une la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. El VDR se expresa en casi todas las células del cuerpo, como las células inmunes, vasculares, así como los ovarios y la glándula hipófisis glándula. Esto ha llevado a una extensa investigación sobre la vitamina D como factor de influencia potencial en la patogénesis de un gran número de enfermedades no esqueléticas, incluidas las enfermedades infecciosas y autoinmunes, obesidad, cáncer y fertilidad. Existen pocos estudios que analicen la asociación de la vitamina D estado y maduración sexual y reproducción femenina, por lo que el papel del déficit de vitamina D en la pubertad precoz no está del todo claro.

- Descripción de la muestra

El estudio se realizó sobre una muestra total de 32 sujetos, formado enteramente por personas del sexo femenino, de los cuales se pudo realizar el análisis completo en 20 de ellos. La edad de la muestra seleccionada comprendía desde los 8,5 años hasta los 12,1 años. Se analizaron todos aquellos pacientes que, en contexto de estudio de pubertad precoz, se realizó despistaje de déficit de vitamina D, por lo que, dado su escaso número, se incluyeron en el estudio en su totalidad. Cabe destacar que todas las pacientes se realizaron la analítica sanguínea durante el invierno, en los meses comprendidos entre diciembre y febrero.

- Parámetros bioquímicos y antropométricos

Nuestro estudio indicó que la deficiencia de vitamina D fue más común en niñas con PPC que en niñas con patrones de maduración sexual normales, encontrándose una diferencia media de casi 15 ng/mL. Aunque el mecanismo del efecto de la deficiencia de vitamina D en la progresión puberal no está claro, sugerimos que la vitamina D puede influir en la maduración sexual en chicas.

No obstante, a la hora de comparar nuestra muestra con los datos obtenidos del estudio del déficit de vitamina D en niños sanos aragoneses, se observan diferencias claras en la edad media de las muestras de aproximadamente 3 años, con una media de edad en las pacientes con pubertad precoz de $9,90 \pm 1,16$ años y una edad media en la población general de $6,8 \pm 3,9$ años. Además, existe correlación entre la edad y la vitamina D estableciéndose una correlación lineal negativa de $-0,23$ ($p < 0,001$), por lo que no se puede afirmar con total seguridad que ambas muestras sean comparables.

A pesar de que en la literatura se postula que el déficit de vitamina D está relacionado con el aumento de tejido adiposo y de manera indirecta, con el adelanto del desarrollo puberal (95), nuestro estudio no pudo comprobar la existencia de correlación significativa entre la vitamina D y el IMC. Sin embargo, aceptando esa hipótesis, paralelo al aumento de peso por aumento de tejido adiposo, estaría el aumento de la talla debido al supuesto adelanto puberal, por lo que el IMC no sería un claro marcador de este efecto.

No se observó una correlación significativa entre los niveles plasmáticos de vitamina D y la diferencia entre la edad ósea-edad cronológica de la muestra analizada, por lo que niveles bajos de vitamina D no predisponen a una mayor discrepancia entre ambas edades.

En nuestro estudio se observó un dato interesante que no aparece en la revisión bibliográfica actual, que fue la correlación significativa de los niveles de vitamina D con los valores del test de estimulación con LH-RH. Recordamos que este test es una de las herramientas diagnósticas de la pubertad precoz y que mide el cociente entre los niveles séricos de LH y FSH. En la pubertad hay un claro predominio de los primeros, por lo que nuestro estudio sugiere que la carencia de vitamina D tenga repercusión hormonal, aumentando los niveles de LH.

Por otro lado, el resto de los parámetros estudiados en contexto del diagnóstico de pubertad precoz, no guarda relación significativa con los niveles de vitamina D. Si bien algunos autores han encontrado correlación con el IGFI, en el que los valores de

vitamina D aumentan según desciende la cifra de este factor, nuestro estudio no puede secundar esos hallazgos.

Gracias a los datos obtenidos del estudio del déficit de vitamina D en niños sanos aragoneses, se pudo observar cómo los niveles de vitamina D están significativamente disminuidos en aquellas pacientes con pubertad precoz, siendo un dato a favor de que, tal como respaldan varios estudios, existe cierta influencia de la vitamina D en la fisiopatología de esta entidad. Sin embargo, este hallazgo debe analizarse con precaución dado que la edad media de nuestro estudio disminuía en aproximadamente 3 años con respecto a la población de niños sanos, hallándose una correlación con >95% de intervalo de confianza entre la edad y la disminución de niveles de vitamina D.

- Indicaciones para futuras investigaciones

Tras analizar y discutir los resultados obtenidos en el presente estudio, podemos afirmar que existe implicación de la vitamina D en el desarrollo de la pubertad precoz. No obstante, defender esta afirmación con mayor seguridad requeriría planificar un estudio con un mayor tamaño muestral para obtener mayor potencia estadística.

Estaría indicado realizar una comparación estratificada según intervalos de edad, puesto que se ha visto la influencia de la misma con la disminución de los valores de vitamina D.

El IMC es un parámetro poco fiable para determinar la cantidad de tejido adiposo corporal, por lo que sería preciso obtener otros parámetros más específicos como el perímetro de la cintura o a través de los datos obtenidos mediante impedanciometría.

Además, sería recomendable realizar un estudio prospectivo con un seguimiento de estas pacientes desde que se inicia el estudio de la pubertad precoz, hasta que se finaliza el desarrollo puberal. Para ello, sería conveniente realizar controles de, al menos, periodicidad anual, de parámetros implicados en el metabolismo fosfo-cálcico y la vitamina D.

Dado que la suplementación con vitamina D es inocua si se realiza de manera controlada y asesorada por personal médico y de escaso impacto económico, el estudio que más información podría aportar a la investigación del tema que nos ocupa, sería un ensayo clínico en el que se comparase pacientes afectos de pubertad precoz en tratamiento según las indicaciones del mismo y suplementado con vitamina D con pacientes afectos tratados según las indicaciones, sin suplementación.

VIII. CONCLUSIONES

- Los niveles séricos de vitamina D por debajo de las cifras de la normalidad están relacionados con un adelanto en el inicio del desarrollo puberal.
- La incidencia de déficit de vitamina D en pacientes con pubertad precoz es significativamente mayor que en población sana.
- Concentraciones séricas bajas de vitamina D aumentan los niveles de LH.
- No podemos afirmar que exista correlación entre IMC y vitamina D.

IX. BIBLIOGRAFÍA:

1. Gilaberte Y, Aguilera J, Carrascosa JM, Figueroa FL, Romaní De Gabriel J, Nagore E. La vitamina D: evidencias y controversias. *Actas Dermosifiliogr.* 2011; 102:572–588.
2. Zuluaga-Espinoza N, Alfaro-Velásquez JM, Balthazar-Gozález V, Jiménez-Blanco KE, Campuzano-Maya G. Vitamina D: nuevos paradigmas. *Med Lab.* 2011; 17:211–246.
3. Vásquez Awad D. La Vitamina D y su importancia en la salud humana. *Med.* 2013; 35:214–226.
4. Masvidal-Aliberch RM, Ortigosa-Gómez S, Baraza-Mendoza MC. Vitamina D: fisiopatología y aplicabilidad clínica en pediatría. *An Pediatr.* 2012; 77(4):279.e1-279.e10.
5. Rochel N, Molnár F. Structural aspects of Vitamin D endocrinology. *Mol Cell Endocrinol.* 2017; 453:22–35.
6. Chen TC, Lu Z, Holick MF. Photobiology of Vitamin D. In: Holick MF, editor. *Vitamin D: Physiology, Molecular Biology and Clinical applications.* Totowa, NJ: Humana Press; 2010. p. 35–60.
7. Quesada-Gómez J, Sosa-Henríquez M. Nutrición y osteoporosis. Calcio y Vitamina D. *Osteoporos y Menopaus.* 2009; 25:209–216.
8. Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol Ren Physiol.* 2005; 289:F8-F28.
9. Alonso-Alvarez MA, Martínez-Suarez V, Dalmau-Serra J. Profilaxis con vitamina D. *Acta Pediatr Esp.* 2011; 69(3):121–127.
10. Blaine J, Chonchol M, Levi M. Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2015; 10:1257–1272.
11. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007; 357(3):266–281.
12. Restrepo-Giraldo L, Arevalo-Novoa J, Toro-Ramos M. Metabolismo mineral y óseo: visión general y sus métodos de medición. *Med Lab.* 2015; 21:511–538.
13. Norman AW. From vitamin D to hormone D: Fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr.* 2008. p.491S–499S.
14. Christakos S, Ajibade D, Dhawan P, Fechner A, Mady L. Vitamin D: Metabolism. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010; 39:243–253.

15. Gröber U, Spitz J, Reichrath J, Kisters K, Holick MF. Vitamin D: Update 2013-From rickets prophylaxis to general preventive healthcare. *Dermatoendocrinol.* 2013; 5:331–347.
16. Kim SY. The pleiomorphic actions of vitamin D and its importance for children. *Ann Pediatr Endocrinol Metab.* 2013; 18:45–54.
17. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr.* 2004; 80:1689–1696.
18. Moya M. Polimorfismos génicos del receptor de la vitamina D. Implicaciones clínicas. *Rev Esp Pediatr.* 2013; 69:259–260.
19. Antonucci R, Locci C, Clemente MG, Chicconi E, Antonucci L. Vitamin D deficiency in childhood: old lessons and current challenges. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2018 Mar 28; 31:247–260.
20. Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Valle HB Del, editors. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. *Pediatrics.* 2012; 130:e1424–e1424.
21. Mangin M, Sinha R, Fincher K. Inflammation and vitamin D: the infection connection. *Inflammation Research.* 2014; p. 803–819.
22. Saggese G, Vierucci F, Boot AM et al. Vitamin D in childhood and adolescence: an expert position statement. Vol. 174, *European Journal of Pediatrics.* 2015. p. 565–576.
23. Pike JW and Meyer MB. The Vitamin D Receptor: New Paradigms for the Regulation of Gene Expression by 1,25-Dihydroxyvitamin D₃. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010 Jun; 39:255–269.
24. Hii C and Ferrante A. The Non-Genomic Actions of Vitamin D. *Nutrients.* 2016 Mar 2; 8:135.
25. St-Arnaud R. The direct role of vitamin D on bone homeostasis. *Arch Biochem Biophys.* 2008 May [cited 2016 Aug 17]; 473:225–230.
26. Fernandez-Tresguerres Hernandez-Gil I, Alobera-Gracia MA, Del-Canto-Pingarron M, Blanco-Jerez L. Bases fisiológicas de la regeneración ósea II. El proceso de remodelado. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2006; 11:92–8.
27. Valverde CN and Quesada-Gómez JM. Vitamina D, determinante de la salud ósea y extra ósea; Importancia de su suplementación en la leche y derivados. *Nutr Hosp.* 2015; 31:18–25.
28. Reynaga-Montecitos B and Zeni S. Marcadores bioquímicos del remodelamiento óseo. Utilidad clínica. *Acta Bioquim clin latinoam.* 2009; 43:177–193.

29. Eapen E, Grey V, Don-Wauchope A, Atkinson S. Bone Health in Childhood: Usefulness of Biochemical Biomarkers. *EJIFCC*. 2008; 19:123–36.
30. Manjón Llorente G, Fernández-Espuelas C, González López JM et al. Valores normales de los marcadores del recambio óseo durante la infancia. *An Pediatr*. 2004; 60:330–306.
31. Pludowski P, Holick MF, Pilz S, Wagner CL, Hollis BW, Grant WB, et al. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality; a review of recent evidence. Vol. 12, *Autoimmunity Reviews*. 2013. p.976–989.
32. Selvaraj P, Alagarasu K, Harishankar M, Vidyarani M, Narayanan PR. Regulatory region polymorphisms of vitamin D receptor gene in pulmonary tuberculosis patients and normal healthy subjects of south India. *Int J Immunogenet*. 2008; 35:251–254.
33. Stagi S, Bertini F, Rigante D, Falcini F. Vitamin D levels and effects of vitamin D replacement in children with periodic fever aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis (PFAPA) syndrome. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2014 Jun; 78:964–968.
34. Froicu M, Weaver V, Wynn TA, McDowell MA, Welsh JE, Cantorna MT. A Crucial Role for the Vitamin D Receptor in Experimental Inflammatory Bowel Diseases. *Mol Endocrinol*. 2003 Dec [cited 2018 Jun 13]; 17(12):2386–2392.
35. Jørgensen SP, Agnholt J, Glerup H, Lyhne S, Villadsen GE, Hvas CL et al. Clinical trial: Vitamin D3 treatment in Crohn's disease - A randomized double-blind placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010 May 11; 32:377–383.
36. Baek JH, Shin YH, Chung IH, Kim HJ, Yoo E-G, Yoon JW, et al. The link between serum vitamin D level, sensitization to food allergens, and the severity of atopic dermatitis in infancy. *J Pediatr*. 2014 Oct; 165:849–54.e1.
37. Esposito S, Lelii M. Vitamin D and respiratory tract infections in childhood. Vol. 15, *BMC Infectious Diseases*. 2015. p. 487. Vol.15, *BMC Infectious Diseases*. 2015. p. 487.
38. Uysalol M, Uysalol EP, Yilmaz Y, Parlakgul G, Ozden TA, Ertem HV, et al. Serum level of vitamin D and trace elements in children with recurrent wheezing: a cross-sectional study. *BMC Pediatr*. 2014 Oct 16; 14:270.
39. Cebey-López M, Pardo-Seco J, Gómez-Carballa A, Martín-Torres N, Rivero-Calle I, Justicia A, et al. Role of Vitamin D in Hospitalized Children With Lower Tract Acute Respiratory Infections. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2016 Mar; 62:479–85.

40. Bar Yoseph R, Livnat G, Schnapp Z, Hakim F, Dabbah H, Goldbart A, et al. The effect of vitamin D on airway reactivity and inflammation in asthmatic children: A double-blind placebo-controlled trial. *Pediatr Pulmonol*. 2015 Aug; 50:747–753.
41. Davidson BL and Alansari K. Vitamin D deficiency can impair respiratory health. *Respirology*. 2018 Jun; 23:554–5.
42. Yao T-C, Tu Y-L, Chang S-W, Tsai H-J, Gu P-W, Ning H-C, et al. Serum 25-Hydroxyvitamin D Levels in Relation to Lung Function and Exhaled Nitric Oxide in Children. *J Pediatr*. 2014 Dec; 165:1098–1103.e1.
43. Zittermann A, Schleithoff SS, Koerfer R. Putting cardiovascular disease and vitamin D insufficiency into perspective. *Br J Nutr*. 2005; 94:483–92.
44. Hyung WK, Cheol WP, Young SS, Young SK, Seok JS, Kim YS, et al. Calcitriol regresses cardiac hypertrophy and QT dispersion in secondary hyperparathyroidism on hemodialysis. *Nephron - Clin Pract*. 2006; 102:21–29.
45. Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, Jacques PF, Ingelsson E, Lanier K, et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation*. 2008; 117:503–511.
46. Soares MJ, Murhadi LL, Kurpad a V, Chan She Ping-Delfos WL, Piers LS. Mechanistic roles for calcium and vitamin D in the regulation of body weight. *Obes Rev*. 2012; 13:592–13605.
47. Soares MJ, Chan She Ping-Delfos W, Ghanbari MH. Calcium and vitamin D for obesity: a review of randomized controlled trials. *Eur J Clin Nutr*. 2011; 65:994–1004.
48. Awad AB, Alappat L, Valerio M. Vitamin D and metabolic syndrome risk factors: evidence and mechanisms. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2012; 52:103–12.
49. Boullata JI. Vitamin D supplementation: a pharmacologic perspective. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2010; 13:677–84.
50. Gutiérrez-Medina S, Gavela-Pérez T, Domínguez-Garrido MN, Gutiérrez-Moreno E, Rovira A, Garcés C, et al. The influence of puberty on vitamin D status in obese children and the possible relation between vitamin D deficiency and insulin resistance. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2015; 28:105–110.
51. Cediél G, Corvalán C, Lopez de Romana D, Mericq V, Uauy R. Prepubertal Adiposity, Vitamin D Status, and Insulin Resistance. *Pediatrics*. 2016; 138: e20160076–e20160076.

52. Rodriguez-Rodriguez E, Ortega RM, Gonzalez-Rodriguez LG, Lopez-Sobaler AM. Vitamin D deficiency is an independent predictor of elevated triglycerides in Spanish school children. *Eur J Nutr.* 2011; 50:373–8.
53. Hypponen E. Vitamin D and increasing incidence of type 1 diabetes-evidence for an association? *Diabetes Obes Metab.* 2010; 12:737–743.
54. Mitri J, Pittas AG. Vitamin D and diabetes. Vol. 43, *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America.* Elsevier Inc; 2014. p. 205–232.
55. Krishnan A V, Trump DL, Johnson CS, Feldman D. The role of vitamin D in cancer prevention and treatment. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010; 39:401–418.
56. Misra M, Pacaud D, Petryk A, Ferrez Collett-Solberg P, Kappy M. Vitamin D deficiency in children and its management: review of current knowledge and recommendations. *Pediatrics.* 2008; 122:398–417.
57. Garland C, Garland F, Gorham E, Lipkin M, Newmark H, Mohr S, et al. The role of vitamin D in cancer prevention. *Am J Public Heal.* 2006; 96:252–261.
58. Shui I, Giovannucci E. Vitamin D status and cancer incidence and mortality. *Adv Exp Med Biol.* 2014; 810:33–51.
59. Goksugur SB, Tufan AE, Semiz M, Gunes C, Bekdas M, Tosun M, et al. Vitamin D status in children with attention-deficit-hyperactivity disorder. *Pediatr Int.* 2014; 56:515–519.
60. Lucidarme O, Messai E, Mazzoni T, Arcade M, du Cheyron D. Incidence and risk factors of vitamin D deficiency in critically ill patients: results from a prospective observational study. *Intensive Care Med.* 2010 Sep; 36:1609–1611.
61. Lee P. How deficient are vitamin D deficient critically ill patients? *Crit Care.* 2011; 15:154.
62. Mata-Granados JM, Vargas-Vasserot J, Ferreiro-Vera C, Luque de Castro MD, Pavón RG, Quesada-Gómez JM. Evaluation of vitamin D endocrine system (VDES) status and response to treatment of patients in intensive care units (ICUs) using an on-line SPE-LC-MS/MS method. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010; 121:452–455.
63. Venkatram S, Chilimuri S, Adrish M, Salako A, Patel M, Diaz-Fuentes G. Vitamin D deficiency is associated with mortality in the medical intensive care unit. *Crit Care.* 2011; 15:292–301.

64. Petersen RA, Dalskov SM, Sorensen LB, Hjorth MF, Andersen R, Tetens I, et al. Vitamin D status is associated with cardiometabolic markers in 8-11- year-old children, independently of body fat and physical activity. *Br J Nutr.* 2015; 114:1647–1655.
65. McNally J, Amrein K. Vitamin D Deficiency in Pediatric Critical Care. *J Pediatr Intensive Care.* 2016; 05:142–153.
66. Busturia-Jimeno MA. Vitamina D: visión desde el laboratorio. *Española Endocrinol Pediatr.* 2012; 3:39–45.
67. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An endocrine society clinical practice guideline. Vol. 96, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 2011. p. 1911–30.
68. Villamor E, Marin C, Mora-Plazas M, Baylin. Vitamin D deficiency and age at menarche: a prospective study. *A Am J Clin Nutr.* 2011 Oct; 94:1020-5.
69. Zhao Y, Long W, Du C, Yang H, Wu S, Ning Q, Luo X. Prevalence of vitamin D deficiency in girls with idiopathic central precocious puberty. *Front Med.* 2018 Apr; 12:174-181.
70. Lee HS, Kim YJ, Shim YS, Jeong HR, Kwon E, Hwang JS. Associations between serum vitamin D levels and precocious puberty in girls. *Ann Pediatr Endocrinol Metab.* 2014 Jun; 19:91-5.
71. Johnson AL, Zinser GM, Waltz SE. Loss of vitamin D receptor signaling from the mammary epithelium or adipose tissue alters pubertal glandular development. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2014 Oct 15; 307:E674-85.
72. Güemes-Hidalgo M, González-Fierro MJ, Hidalgo-Vicario MI. Pubertad y adolescencia. *Adolescere* 2017; V1: 7-22.
73. Vargas F, Fuentes MA, Lorenzo L, Marco MV, Martínez-Aedo MJ, Ruiz R. Pubertad precoz. *Protoc diagn ter pediatr.* 2011; 1:193-204.
74. Soriano-Guillén L and Argente J. Pubertad precoz central: aspectos epidemiológicos, etiológicos y diagnóstico-terapéuticos *An Pediatr (Barc).* 2011; 74(5):336.e1—336.e13.
75. Buck Louis GM, Gray LE Jr, Marcus M, Ojeda SR, Pescovitz OH, Witchel SF, Sippell W, et al. Environmental factors and puberty timing: expert panel research needs. *Pediatrics.* 2008; 121: S192-207.

76. Ojeda SR, Lomniczi A, Sandau U. Contribution of glial-neuronal interactions to the neuroendocrine control of female puberty. *Eur J Neurosci.* 2010; 32: 2003- 2010.
77. Sam AH, Dhillon WS. Kisspeptin: a critical regulator of puberty and reproductive function. *Curr Drug Targets.* 2010; 11: 971-977.
78. Rogol AD. Sex steroids, growth hormone, leptin and the pubertal growth spurt. *Endocr Dev.* 2010; 17: 77-85.
79. Farooqi IS and O'Rahilly S. Leptin: a pivotal regulator of human energy homeostasis. *Am J Clin Nutr.* 2009; 89: 980S-4S.
80. Day FR, Perry JR, Ong KK. Genetic Regulation of Puberty Timing in Humans. *Neuroendocrinology.* 2015 May 7
81. Parent AS, Franssen D, Fudvoye J, Gérard A, Bourguignon JP. Developmental variations in environmental influences including endocrine disruptors on pubertal timing and neuroendocrine control: Revision of human observations and mechanistic insight from rodents. *Front Neuroendocrinol.* 2015; 38:12-36.
82. Özen S and Darcan S. Effects of Environmental Endocrine Disruptors on Pubertal Development. *J Clin Res Ped Endo.* 2011; 3: 1-6.
83. Parent AS, Teilman G, Juul A, Skakkebaek NE, Toppari J, Bourguignon JP. The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends and changes after migration. *Endocr Rev.* 2003; 24: 668-693.
84. Soriano-Guillén L, Corripio R, Labarta JI, et al. Central precocious puberty in children living in Spain: incidence, prevalence, and influence of adoption and immigration. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010; 95: 4305-4313.
85. Sloboda DM1, Hickey M, Hart R. Reproduction in females: the role of the early life environment. *Hum Reprod Update.* 2011; 17: 210-227.
86. Vargas F, Fuentes MA, Lorenzo L, Marco MV, Martínez-Aedo MJ, Ruiz R. Pubertad precoz. *Protoc diagn ter pediatr.* 2011; 1:193-204
87. Kinuta K, Tanaka H, Moriwake T, Aya K, Kato S, Seino Y. Vitamin D is an important factor in estrogen biosynthesis of both female and male gonads. *Endocrinology* 2000; 141: 1317–1324.
88. Johnson LE, DeLuca HF. Reproductive defects are corrected in vitamin D-deficient female rats fed a high calcium, phosphorus and lactose diet. *J Nutr* 2002; 132: 2270–2273.

89. Breen ME, Laing EM, Hall DB, Hausman DB, Taylor RG, Isales CM et al. 25-hydroxyvitamin D, insulin-like growth factor-I, and bone mineral accrual during growth. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96:E89–98.
90. Dicken CL, Israel DD, Davis JB, Sun Y, Shu J, Hardin J, Neal-Perry G. Peripubertal vitamin D(3) deficiency delays puberty and disrupts the estrous cycle in adult female mice. *Biol Reprod* 2012; 87: 51.
91. Webb AR, Kline L, Holick MF. Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D3: exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D3 synthesis in human skin. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67:373–378.
92. Hollis BW and Wagner CL. Normal serum vitamin D levels. *N Engl J Med* 2005; 352: 515–516.
93. 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.
94. DiVall SA and Radovick S. Pubertal development and menarche. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1135:19–28.
95. Kitagawa I, Kitagawa Y, Kawase Y, Nagaya T, Tokudome S. Advanced onset of menarche and higher bone mineral density depending on vitamin D receptor gene polymorphism. *Eur J Endocrinol* 1998; 139:522–527.
96. Martínez I, García R, Calmarza P, De Arriba A, Rodríguez G, Labarta JI. Deficiencia de vitamina D en niños aragoneses sanos. *Nutr Hosp.* 2018 Apr 27; 35:782-788.

X. ANEXOS

ANEXO1: HOJA DE INFORMACIÓN:

**“IMPLICACIONES DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCIO Y NIVELES DE
VITAMINA D EN NIÑAS CON PUBERTAD PRECOZ”**

Su hija ha sido invitado a participar en un estudio de investigación. Antes de que usted decida que participe en el estudio, por favor lea esta información cuidadosamente. Haga todas las preguntas que usted tenga, para asegurarse que entiende los procedimientos del estudio, incluyendo los riesgos y los beneficios.

PROPÓSITO DEL ESTUDIO: El propósito de este estudio es determinar si existe relación entre niveles bajos de vitamina D sérica y la aparición de pubertad precoz, ya que se ha visto en las últimas décadas que podría estar implicado en su desarrollo.

PARTICIPANTES DEL ESTUDIO: Pacientes atendidos en consultas externas de Endocrinología Pediátrica del Hospital Infantil Miguel Servet de Zaragoza, a los que se les haya solicitado una analítica para estudio de pubertad precoz en la que se incluya despistaje de déficit de vitamina D.

PROCEDIMIENTOS: En el estudio se realizará un análisis sanguíneo (que el paciente necesita como estudio de la pubertad precoz) en el que se solicitará la determinación de los parámetros del metabolismo fosfocálcico y una exploración para determinar peso, talla e índice de masa corporal.

RIESGOS O INCOMODIDADES: Los riesgos para los participantes son mínimos o inexistentes. Excepcionalmente puede surgir alguna complicación menor derivada de la extracción de sangre.

BENEFICIOS: Durante el estudio usted no recibirá ningún beneficio personal económico por participar. Si a lo largo del estudio se observaran datos clínicos o analíticos que pudieran resultar de interés para el paciente se le comunicará y se le pondrá en contacto con el servicio de gastroenterología para su evaluación y seguimiento.

COSTOS: Ningún costo económico recaerá sobre usted.

PARTICIPACIÓN Y RETIRADA VOLUNTARIOS: La participación en este estudio es voluntaria. Usted puede decidir no participar o retirarse del estudio en cualquier momento, sin dar explicaciones. La decisión no resultará en ninguna penalización. De ser necesario, su participación en este estudio puede ser detenida en cualquier momento por el investigador del estudio sin su consentimiento.

CONFIDENCIALIDAD: Los datos obtenidos serán confidenciales y se asegura la garantía del anonimato. El centro y los investigadores se responsabilizan de que en todo momento se mantenga la confidencialidad respecto a la identificación y los datos del participante. El nombre y los datos que permiten identificar al paciente sólo constan en la historia clínica.

IMPLICACIONES DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCIO Y NIVELES DE VITAMINA D EN NIÑAS CON
PUBERTAD PRECOZ

Todos los datos de esta investigación se guardarán informatizados en unos ficheros diseñados para la investigación y no aparecerá ni su nombre ni ningún otro dato que le pueda identificar.

Estos procedimientos están sujetos a la Ley Orgánica 15 /1999 sobre Protección de Datos de Carácter Personal y a la Ley 41/02 de Autonomía del Paciente.

PREGUNTAS: Ahora le damos la oportunidad de que, si no lo ha hecho antes, haga preguntas. Se las responderemos de la mejor manera posible.

RESPONSABLES DEL ESTUDIO: Dr. Juan Hidalgo Sanz y Dra. Ruth García Romero. Si desean contactar con los responsables del estudio, pueden localizarlas en horario de mañanas en el Hospital Infantil Miguel Servet.

Al término de las pruebas, las muestras de suero anonimizadas serán destruidas.

ANEXO 2

MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO POR ESCRITO PARA PACIENTE 12-18 AÑOS

Título: “IMPLICACIONES DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCIO Y NIVELES DE VITAMINA D EN NIÑAS CON PUBERTAD PRECOZ”

Con tu firma nos indicas que has leído el estudio, que has tenido la oportunidad de plantear todas las preguntas que has considerado convenientes y que te han sido aclaradas.

Por otra parte ratificas que tu padre, madre o tutor, así como el personal que participa en el estudio te han explicado en qué consiste éste, que lo has entendido bien y que también ratificas que te han explicado que puedes dejar el estudio, si así lo deseas, sin que eso modifique nada el trato que recibes por parte de tu medico. Que tienes claro que si quieres mas información del estudio puedes preguntarla en cualquier momento. También que sabes que tus datos están protegido por una ley (ley organica 15/1999 de diciembre) sobre la protección de datos de carácter personal. Que has comprendido que tu historia clínica puede ser vista por el investigador del estudio, por otras personas que están en la investigación y que das tu permiso para que tengan acceso a tu historia clínica.

Nombre del niño en letra de imprenta.....

Edad..... Firma del niño.....

Nombre del investigador.....

Firma investigador

Fecha.....

Este documento se firmará por duplicado quedándose una copia el investigador y otra el paciente. Además el investigador se encargará de guardar una copia en la historia general del hospital del paciente.

**MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO POR ESCRITO PARA PADRE/MADRE O TUTOR DEL
MENOR**

**Título: “IMPLICACIONES DEL METABOLISMO FOSFOCÁLCIO Y
NIVELES DE VITAMINA D EN MUJERES AFECTAS DE PUBERTAD
PRECOZ”**

Yo (nombre y apellidos)

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con:.....

(Nombre del investigador)

Comprendo que la participación de mi hijo/a es voluntaria.

Comprendo que puedo retirar a mi hijo/a del estudio:

1º Cuando quiera

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para que mi hijo/a participe en el estudio.

FIRMA DEL PADRE-MADRE O TUTOR LEGAL

FECHA:

FIRMA DEL INVESTIGADOR

FECHA:

Este documento se firmará por duplicado quedándose una copia el investigador y otra el paciente.
Además el investigador se encargará de guardar una copia en la historia general del hospital del paciente.