



UNIVERSIDAD  
DE MÁLAGA

**Departamento de Farmacología y Pediatría**

**TESIS DOCTORAL**  
**Déficit de vitamina D y**  
**morbimortalidad en pacientes**  
**críticos pediátricos**

**Patricia García Soler**

**DIRECTORES**

**Prof. Dr. Javier Pérez-Frías**  
**Dr. Guillermo Milano Manso**

**Julio 2015**

# Déficit de vitamina D y morbimortalidad en pacientes críticos pediátricos

Patricia García Soler

## LUGAR DE PRESENTACIÓN

Facultad de Medicina de la Universidad de Málaga

## LUGAR DE INVESTIGACIÓN

Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos del Hospital Regional  
Universitario Materno Infantil de Málaga

## DIRECTORES

Dr. Guillermo Milano Manso  
Prof. Dr. Javier Pérez Frías

## TRIBUNAL

Presidente: Dr. Custodio Calvo Macías  
Secretaria: Dra. Estela Pérez Ruiz  
Vocales: Dr. Francisco Jesús García Martín  
Dra. Silvia Oliva Rodríguez-Pastor  
Dra. Esther Ocete Hita  
Suplentes: Dr. D. Moreno Pérez  
Dr. L. Tapia Ceballos

## TÍTULO AL QUE OPTA

Doctora en Medicina

## FECHA DE PRESENTACIÓN

Julio de 2015



Publicaciones y  
Divulgación Científica

AUTOR: Patricia García Soler

EDITA: Publicaciones y Divulgación Científica. Universidad de Málaga



Esta obra está sujeta a una licencia Creative Commons:

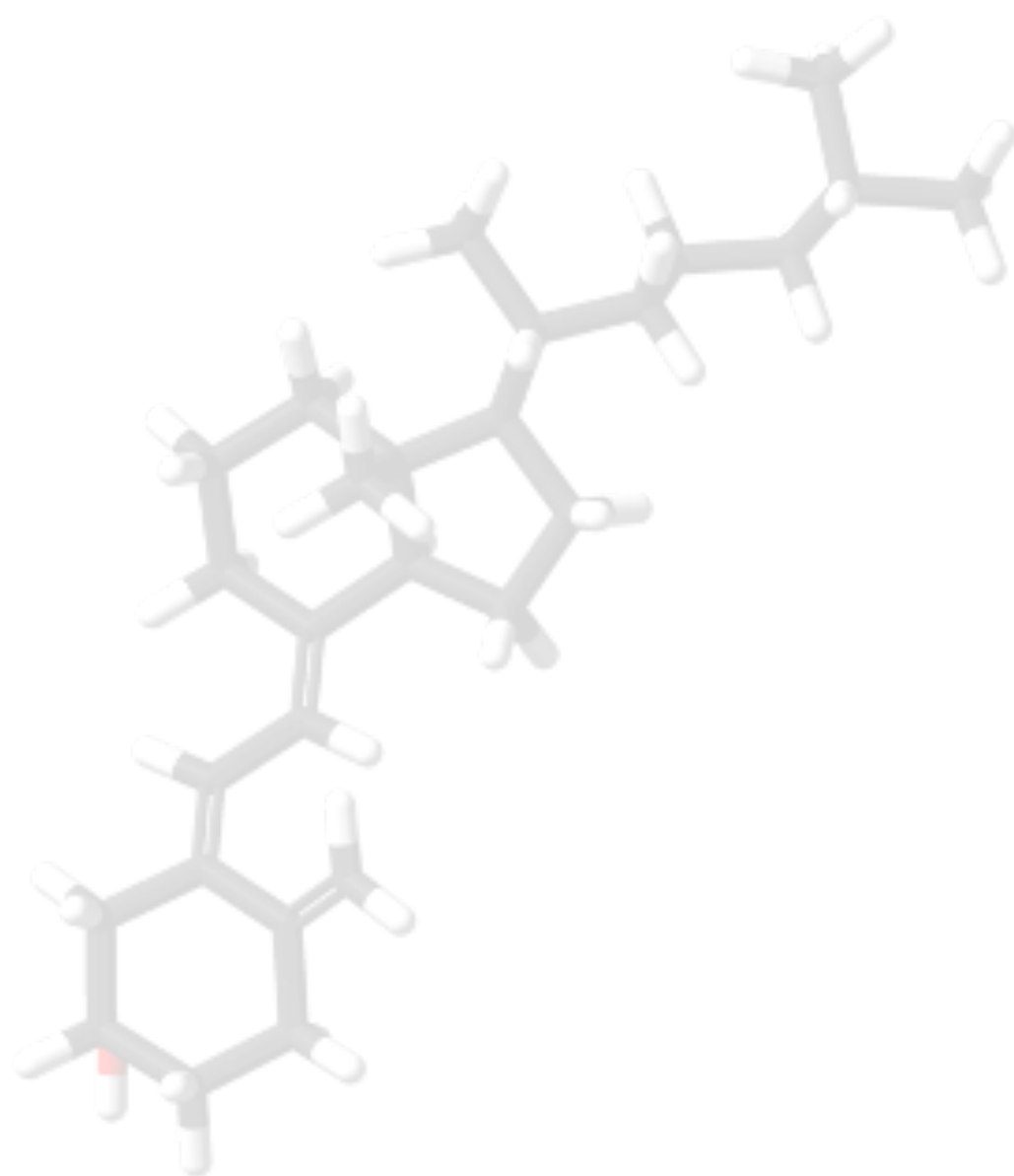
Reconocimiento - No comercial - SinObraDerivada (cc-by-nc-nd):

[Http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/es)

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización  
pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer  
obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de  
Málaga (RIUMA): [riuma.uma.es](http://riuma.uma.es)



UNIVERSIDAD  
DE MÁLAGA



PROF. DR. JAVIER PÉREZ FRÍAS, CATEDRÁTICO DE PEDIATRÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE MÁLAGA, Y DR. GUILLERMO MILANO MANSO, JEFE DE LA UNIDAD DE GESTIÓN CLÍNICA DE CUIDADOS CRÍTICOS Y URGENCIAS PEDIÁTRICAS DEL HOSPITAL REGIONAL UNIVERSITARIO DE MÁLAGA

CERTIFICAN: Que el presente trabajo titulado **“Déficit de vitamina D y morbimortalidad en pacientes críticos pediátricos”**, y que constituye la Memoria que presenta la Licenciada Patricia García Soler para optar al grado de Doctor, ha sido realizado en el Departamento de Farmacología y Pediatría de la Universidad de Málaga bajo nuestra dirección. Asimismo, en el marco del proceso de evaluación requerido, autorizamos la presentación de la citada Tesis Doctoral, dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Para que conste a los efectos oportunos, firmamos el presente certificado en Málaga a 7 de junio de dos mil quince.



Prof. Dr. Javier Pérez Frías



Dr. Guillermo Milano Manso



# Agradecimientos

Una vez finalizada la redacción de la Tesis Doctoral, queda enfrentarse a uno de los que, sin duda, forma parte de los capítulos más difíciles de este trabajo, el de los agradecimientos. Independientemente del resultado final, he de sintetizar en unas breves líneas mi más sentido y profundo agradecimiento a una serie de personas que han ayudado a dar vida y sentido a este proyecto de investigación.

En primer lugar, quiero destacar a mis Directores de Tesis Doctoral, el Doctor Guillermo Milano Manso y el profesor y Doctor Javier Pérez Frías, cuya profesionalidad y tesón en la dirección magistral de este proyecto encontrará el lector en las páginas siguientes. Les agradezco su dedicación, ya que siempre han estado presentes para guiarme y animarme durante el proyecto, aún cuando mis obligaciones laborales impedían de algún modo el desarrollo normal de esta tarea.

A mis compañeros de la UGC de Cuidados Críticos y Urgencias pediátricas, especialmente a médico/as y enfermeros/as, así como a los doctores Juan Antonio Lillo Muñoz y Pilar Ocón Sánchez del Servicio de Análisis Clínicos, y al Dr. Javier Blasco de la Sección de Gastroenterología Infantil, por la colaboración ofrecida desde la génesis de este proyecto y sin quienes no hubiera sido posible llevar a cabo la consecución del mismo.

A la fundación FIMABIS, por el asesoramiento en la metodología de la investigación a partir del cual he podido construir el presente proyecto.

A mi familia, especialmente a mi madre, quien siempre me ha apoyado y ha creído en mí y ha sido para mí un ejemplo de superación a las vicisitudes de la vida.

Por último a Antonio, mi pareja, compañero y amigo, a quien además admiro a nivel profesional, por su inestimable apoyo y comprensión para sobrellevar el abandono al que ha estado sometido durante todas las horas que he dedicado a esta investigación.

A mi madre,

*“Todos somos muy ignorantes. Lo que ocurre es que no  
todos ignoramos las mismas cosas”*

A. Einstein

## ABREVIATURAS

24,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>: 24,25-Dihidroxivitamina D<sub>3</sub>

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

1,25-(OH)<sub>2</sub>-D: 1, 25-Hidroxivitamina D o calcitriol

ATB: Antibiótico

Ca<sub>i</sub>: Calcio iónico

CBP: “Calcium Binding Protein”, proteína ligadora del calciocalbindina

CDC: “Centers for Disease Control and Prevention”

CEH: Circulación enterohepática

CPB: “Competitive Protein-Binding assay”, ensayo de unión competitiva a proteína

DVA: Drogas vasoactivas

EAR: “Estimated Average Requirements”, necesidades medias estimadas

FDA: “Food and Drug Administration”, Agencia de alimentos y medicamentos

FGF23: “Fibroblast growth factor 23”, factor de crecimiento circulante 23

HPLC: “high performance liquid chromatography”, cromatografía líquida de alta resolución

IC: Intervalo de confianza

IMC: Índice de Masa Corporal

LC-MS/MS: Cromatografía líquida en tándem con espectrómetro de masas

MED: “Minimal Erythema dose”, dosis mínima eritematosa

NP: Nutrición parenteral

OR: Odds ratio

PABA: Ácido p-aminobenzoico

PEA: Personas de edad avanzada

PTH: Paratohormona

RDA: “Recommended dietary allowances”, Ingestas dietéticas recomendadas

RIA: Radioinmunoanálisis

TCDER: Terapias continuas de depuración extrarrenal

UCIP: Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos

UV: Ultravioleta

VDBP: “Vitamin D Binding Protein”, proteína de unión de la vitamina D o transcalfiferina

VDR: Receptor de la vitamina D

VNI: Ventilación mecánica no invasiva

VMI: Ventilación mecánica invasiva



# ÍNDICE

Sección	Páginas
1. Resumen.....	13
2. Revisión bibliográfica.....	18
2.1. Vitamina D. Antecedentes históricos.....	19
2.1.1. Prehistoria.....	19
2.1.2. La antigüedad.....	20
2.1.3. Siglo XVII.....	21
2.1.4. Siglos XVIII-XIX.....	23
2.1.5. Siglo XX.....	26
2.1.5.1. El inicio de la producción de la vitamina D <sub>3</sub> .....	37
2.1.5.2. Otros descubrimientos entre 1920 y 1940.....	39
2.2. Estructura química de la vitamina D .....	42
2.3. Terminología .....	44
2.4. Determinación analítica de la vitamina D.....	44
2.5. Fisiología de la vitamina D .....	49
2.5.1. Fuentes de vitamina D.....	49

2.5.2. Metabolismo de la vitamina D.....	58
2.5.3. Funciones de la vitamina D.....	63
2.6. Estado de vitamina D.....	67
2.7. Déficit de vitamina D. Estado actual del tema.....	68
2.8. Importancia del problema. Repercusión del déficit de vitamina D ...	71
2.9. Vitamina D y pacientes críticos .....	75
3. Objetivos.....	80
4. Metodología de trabajo.....	83
5. Resultados.....	95
5.1. Estadística descriptiva.....	96
5.2. Análisis bivariante.....	113
5.3. Análisis multivariante.....	177
6. Discusión.....	188
7. Conclusiones.....	209
8. Bibliografía.....	211



# RESUMEN

La deficiencia de vitamina D es uno de los déficits vitamínicos más frecuentes en la población general, siendo más común en pacientes críticos. Varios estudios demuestran niveles bajos en niños y adolescentes, con consecuencias negativas sobre la salud futura. El conocimiento de su relevancia se ha extendido más allá del sistema esquelético y regulación del metabolismo calcio-fósforo, existiendo estudios que correlacionan este déficit con un aumento de mortalidad y situaciones de gravedad (síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, shock, sepsis, disfunción cardiovascular...) sin que pueda asegurarse una relación causal hasta el momento actual. Sin embargo, la prevalencia y su importancia en pacientes críticos pediátricos son poco conocidas.

Se plantea un estudio observacional en dos fases (fase I: Estudio de cohortes, fase II: Estudio de prevalencia) basado en la determinación de la 25-OH-vitamina D en las primeras 48 horas del ingreso en pacientes ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos de un hospital terciario para determinar la prevalencia y factores asociados a este déficit vitamínico, así como su relación con la morbilidad durante el ingreso en la unidad. Se registraron datos demográficos, características del episodio y complicaciones surgidas durante el ingreso para identificar un posible perfil de riesgo de presentar esta deficiencia.

La prevalencia del déficit de vitamina D fue del 43,8%, con una media de vitamina D total plasmática de 22,28 (IC95% 21,15 – 23,41) ng/ml. Los individuos con déficit de vitamina D fueron de mayor edad y peso, de padres

con mayor nivel de estudios, ingresaron más frecuentemente en invierno y primavera, presentaron una mayor puntuación de PRISM-II al ingreso, su estancia en UCIP fue mayor, así como la morbilidad durante la misma. Los pacientes que fallecieron tenían niveles de vitamina D inferiores a los que presentaron los supervivientes al alta de UCIP y dichas diferencias fueron estadísticamente significativas. La estancia en UCIP fue superior en aquellos con déficit de vitamina D, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas en el análisis multivariante.

En base a estos resultados, se concluye que el déficit de vitamina D es frecuente en UCIP y está relacionado con la morbimortalidad, aunque queda por esclarecer si esta asociación es de tipo causal o simplemente se trata de un marcador de gravedad de la situación clínica del enfermo.

## DESCRIPTORES

- Vitamina D
- Deficiencia de vitamina D
- Morbilidad
- Mortalidad
- Cuidados críticos
- Pediatría

## ABSTRACT

Vitamin D deficiency is one of the most frequent nutrients deficiencies, and it is more common in the critically ill. Several studies have shown low levels in children and adolescents, with a negative impact in their future health. The knowing of its relevance has overwhelmed the calcium-phosphorus homeostasis, and there are many studies reporting its correlation with morbidity, mortality and several serious conditions (systemic inflammatory response syndrome, shock, sepsis, cardiovascular dysfunction,...), but at present we can not assure a causal relationship. Nevertheless, its prevalence and importance in paediatric critical care remains unclear.

We performed an observational study with two phases (phase I: Cohorts study, phase II: Prevalence study) based on 25-OH-vitamin D analysis in the first 48 hours of admittance in Paediatric Intensive Care Unit of a tertiary University Hospital to determine its prevalence and risk factors related with vitamin D deficiency, as well as its relationship with morbidity and mortality during the stay. We registered demographic features, characteristics of the episode and complications during the PICU stay in order to identify a possible risk profile of being vitamin D deficient.

The overall prevalence rate of vitamin D deficiency was 43.8%, with a mean of 22,28 (CI95% 21,15 – 23,41) ng/ml. Patients with vitamin D deficiency were older, with more weight, their parents had higher level of academic studies, they were admitted more commonly in winter and spring,

they have a higher PRISM-II, a longer PICU stay and morbidity than the patients with sufficient levels of 25-OH-vitamin D. Patients who died had lower levels of vitamin D and this difference was statistically significant. In multivariate analysis, the length of stay was not associated with vitamin D deficiency.

Based on these results, we conclude that vitamin D deficiency is frequent in Paediatric Critical Care patients and it is related with both morbidity and mortality, although it remains unclear whether it is a causal relationship or it is simply a marker of severity in different clinical situations.

## DESCRIPTORS

- Vitamin D
- Vitamina D deficiency
- Morbidity
- Mortality
- Critical care
- Pediatrics



# REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

## **2.1. VITAMINA D. ANTECEDENTES HISTÓRICOS**

### **2.1.1. LA PREHISTORIA**

El origen de la vitamina D se remonta aproximadamente hasta hace 500 a 750 millones de años. De manera inicial, se produjo en el fitoplancton del océano durante su exposición ante la luz solar. Aunque se desconoce su papel fisiológico en estas formas de vida inferiores, se cree que la vitamina D y sus precursores actuaron como un filtro solar natural absorbiendo la radiación ultravioleta (UV) de alta energía con el fin de proteger las distintas organelas. Posiblemente fue transferida a lo largo de la cadena alimentaria a los peces marinos, de ahí la relevancia de los peces ricos en aceite, como el aceite del hígado de bacalao, como fuente importante de vitamina D.

Debido a razones que aún no se comprenden, durante su evolución, los vertebrados terrestres dependieron de la vitamina D para el desarrollo y mantenimiento de sus esqueletos osificados, dado que la principal función fisiológica de la vitamina D en todos ellos consiste en mantener las concentraciones séricas de fósforo y calcio en los niveles adecuados para poder llevar a cabo los procesos celulares, las funciones neuromusculares y la osificación del hueso.

Durante la evolución de la especie humana, el hombre de origen africano requería menor cantidad de luz solar para su homeostasis y mínimos sustratos en los ambientes tropicales. Durante una exposición excesiva a la luz

solar y a las radiaciones ultravioletas, la previtamina D es fotoisomerizada a isómeros biológicamente inertes. Durante la edad del hielo, la piel blanca se adaptó mejor a la producción de la vitamina D, dado que en los climas fríos, con menor exposición solar, la piel oscura o negra tiene cierta propensión a sintetizar menos vitamina D. A pesar de la descripción anecdótica de casos de raquitismo en Grecia y Roma y otras descripciones que enumeramos a continuación, la enfermedad empezó a aparecer y a describirse solo hasta el siglo XVII.

### **2.1.2. LA ANTIGÜEDAD**

Hablar de la historia de la vitamina D es hablar de la historia del raquitismo. El raquitismo fue descrito ya en los textos médicos de la Grecia clásica. Las primeras observaciones sobre la calidad de los huesos fueron planteadas por los historiadores griegos, como Herodoto<sup>(1)</sup> (484 ó 485?- 425 a 426?), quien escribe nueve libros de historia y analiza las guerras médicas. Herodoto visitaba los campos de batalla e inspeccionaba los cráneos de los muertos persas y egipcios, y anotaba que los cráneos de los persas eran más frágiles y abollonados, comparados con los de los egipcios que eran más fuertes. Herodoto atribuía esta diferencia a que los cráneos de los egipcios siempre estaban al descubierto y se exponían a las radiaciones solares, a diferencia de los cráneos persas que estaban cubiertos con turbantes<sup>(1)</sup>. Ésta es al parecer la primera referencia del efecto de las radiaciones solares sobre el esqueleto.

Posteriormente el médico Soranus de Éfeso (98-138 d. C.)<sup>(2)</sup> escribió, en la primera centuria de nuestra era, un tratado sobre las “enfermedades de las mujeres” y en uno de sus capítulos realiza el siguiente cuestionamiento: “*Why the majority of Roman children are distorted?*” (¿Por qué la mayoría de los niños romanos están “torcidos”?). En su obra este autor señala como posible causa de esta alteración al contacto de los niños con los suelos fríos de sus habitaciones y la poca exposición al sol.

### 2.1.3. SIGLO XVII

En la primera mitad del siglo XVII, los casos de raquitismo en Gran Bretaña pasaron a ser cada vez más frecuentes, hasta el extremo que el raquitismo pasó a conocerse como “morbo inglés”. Además, la mortalidad de las madres en el parto aumentó mucho, debido a las deformaciones de la pelvis producidas por el raquitismo infantil padecido previamente. Varios médicos de la época, entre ellos Daniel Whistler y **Francis Glisson** estudiaron la enfermedad, describiéndola con detalle, aunque sin encontrar la causa, definiéndola como una enfermedad que no era ni contagiosa ni hereditaria.

La historia de la vitamina D es paralela a la del raquitismo y la osteomalacia. Daniel Whistler, un estudiante de medicina, en su libro *De morbo puerili Anglorum* (1645), realiza las primeras descripciones del raquitismo que posiblemente fueron utilizadas por Glisson y sus colaboradores. En 1650 Francis Glisson<sup>(3)</sup> (1597-1677), *regius professor* de la Universidad de Cambridge, escribió un tratado sobre el raquitismo. Aunque otros autores ya

habían descrito casos de raquitismo<sup>(8,9)</sup>, Glisson fue el primero en realizar una descripción adecuada de la enfermedad al informar la epidemia de Sommerset y Dorset<sup>(3-6)</sup>. El raquitismo aparece bruscamente entre 1612 a 1620, en las comarcas de Sommerset y Dorset, y después de varios años se extendió a toda Inglaterra, lo que llamó la atención, en el año de 1645, del Colegio Médico de Londres, el cual nombró a una comisión de ocho miembros para realizar el estudio de esta enfermedad, por ellos denominada *rachitis (d'oùrachitisme)*. Entre ellos se hallaba Glisson<sup>(3)</sup>, acompañado de Bate y Regemorter, quienes después de cinco años, en 1650, describieron su trabajo sobre raquitismo, al cual denominaron *De Rachitide sive Morbo puerili qui vulgo the rickets dicitur, tractatus*.

La palabra *rachitis* (primitivamente *rakitis*) proviene de la palabra griega rhajis, ραχίς (*épine du dos*), que significa espina del dorso, actual raquis, y nos recuerda que la enfermedad puede tener relación con el raquis, aun cuando esta relación es rara. En inglés antiguo se utilizaron las palabras *wrikken to twist* que significa “encorvado, torcido”.

Después de la descripción clínica del raquitismo hecha por Glisson, otros investigadores del siglo XVII empezaron a cuestionar el origen de la enfermedad y surgen varias hipótesis, como la de Mayow<sup>(7)</sup>, en 1671, sobre el concepto primitivo del remodelamiento de los huesos.

#### 2.1.4. SIGLOS XVIII - XIX

Con la "Revolución Industrial" el raquitismo y la osteomalacia adquirieron caracteres epidémicos en muchas zonas de Inglaterra, al combinarse la relativa escasez de luz solar con el filtrado de la luz ultravioleta por el humo de las fábricas y con las jornadas de trabajo interminables de niños y mujeres en talleres y minas.

Rudolph Virchow<sup>(8)</sup>, en su artículo clásico de raquitismo, menciona la descripción de las observaciones de Whistler en 1645. Los estudios de Cappel<sup>(5)</sup> y especialmente de Virchow, en 1853, muestran en las pinturas de sus casos que el compromiso a nivel de los huesos se encuentra en la epífisis de los huesos largos y a nivel de la sutura de los huesos del cráneo.

Van Den Velde<sup>(5)</sup>, en 1700, nota la desviación del canal medular y Van Swieten<sup>(5)</sup>, un famoso internista de la primera escuela de Viena, relaciona, por primera vez, una etiología alimenticia con el origen del raquitismo y plantea que la causa del raquitismo es la "acidez de los alimentos". Posteriormente Levacher de la Feutrie<sup>(9)</sup>, en 1772, insiste en el papel patogénico de una "alimentación deficiente", concepto que es ampliado por Bouvier<sup>(5)</sup> en 1837.

Durante el siglo XVIII surgen otros informes clínicos de la enfermedad realizados por Duverney<sup>(5)</sup> en 1751, Büchner<sup>(5)</sup> en 1754, y los primeros estudios monográficos de J. Comby (*Traité des maladies del'enfance*), de Hutinel el Tixier (*Maladies des enfants*), de Marfan (*Le rachitisme et sa pathogénie*:

*actualités médicales et traité de médecine et de thérapeutique*) y el trabajo de Babonneix (*Manual des maladies de la nutrition*), quienes realizan una descripción sobre los aspectos clínicos de la enfermedad, como la deformación de los miembros inferiores, del cráneo y de la columna vertebral.

Antes de la descripción de Duverney, Petit<sup>(5)</sup> en 1741 insistía sobre la etiología del raquitismo, especialmente sobre la influencia del destete prematuro. En 1772 Levacher de la Feutrie<sup>(9)</sup> plantea la distinción entre el raquitismo de los niños y la osteomalacia del adulto. Cappel<sup>(5)</sup> en 1787 describe las características de los huesos de los niños con raquitismo. Rufz<sup>(5)</sup> en 1834, en la *Gazette Medicale de París*, realiza la primera descripción del tejido osteoide como un tejido rojizo, elástico y reticular. En 1849, Trousseau<sup>(5,10)</sup> empezó a utilizar el aceite de bacalao en el tratamiento de la enfermedad y amplió el conocimiento del raquitismo en su clínica de L'hôtel Dieu de París.

De 1837 a 1839 aparecieron los importantes trabajos de Guérin<sup>(5)</sup>, quien le dio el nombre de esponjoide al tejido medular de los huesos, por la semejanza que presenta con una esponja, al tejido rojizo que mencionaba Rufz, y estableció la lesión de éste como característica del raquitismo. Broca<sup>(5)</sup> tomó como punto de partida en el estudio de los huesos el análisis de la osteogénesis y mostró que el raquitismo no es sino una desviación, una detención en el proceso de la osificación normal. Rudolph Virchow<sup>(8)</sup> realizó en 1853 uno de los primeros estudios histológicos del raquitismo y llegó a asimilar el proceso como una osteítis parenquimatosa. Desde los siglos XVII y XVIII, Litrè en su diccionario de medicina, Laverán y Teissier en su tratado de

patología interna, Trousseau, Dugés, Parrot<sup>(5)</sup>, todos médicos franceses, planteaban la posibilidad de la herencia como causal del raquitismo.

Guérin<sup>(5)</sup>, Trousseau<sup>(5,10)</sup>, Chossat<sup>(11)</sup> y Rodolf<sup>(5)</sup> fueron partidarios de la etiología alimenticia, en el siglo XVIII, y afirmaron que el raquitismo es producido por una alimentación viciosa, por una insuficiencia en la digestión o, por lo menos, en la asimilación de las sales calcáreas. También en esta época Fourcroy, Lehmann y Marchand<sup>(5)</sup> plantearon la teoría “Tóxica” al encontrar en las orinas de los raquíticos una cantidad de fosfato de cal mayor que la correspondiente al estado normal; posiblemente ésta sería la primera descripción de la fosfaturia en los análisis de orina.

Las primeras descripciones de la anatomía patológica las realiza Rufz de Lavison<sup>(5)</sup> en 1834, quien describe el tejido esponjoso de los huesos raquíticos. J. Guérin<sup>(5)</sup> lo informa a su vez, entre 1837 y 1839, al estudiar los huesos de los niños con raquitismo y describir las alteraciones óseas en el inicio de la enfermedad y las fases de formación, de remodelamiento y de eburnación.

Con el advenimiento del microscopio de luz, gracias a Antón J. Van Leeuwenhoek<sup>(12)</sup>, se inician las primeras descripciones histológicas del raquitismo: Broca en 1852, Ritter Von Rittershain<sup>(5)</sup> en 1863 y Kassowitz<sup>(5)</sup> en 1882. Pommer<sup>(13)</sup> describió la histología de la osteomalacia del adulto en 1885, antes que se señalaran en forma adecuada los aspectos clínicos.



### 2.1.5. SIGLO XX

A finales del siglo XIX, y comienzos del siglo XX, había muchas áreas geográficas con raquitismo y osteomalacia en Europa, posiblemente producto de la desnutrición infantil, el clima, la Primera Guerra Mundial y la ignorancia hasta esa época sobre la causa de la enfermedad; pero, a la vez, allí se desarrollaba una serie de conocimientos médicos que, a la postre, establecieron las bases para un mejor entendimiento. Se explicaba que en la gente humilde de la Alsacia, Inglaterra, Baviera, Bohemia, Suiza, Hungría y el norte de Italia, especialmente en el valle de Oluna, el raquitismo era frecuentemente debido a que las sales de sus aguas eran pobres en sales calcáreas. Charcot, en el hospital San Louis de París, fue uno de los primeros en observar las deficiencias alimenticias. Con este panorama entramos al siglo XX. Después de la Primera Guerra Mundial resurgieron nuevamente las “epidemias de raquitismo”, por la hambruna que se generó a raíz de dicha guerra, se presentaron brotes epidémicos de raquitismo. Es entonces cuando el profesor Clement Pirquet, director de la Kinderklinik de la Universidad de Viena, y Harriette Chick empiezan a dilucidar la etiología del raquitismo<sup>(14,15)</sup>.

A finales del siglo XIX se analizó el conocimiento clínico sobre el raquitismo y la osteomalacia, se empezaron a dilucidar los hallazgos de laboratorio y de radiología, y se hicieron algunos esbozos sobre la etiología, la patogenia, la anatomía patológica y el tratamiento.

Pero es al inicio del siglo XX y hasta finalizar este milenio cuando el conocimiento del raquitismo y de la osteomalacia avanzó desde la descripción clínica hasta la fase molecular, en la descripción y control de estas enfermedades. La historia del factor antirraquítico o vitamina D, en sus primeras fases, la podemos organizar según los estudios históricos del gran investigador Kodicek de Cambridge, quien al recibir el tercer premio de la British Nutrition Foundation del Royal College of Physicians of London, en noviembre de 1973<sup>(16,17)</sup>, los publica en su artículo de la revista *Lancet* y en su libro *Cambridge and Its Contribution to Medicine*. Allí relata que Hopkins<sup>(18)</sup>, en 1906, incluía a los pacientes con raquitismo dentro de las enfermedades causadas por problemas de la dieta, por la carencia de un factor en los alimentos.

En 1919 Huldschinsky<sup>(19)</sup>, en Berlín, analiza los posibles “efectos curativos” de las radiaciones solares, la luz ultravioleta artificial y el aceite de hígado de bacalao en el tratamiento del raquitismo; todo publicado en su artículo “Heilung von Rachitis durch Künstliche Höhen sonne”. Casi simultáneamente Edward Mellanby<sup>(20)</sup>, superintendente del Brown Institute de la Universidad de Londres, trabajaba a nivel experimental utilizando cachorros de perro sometidos a cuatro tipos de dieta. Utilizó el método experimental basado en el estudio de rayos X de los huesos, estimó el contenido de calcio en los alimentos después de muertos los cachorros y revisó la histología de los huesos. Éste sometió a los cachorros a unas dietas experimentales de alimentos naturales en las que utilizó leche, arroz, cloruro de sodio, aceite de linaza, levadura (que tenía la vitamina antiberiberi), jugo de naranja, potaje y

pan. De cuatro dietas que analizó, en todas se indujo el raquitismo; sin embargo en la dieta cuatro, que tenía el compuesto antiberiberi, los cachorros tenían un mejor crecimiento óseo, aunque el raquitismo se producía a las seis semanas. Posteriormente analizó esta dieta, separó aquellos alimentos que previenen el raquitismo. Con ello **Mellanby** logró demostrar a nivel experimental que en el raquitismo experimental existe un factor dietético y en el raquitismo parece estar asociado con un factor soluble en grasas.

De acuerdo con los estudios de Mellanby, los alimentos accesorios para evitar el raquitismo tienen “vitamina A soluble en grasa, que tienen un efecto antiberiberi y antiescorbútico”. Mellanby<sup>(20,21)</sup> se equivoca en la carne, los extractos de carne y los extractos de malta para la prevención y tratamiento del raquitismo, en lo que Elmer Verner McCollum y Marguerite Davis<sup>(22)</sup> le refutaban, pero esto no demerita su valioso trabajo, a pesar de que afirmaba “que existe una considerable evidencia de que el factor soluble A y el factor antirraquítico es idéntico, pero que se requería más trabajo para aclararlo”<sup>(23-25)</sup>.

Los trabajos de Mellanby destacaron el “ambiente como causal de raquitismo”, además de plantear el concepto de “factor antirraquítico”, pero existen otros factores dietéticos en el origen del raquitismo. Mellanby no consideró razones fisiológicas como el origen del raquitismo, pero planteó las primeras bases sólidas para comprender la enfermedad. Korenchevsky<sup>(14)</sup> planteaba que el calcio de la dieta cuatro de Mellanby satisfacía las necesidades de los perros siempre y cuando el 70% de su dieta se absorbiera. Posteriormente Mellanby<sup>(26,27)</sup>, en 1926, planteó la teoría de la toxamina para

designar un compuesto que tienen los cereales, que inhibe especialmente la utilidad del calcio, al cual denominó como una *sustancia anticalcificante*. Mellanby demostró que este compuesto era fósforo orgánico como el ácido fítico; por la baja solubilidad del fitato de calcio, éste previene la absorción del calcio y del fósforo; en esto reside el efecto anticalcificante que mencionaba Mellanby<sup>(27)</sup>.

Chick y sus colaboradores<sup>(15)</sup>, en Viena en 1922, también documentan, a partir de un estudio epidemiológico desarrollado entre 1919 y 1922 en el Medical Research Council, que la exposición de los rayos solares y el aceite de hígado de bacalao son importantes en el tratamiento del raquitismo, lo que permitió el tratamiento sistemático de los niños y la práctica erradicación de esta enfermedad en la mayoría de los países a mediados de la década de 1940. Este es un trabajo epidemiológico clásico porque confirma las observaciones de Huldschinsky<sup>(19)</sup> y Mellanby<sup>(20)</sup>.

En 1917, Leonard Findlay<sup>(28)</sup> también plantea que la causa del raquitismo estaba relacionada con las condiciones higiénicas inadecuadas surgidas con la industrialización. Dick<sup>(29)</sup>, en 1922, plantea que la ausencia de las radiaciones solares, la privación del aire fresco y la ausencia de ejercicio eran los factores relacionados con la etiología del raquitismo.

Tres años después del estudio de Mellanby<sup>(20,21,26,27)</sup>, Elmer Verner **McCollum**, profesor de bioquímica de la Johns Hopkins University, y sus colaboradores demostraron la existencia de un segundo factor soluble en

grasa, al cual posteriormente se denominó vitamina D, que era esencial para la calcificación de los huesos<sup>(23-26)</sup>. Mellanby aceptó la evidencia de este nuevo factor antirraquítico. Por tanto, la existencia de la vitamina D como una sustancia presente en los alimentos fue descubierta en 1922 por Elmer McCollum, al observar que tratando con oxígeno el aceite de hígado de bacalao se destruía una sustancia esencial (el llamado entonces "factor A") pero quedaba otra, la que tenía efecto antirraquítico, que al ser la cuarta vitamina conocida se designó con la letra D. El efecto preventivo de la luz solar sobre el raquitismo ya había sido indicado por Armand Trousseau en 1861. A partir del descubrimiento de la relación entre raquitismo y vitamina D, se pudo establecer que esta sustancia se producía en la piel por la acción de la luz solar e incluso al irradiar algunos alimentos con luz UV.

En 1917 McCollum se traslada al Johns Hopkins University, nombrado como director del departamento de higiene, y se dedica especialmente a lo relacionado con la investigación nutricional y la dieta. Allí fue capaz de inducir varios estados de desnutrición en animales de experimentación al utilizar algunas dietas restringidas<sup>(23)</sup>. McCollum, por ser un investigador básico, no tenía conocimiento para explicar los síntomas y signos de la patología de las diferentes etapas de la desnutrición experimental. Por alguna coincidencia McCollum encontró los colaboradores que necesitaba para desarrollar sus trabajos, entre ellos Nina Simmonds, H. T. Parson, P. G. Shipley, E. A. Park y J. Ernestine Becker, formando el grupo de química del Departamento de Higiene y Salud Pública del Johns Hopkins. Así, en 1918, conoce al Dr. John Howland, profesor y jefe de pediatría de la Universidad Johns Hopkins, quien le

pregunta a McCollum si el raquitismo puede ser inducido en animales de experimentación. McCollum, entusiasmado por la pregunta de Howland, le muestra dos ratas con deformación de la caja torácica y el rosario costal, como casos de posible raquitismo experimental, pero también otras ratas con dietas raquitogénicas modificadas con otros suplementos que no padecían raquitismo<sup>(23)</sup>. Howland, al observar esto, no dudó de que tenían raquitismo experimental e inició su colaboración. A McCollum y Howland se unieron, además, el Dr. Edward Park y el Dr. Paul Shipley, quienes eran expertos en histología de hueso, confirmándose así un grupo que se dedicó a desenredar el misterio del raquitismo, que era una endemia en la población infantil de la época<sup>(23-26)</sup>.

McCollum y su grupo probaron varias dietas ricas en cereales, pero deficientes en vitamina A soluble en grasa y calcio, con lo que lograron observar cambios esqueléticos y aspectos clínicos similares a los que se observan en los niños con raquitismo. Prudentemente, especularon que la causa de la enfermedad podría ser una deficiencia en vitamina A soluble en grasa y calcio en los alimentos o una alteración en el metabolismo de estos factores y pensaron que el factor etiológico pudiese ser un régimen dietético inadecuado<sup>(23-25)</sup>. Se estudió el efecto del aceite de hígado de bacalao administrado a las ratas y se observó que al administrarse por dos a siete días inducía un patrón uniforme de curación. Notaron que el calcio se depositaba a nivel de la zona provisional del cartílago en un patrón uniforme de tipo lineal y la anchura de la calcificación se correlacionó con la duración del tratamiento. Este trabajo señaló una prueba biológica para el depósito del calcio en el

cartílago, a la que se denominó “*line test*” del Johns Hopkins, la cual serviría para detectar la cantidad de vitamina D en los alimentos<sup>(23,26)</sup>.

Estos hallazgos produjeron un enfrentamiento con Mellanby, quien insistía en si la vitamina A soluble en grasa era antirraquítica *per se* o si existía otra sustancia antirraquítica que era soluble en grasa. Para esa misma época F. C. Hopkins informaba que la oxidación destruía la vitamina A soluble en grasa, pero estos datos fueron tomados con precaución por McCollum y Mellanby<sup>(23,30,31)</sup>. Este último demostró que la grasa de la mantequilla oxidada perdía su efecto antirraquítico, pero lo mismo no ocurría en el aceite de hígado de bacalao<sup>(20,32)</sup>. Mellanby explicaba esto afirmando que el aceite de hígado de bacalao tiene más sustancia antirraquítica que la mantequilla, o que existiría otro factor que debería investigarse.

McCollum y sus colaboradores aceptaron la observación de Hopkins y admitieron que el aceite de hígado de bacalao al oxidarse conservaría su actividad antirraquítica; de esta manera, utilizaron dietas a base de mantequilla oxidada y aceite de hígado de bacalao oxidado, aceite de coco, aceites vegetales y aceite de hígado de varios pescados. Lograron escoger la dieta<sup>(33,34)</sup>, y a través del *line test* lograron demostrar que, al oxidar el aceite de hígado de bacalao, éste expedía la capacidad antixeroftálmica (a través de la vitamina A), pero conservaba la propiedad de depositar el calcio en el cartílago de las ratas; por lo tanto se trataba de una sustancia soluble en grasa diferente de la vitamina A, que de acuerdo con las frases de McCollum y sus colaboradores tiene “specific property was to regulate the metabolism of the

bones”: siguiendo la secuencia del descubrimiento de las vitaminas, como ya se ha comentado, la nueva sustancia antirraquítica descubierta era la cuarta, por lo que recibió el nombre de vitamina D<sup>(23,30)</sup>.

El interés compartido por Howland y McCollum<sup>(23,25,26)</sup> les permitió desarrollar un estudio cooperativo para analizar el crecimiento de los huesos y la influencia que tiene la dieta. A diferencia de los otros estudios, éste introdujo las observaciones histológicas, especialmente en las áreas del crecimiento óseo; este grupo tuvo presente el conocimiento de la historia sobre las diferentes propuestas etiológicas, resumidas a continuación:

- Las observaciones de Glisson y Findlay sobre condiciones higiénicas inadecuadas<sup>(26)</sup>.
- Los estudios de Kassowitz sobre la incidencia del raquitismo en los meses de invierno, escrito en 1884<sup>(26)</sup>.
- Los estudios de Palm, en 1890, sobre los estudios topográficos del raquitismo y la luz como agente terapéutico<sup>(35)</sup>.
- Los experimentos de Raczynski, en 1912, sobre la eficiencia de las radiaciones solares<sup>(36)</sup>.
- Los estudios de Huldshinsky, quien en 1919 afirmaba que los rayos ultravioletas ejercen un efecto curativo sobre el raquitismo<sup>(19)</sup>.
- La creencia general de que el aceite de hígado de bacalao era de un gran valor terapéutico<sup>(26,33)</sup>.



Con base en estos antecedentes McCollum y Davis<sup>(22)</sup> empezaron a trabajar con sus dietas experimentales en ratas, pero utilizando ingredientes orgánicos y sólo variando algunos ingredientes inorgánicos con elementos ácidos y básicos. Estos experimentos los realizaron durante cinco años con las diferentes dietas a nivel experimental, lo que les permitió mayor rigor en sus observaciones y clarificar el otro factor soluble en grasa que tenía efectos antirraquíticos. Con la ayuda de Park y Shipley, pediatras del Johns Hopkins, lograron estudiar las epífisis de las tibias de las ratas y analizar los diferentes componentes del hueso, como la matriz osteoide, el hueso trabecular, la calcificación, la actividad de los osteoblastos y de los osteoclastos<sup>(26,31,37)</sup>. Introdujeron los estudios radiológicos para el estudio del raquitismo y el uso del ion fósforo para su tratamiento y prevención.

Este grupo revisó en forma magistral los estudios de Schmorl<sup>(38)</sup>, Mellanby<sup>(20,21,39,40)</sup> y el de Sherman y Pappenheimer<sup>(41,42)</sup>, publicados entre 1919 y 1921, que demostraron la existencia de otro factor soluble diferente a la vitamina A; analizaron la observación de Hopkins<sup>(43)</sup> sobre la oxidación de las grasas solubles y la pérdida del efecto curativo sobre la xeroftalmia (deficiencia de la vitamina A); y los aportes de Mellanby<sup>(40)</sup>, quien en forma inteligente planteó la posibilidad de otro factor soluble en las grasas diferente a la vitamina A, que él llamó sustancia antirraquítica. Con la colaboración de varios investigadores, como J. Ernestine Becker, P. G. Shipley, E. A. Park y Nina Simmonds, McCollum y Davis demostraron que esta sustancia antirraquítica, que se encontraba especialmente en el aceite de hígado de bacalao, era otra vitamina liposoluble, y desarrollaron la técnica del *Line test* para el ensayo del

método biológico para la nueva vitamina; demostraron que en la dieta<sup>(33,34)</sup> se induce raquitismo entre los días 19 y 20 después de exponerse a la dieta y que los huesos de las ratitas mejoran entre los 6 y 8 días después de administrarse la sustancia antirraquítica que el grupo de McCollum denominó vitamina D<sup>(30,31,44-51)</sup>.

Casi simultáneamente a los estudios de Mellanby<sup>(20,21,41)</sup> y de McCollum<sup>(31,44,47-51)</sup> se encuentra la figura de Frederick Gowland Hopkins, quien desde 1906 empezó a trabajar en los aspectos dietéticos, pero a través de la química y la fisiología. En su primer ensayo sobre este tópico titulado “The analyst and the medical man”, de 1906, Hopkins<sup>(77)</sup> asegura que el escorbuto y el raquitismo se relacionaban con alguna deficiencia de nutrientes en la dieta y planteaba el desconocimiento que se tenía de los aspectos dietéticos en el origen de estas enfermedades. El mismo Mellanby<sup>(52)</sup> reconocía la importancia de las propuestas de las dietas de F. G. Hopkins de 1905-1907, las cuales eran bastante revolucionarias y generaron un amplio campo en la investigación de las enfermedades por deficiencias de vitaminas.

Posteriormente, Hopkins<sup>(53)</sup> publica “Feeding experiments illustrating the importance of accessory food factor in normal dietaries”. En este artículo Hopkins, que trabajaba en Cambridge, refiere algunos estudios preliminares desarrollados en el Guy’s Hospital, describiéndolos de la siguiente manera: “the experiment described in this paper confirm the work of other in showing that animals can not grow when fed upon so-called synthetic dietaries consisting of mixtures of pure proteins, fast, carbohydrates, and salts”. Estos trabajos de

Hopkins empezaron a plantear la posibilidad de la presencia de otros factores en la nutrición: las vitaminas<sup>(54)</sup>. Hopkins fue el gran soporte del conocimiento y la divulgación de las vitaminas; por ello, en 1929 recibió el Premio Nobel de Medicina; sin embargo, durante su conferencia “afirmaba que no era el descubridor de las vitaminas”<sup>(55)</sup>.

La palabra vitamina fue utilizada inicialmente por Casimir Funk en 1911 y 1912<sup>(56-58)</sup> cuando se encontraba trabajando en el aislamiento de una sustancia antiberiberi del arroz. Funk<sup>(56)</sup> concebía a las vitaminas como sustancias nitrógenas que en pequeñas cantidades eran esenciales en la dieta de los pájaros, hombres y animales. Funk no recibió suficiente reconocimiento, a pesar de su contribución con el libro *The vitamins*, cuya primera edición se realizó en 1913<sup>(58)</sup>; pero Hopkins sí le dio el crédito al recibir el Nobel en 1929<sup>(53)</sup>.

Hopkins además impulsa el Dunn Nutritional Laboratory, donde trabajan una serie de investigadores que logran desarrollar el inicio de los conceptos sobre nutrición y los estudios de las vitaminas<sup>(55)</sup>.

En la década de 1930, Adolf Windaus descubrió la estructura química de la vitamina D y su relación con los esteroides. Recibió por ello el premio Nobel en 1928, el primero en cuya concesión se mencionan las "vitaminas".

### 2.1.5.1. El inicio de la producción de la vitamina D<sub>3</sub>

A comienzos del siglo XX, e incluso a finales del siglo XIX, el raquitismo era la enfermedad más frecuente en los niños de Inglaterra, del área de Boston en Estados Unidos y de otros países. Los investigadores a partir de 1890 empezaron a plantear la posibilidad de utilizar algunos alimentos para prevenir el raquitismo, el escorbuto y el beriberi que hacían estragos en la población de la época. Con el descubrimiento de las vitaminas A, B, C, y D, y especialmente con el descubrimiento del factor antirraquítico, compañías tales como Hoffman-La Roche y BASF empezaron a producir formas primarias de vitamina D, conocida como vitamina D<sub>3</sub> o colecalciferol, para tratar con urgencia la endemia del raquitismo. Estas compañías purificaron colesterol de productos animales, tales como la lanolina de las lanas de ovejas o de carnero. La lanolina la utilizaban como material de purificación del precursor del 7- dehidrocolesterol, el cual era convertido a vitamina D<sub>3</sub> por irradiación. Posteriormente esa vitamina D<sub>3</sub>, en forma primaria, se le fue añadiendo a muchos alimentos, como era la idea de los investigadores de 1890, y hoy día esta vitamina D<sub>3</sub> se incorpora a las diferentes sales de calcio y a las multivitaminas.

Entre 1920 y 1940 el desarrollo de la osteología es bastante interesante, ya que en una de sus ramas el interés de un grupo de investigadores se centraba en conocer la estructura de la sustancia antirraquítica o vitamina D. Para ello se establecieron y organizaron varios grupos de investigación dedicados a analizar la estructura química de la vitamina D<sub>2</sub>, como lo fueron el de Askew, Bourdillon, Bruce, Jenkins y Webster<sup>(59)</sup>, en 1931, y el grupo de A.

Windaus y sus colaboradores<sup>(60,61)</sup>, que no solo investigaron la estructura de la vitamina D<sub>2</sub> sino también de la D<sub>3</sub>, en conjunto con F. Schenck. Windaus, por estos estudios, se hizo acreedor al Premio Nobel de Química. Windaus y cols.<sup>(62)</sup>, en 1936, y Schenck<sup>(63)</sup>, en 1937, pensaban que la vitamina D actuaba en todo el cuerpo sin alteración, pero posteriormente Cruickshank y Kodicek<sup>(64,65)</sup>, en 1953 y 1954, plantearon que la vitamina D debía metabolizarse antes de iniciar sus funciones. Kodicek y colaboradores<sup>(65,66)</sup>, en 1955, aislaron la vitamina D<sub>2</sub>.

Casi simultáneamente con los estudios de Windaus y Schenck<sup>(63)</sup>, Fuller Albright<sup>(67-71)</sup>, entre 1935 y 1945 en Boston, describió la mayor parte de las osteopatías metabólicas y estableció los mecanismos fisiopatológicos, urinarios y fecales del calcio, fósforo, creatinina y nitrógeno, que lo llevaron a describir varias entidades clínicas como el hipoparatiroidismo idiopático<sup>(72)</sup>, y la posibilidad de su tratamiento mediante el atio, un símil de la vitamina D; la descripción y el tratamiento de la osteomalacia causada por la esteatorrea; la osteítis fibrosa renal; el raquitismo resistente a la vitamina D; la displasia fibrosa poliestótica; la nefrocalcinosis con raquitismo y enanismo; y en el adulto, la acidosis tubular renal con osteomalacia, el pseudohipoparatiroidismo, el pseudopseudohipoparatiroidismo y los aspectos clínicos y fisiológicos del hiperparatiroidismo y la osteomalacia. Igualmente, introdujo por primera vez en endocrinología el concepto de resistencia del órgano efector, impulsó las mediciones del calcio y los estudios óseos<sup>(69-83)</sup>.

El método denominado por Mautalen<sup>(67)</sup>, como “albrightoniano”, inducía la hospitalización de los pacientes durante semanas y meses para realizar los balances metabólicos mediante la medición cuidadosa de los alimentos y las excreciones. Albright<sup>(79)</sup> definió correctamente la enfermedad denominada osteoporosis y sugirió de ella tres tipos: posmenopáusica, senil y por desuso, e indicó que el tratamiento con estrógenos era la base de su prevención y tratamiento; pero esta visión de Albright sólo se pudo aplicar 40 años después de su observación<sup>(84)</sup>.

Albright publicó con Edward Reifstein en 1948 el libro titulado *The parathyroid glands and metabolic bone disease: selected studies*, el cual, como dice el profesor Mautalen<sup>(67)</sup>, se convirtió en la biblia de todos los estudiosos del metabolismo del calcio e introdujo la terminología de las enfermedades metabólicas óseas<sup>(67)</sup>.

#### **2.1.5.2. Otros descubrimientos entre 1920 y 1940**

Además del conocimiento de varias enfermedades metabólicas óseas adquirido en estos veinte años, estas dos décadas fueron fructíferas en el desarrollo del diagnóstico del raquitismo y de la osteomalacia, y en el conocimiento de la vitamina D.

Kramer, Tisdall y Howland<sup>(26)</sup>, utilizando algunas pruebas desarrolladas en el Johns Hopkins, pudieron establecer en ratas normales y con raquitismo la deficiencia de fosfato y de calcio, es decir, sin definir lo que estaban

observando era claro que existía una hipofosfatemia en un grupo de ratas raquíticas y una hipocalcemia que se podía mejorar de acuerdo con la dieta deficiente; esto lo desarrollaron entre 1921 y 1922. Iversen y Lenstrup<sup>(26)</sup> en 1919 informaron que se podían incrementar los niveles de fósforo inorgánico al utilizar el aceite de hígado de bacalao. En 1923 Goldblatt y Soames<sup>(85)</sup> demuestran que las ratas a quienes se les irradia el hígado, sometidas a una dieta raquítica, adquieren una actividad antirraquítica, en contraposición de aquellas ratas que, sometidas a una dieta similar, no se irradiaban.

Esta importante observación fue confirmada por Steenbock y Black<sup>(86,87)</sup> en 1924 y por Hess y Weinstock<sup>(88)</sup> en el mismo año, quienes no solo irradiaron el hígado de las ratas raquíticas sino el de las ratas sanas, demostrando con ello que al irradiar el hígado se induce la producción de vitamina D y no la de vitamina A. Dos años después de estos descubrimientos, Rosenheim y Webster<sup>(26)</sup> encontraron que al irradiar el colesterol, el 99% de éste no se modificaba, pero se transformaba en ergosterol porque la sustancia que se utilizó se deriva del aceite de ergot (o cornezuelo de centeno). Además de Rosenheim y Webster<sup>(26)</sup>; Hess, Weinstock y Helman<sup>(26)</sup>, en forma independiente, en 1925; Schultz y Morse<sup>(26)</sup>, en 1925; y Schlutz y Ziegler<sup>(26)</sup>, en 1926, adelantaron investigaciones, todas relacionadas con la radiación del colesterol y su transformación en ergosterol. La identificación del ergosterol como provitamina D fue enunciada en forma independiente por Rosenheim y Webster en 1927 y por Windaus y Hess en el mismo año<sup>(26)</sup>.

Tres años después Bourdillon, Askew, Bruce, Jenkins y Webster entre 1930 y 1931, utilizando un procedimiento de destilación, aislaron en forma cristalina la vitamina D y evolucionaron de un procedimiento de precipitación a uno de destilación; en esta fecha se da un paso importante para entender la fisiología de la vitamina D. Este grupo inglés también desarrolló, en 1931, un método fotográfico a través de rayos X para analizar en forma simple los diagnósticos de problemas óseos<sup>(26)</sup>. En 1932, Kay<sup>(26)</sup> se inventa un método para determinar la enzima fosfatasa en el suero de los niños con raquitismo, que se encuentra elevada y se modifica con la administración de la vitamina D. Esta enzima se encarga de hidrolizar los ésteres de los ácidos fosfóricos.

Otra de las observaciones interesantes que pasó desapercibida fue la de Orr, Holt, Wilkens y Boone<sup>(89)</sup>, quienes estudiaron el calcio y el fósforo en los pacientes con raquitismo: de acuerdo con las observaciones previas realizadas por Kramer<sup>(26)</sup>, lograron demostrar que en estos niños existía una pérdida de calcio por la materia fecal y que la terapia con luz ultravioleta podía mejorar la enfermedad al incrementar la absorción de calcio a nivel intestinal. Sin embargo, esta última observación no fue aceptada, ya que existía el paradigma, de acuerdo con la creencia que se tenía, de que la vitamina D inhibía el movimiento del calcio del plasma al intestino, como lo anotaba Harris<sup>(90)</sup> en su artículo “Vitamins”, publicado en 1937. A pesar de esto, ellos demostraron que la vitamina D en la piel de los perros es 7-dehidrotaquisterol. En el mismo año un investigador extraordinario de origen noruego, R. Nicolaysen<sup>(91-98)</sup>, utilizando una serie de métodos fisiológicos, demuestra que la

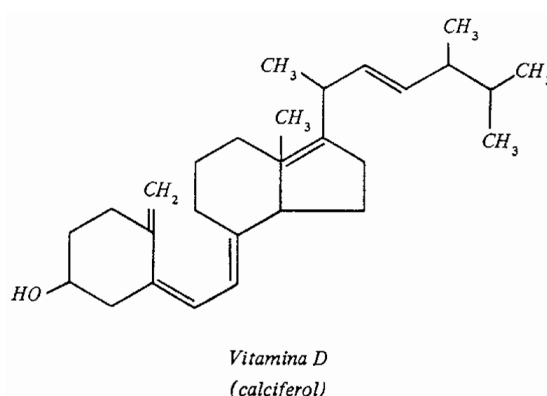


vitamina D incrementa la absorción intestinal de calcio en las ratas raquíticas, confirmando la hipótesis de Orr y colaboradores de 1923<sup>(89)</sup>.

Con trabajos de Nicolaysen<sup>(91-98)</sup> se inicia el entendimiento, no solo del metabolismo de la vitamina D, sino el inicio del tratamiento lógico del raquitismo y de la osteomalacia, después de numerosas observaciones narradas en esta historia.

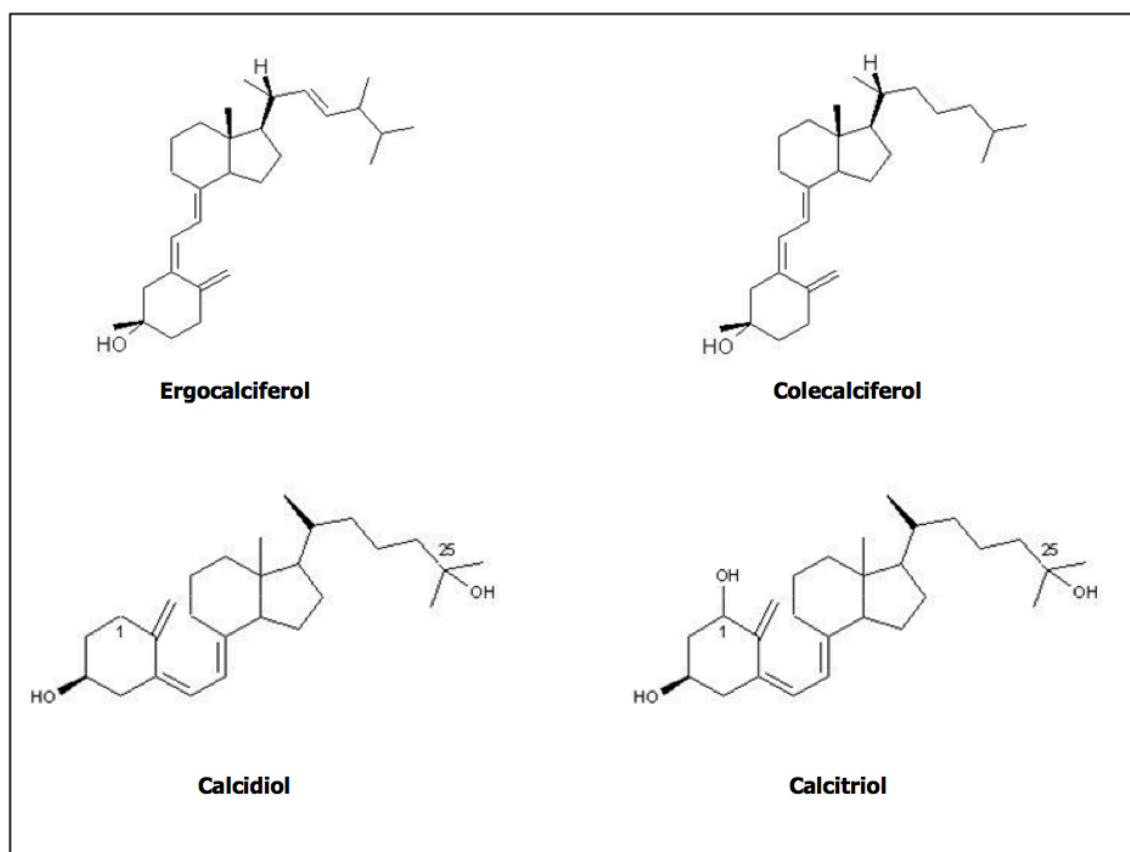
## 2.2. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA VITAMINA D

La vitamina D o calciferol es un heterolípido insaponificable del grupo de los esteroides que presenta hasta 25 formas biológicas diferentes, de las cuales dos son importantes en nutrición animal: D<sub>2</sub> (ergocalciferol) y D<sub>3</sub> (colecalciferol). Ambos vitámeros, con idéntica actividad biológica, se diferencian en la cadena lateral fijada al C17: saturada para la D<sub>3</sub> e insaturada (C22 y C23) y metilada (C24) para la D<sub>2</sub>, aunque sus 1,25-dihidroxi-metabolitos tienen una potencia biológica equivalente.



**Figura 1. Representación gráfica de la estructura química de la vitamina D**

Existen numerosos derivados de la vitamina D que desempeñan un papel particularmente importante a nivel metabólico (figura 2). Los más importantes son: el calcidiol, el calcitriol y la 24,25-vitamina D<sub>3</sub>, aunque la actividad de esta última es aún hoy discutida. Su actividad vitamínica parece estar ligada a la presencia de tres dobles enlaces en el ciclo abierto.



**Figura 2. Estructura química de la familia de la vitamina D**

La vitamina D se presenta bajo el aspecto de un polvo cristalino blanco-amarillento. Es fácilmente soluble en éter y cloroformo, ligeramente soluble en aceites y grasas e insoluble en agua.

La vitamina D es sensible a la luz, al oxígeno y a los ácidos, degradándose rápidamente. Es una vitamina liposoluble y relativamente termosensible, ya que en forma cristalizada es bastante estable al calor pero, por el contrario, en solución oleosa se isomeriza.

## 2.3. TERMINOLOGÍA

En la literatura la vitamina D viene expresada de diferentes maneras. Las formas más frecuentes se encuentran resumidas en la tabla 1.

**Tabla 1. Terminología de la vitamina D**

<b>Equivalencias</b>	<b>1<math>\mu</math>g = 2.5 nmol</b>
	<b>1<math>\mu</math>g = 40 UI</b>
	<b>1 ng/ml = 2.5 nmol/l</b>
<b>Abreviaturas y sinónimos</b>	25-hidroxivitamina D = 25(OH)D = calcidiol
	1,25-dihidroxivitamina D = 1,25(OH) <sub>2</sub> D = calcitriol
	Vitamina D = calciferol
	Vitamina D <sub>2</sub> = ergocalciferol
	Vitamina D <sub>3</sub> = colecalciferol

## 2.4. DETERMINACIÓN ANALÍTICA DE LA VITAMINA D

Existen dos tipos de vitamina D que pueden determinarse en plasma: la 25-OH-D<sub>3</sub> o colecalciferol, derivada de la vía endógena y la 25-OH-D<sub>2</sub> o ergocalciferol, que obtenemos de la dieta, fundamentalmente de vegetales y

pescado. Normalmente, la 25-OH-D<sub>3</sub> representa aproximadamente el 95% del pool total circulante de 25-OH-D, mientras que la 25-OH-D<sub>2</sub> representa una fracción minoritaria, a menos que se empleen suplementos que contengan vitamina D<sub>2</sub>.

La 25-OH-D o calcidiol es el principal precursor del calcitriol, metabolito biológicamente activo del sistema hormonal de la vitamina D. Su semivida y el ser la forma circulante predominante en plasma han hecho que sea considerada el mejor marcador para estimar el estado de vitamina D en humanos<sup>(99,100)</sup>.

La determinación de 25-OH-D presenta algunos retos, como la elevada lipofilia de la molécula, la unión a proteína de transporte (VDBP), la existencia de dos formas estructurales similares de diferente origen (endógeno y exógeno) con múltiples metabolitos, así como la precisión y reproducibilidad de los métodos disponibles.

La metodología empleada en cada estudio influye de manera notable en la medición de la 25-OH-D, pues existe una gran variabilidad entre los valores obtenidos por unos métodos y otros, e incluso con la misma metodología se han observado diferencias interlaboratorio<sup>(100-102)</sup>.

Hasta finales de la década de los 80 el método analítico utilizado principalmente para aislar la 25-OH-D era el ensayo de unión competitiva a proteína o CPB ("Competitive Protein-Binding assay")<sup>(103)</sup>, siendo desplazado

ya en los 90 por los tests comerciales de radioinmunoanálisis o RIA (“Radioimmunoassay”). Posteriormente, cuando se quisieron comparar las medidas de la 25-OH-D de distintos estudios internacionales obtenidas con CPB y RIA, se encontraron grandes discrepancias, impidiendo que se pudieran hacer comparaciones entre países.

Como ya se ha comentado, las variaciones interlaboratorio en la medida sérica de la 25-OH-D dificultan la comparación entre estudios de diferentes países. En 1999, Lips y colaboradores analizaron tres técnicas analíticas distintas con las que determinar la concentración sérica de la 25-OH-D: HPLC (cromatografía líquida de alta eficiencia), la más utilizada actualmente, RIA y CPB. La medida de los niveles séricos de la 25-OH-D fue un 80% más alta cuando la medida fue realizada mediante CPB que cuando se realizó mediante HPLC, mientras el RIA daba valores intermedios<sup>(104)</sup>.

Actualmente la medición de 25-OH-D puede realizarse mediante inmunoensayo, HPLC y LC-MS/MS (cromatografía líquida en tándem con espectrómetro de masas). Algunos inmunoensayos automatizados de varias casas comerciales como DiaSorin y Roche Diagnostics han estado disponibles durante un tiempo, pero recientemente la exactitud y precisión de estos test ha demostrado ser insatisfactoria<sup>(100)</sup>. Existen dos dificultades importantes para la determinación de la 25-OH-D mediante inmunoensayo automatizado: La 25-OH-D es fuertemente hidrofóbica en sangre y está ampliamente unida a la VDBP, y generar anticuerpos contra las pequeñas moléculas de 25-OH-D es complicado. Para mayor complejidad la FDA estipula que los ensayos para

determinar la 25-OH-D deben detectar tanto 25-OH-D<sub>2</sub> como 25-OH-D<sub>3</sub>. Los actuales inmunoensayos emplean anticuerpos poli o monoclonales dirigidos contra la 25-OH-D. Sin embargo, la competitividad entre el anticuerpo contra la 25-OH-D y la VDBP en muestras sanguíneas hace difícil el control de estos ensayos. Esto es de particular relevancia en lo concerniente a la primera fase de los ensayos, en la que la 25-OH-D y la VDBP no son separadas completamente. Este tipo de ensayos han demostrado poca correlación con otras técnicas de mayor calidad, tales como LC-MS/MS<sup>(100)</sup>, aunque por otro lado la disponibilidad de estos inmunoanálisis automatizados permite asumir desde el punto de vista asistencial el aumento en la demanda de la determinación de este parámetro.

En 2010 Tai y colaboradores desarrollaron un método de cromatografía líquida en tándem con espectrómetro de masas (LC-MS/MS) que más tarde el *Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine* ha reconocido como el método de referencia para la medición de 25-OH-D<sup>(105)</sup>. Su complejidad y la necesidad de personal muy especializado en su manejo lo convierten en un método poco útil en la práctica diaria.

Górriz y colaboradores realizaron un estudio comparando dos tipos de inmunoensayo, Elecsys Vitamin D Total (Roche®, Mannheim, Alemania) y ADVIA Centaur Vitamin D Total (Siemens®, Frimley Camberley, Reino Unido) encontrando diferencias significativas entre ambos métodos,  $33.6 \pm 16$  y  $19.8 \pm 12.4$  ng/ml respectivamente. Estas diferencias fueron mayores en el grupo que recibían suplementos con vitamina D. Además la prevalencia de

déficit de vitamina D ( $<20$  ng/ml) fue más alta para las muestras medidas por Siemens® (60.2%) que para las medidas por Roche® (23.5%), lo cual puede tener implicaciones directas en la interpretación y decisión médica<sup>(106)</sup>.

Un reciente trabajo publicado en la revista *Nutrients* muestra una adecuada concordancia entre el método automatizado por electroquimioluminiscencia de Roche® y la HPLC modificada (Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH®, Heimbургstrasse, Munich, Alemania), especialmente en muestras con bajos niveles de 25-OH-D<sub>2</sub>, en las que la concordancia global es del 91% y el coeficiente de Pearson es de 0.96<sup>(107)</sup>.

Otro problema añadido a las determinaciones analíticas de la 25-OH-D es que algunos inmunoensayos no miden la 25-OHD<sub>2</sub>, por lo que se está infraestimando la cantidad total de 25-OH-D. Este es el caso de los individuos que toman preparados farmacéuticos de vitamina D a base de ergocalciferol y, que por tanto, tendrán una considerable concentración de 25-OHD<sub>2</sub> en sangre<sup>(108)</sup>.

Ante estas discrepancias, la estandarización de los inmunoanálisis para la medición de vitamina D con un material de referencia apropiado es una necesidad imperativa ya sugerida por algunos grupos<sup>(106,109)</sup>. Con el lanzamiento del material de referencia estándar (SRM) 972 por el Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST) de Estados Unidos y la puesta en marcha en 2010 del Programa de Estandarización de la Vitamina D (VDSP) se prevé la armonización en todos los ensayos de vitamina D<sup>(100)</sup>.

Es importante que, en caso de realizar un cambio en la metodología utilizada para la determinación de este parámetro, el laboratorio debería informar a los clínicos de las características del método en cuestión, ya que las diferencias entre los resultados de vitamina D obtenidos por los diferentes ensayos tendrán consecuencias directas en la interpretación y decisión médica.

## **2.5. FISIOLOGÍA DE LA VITAMINA D**

### **2.5.1. FUENTES DE VITAMINA D**

Los seres humanos obtenemos la vitamina D de forma endógena a través de la exposición solar y de forma exógena a través de la dieta y suplementos dietéticos.

#### **Fuente endógena**

La mayor parte de la vitamina D en el ser humano que habita en países soleados procede de la síntesis cutánea (vitamina D<sub>3</sub>) en las capas basal y espinosa de la epidermis. Las radiaciones ultravioletas B (UVB) convierten el 7-dehidrocolesterol (provitamina D<sub>3</sub>) en la piel a previtamina D<sub>3</sub>, forma inestable, que se isomeriza posteriormente a vitamina D<sub>3</sub> (colecalfiferol). También se puede encontrar 7-dehidrocolesterol en la dermis, aunque en cantidades muy pequeñas. Los queratinocitos no sólo producen calcitriol al incidir los rayos UV solares sobre el 7-dehidrocolesterol, sino que además, partiendo del calcidiol orgánico, sintetizan calcitriol y 24,25-vitamina D<sub>3</sub> pero sin contribuir



significativamente a los niveles circulantes de estos metabolitos<sup>(110)</sup>. Mediante la proteína transportadora de vitamina D (VDBP) o transcalciferina alcanza el torrente sanguíneo para ser metabolizada en el hígado.

La capacidad de formar esta prohormona está influida por la pigmentación de la piel, la latitud, altitud, edad y la protección y exposición a la radiación UVB, entre otros factores. La producción endógena de vitamina D es de gran importancia en cualquier latitud. En las franjas tropicales y subtropicales (45° latitud norte y 45° latitud sur), donde prácticamente se congrega el 80% de la población mundial, es donde la síntesis endógena contribuye en mayor medida al estatus nutricional de vitamina D. Aunque es difícil de evaluar, esta síntesis podría cubrir del 50% al 90% de las necesidades<sup>(111)</sup>. En cambio, en los países de latitudes más septentrionales, esta contribución es menor, siendo más probable la aparición de deficiencia de vitamina D.

Las recomendaciones sobre la cantidad de exposición solar capaz de satisfacer las necesidades corporales de vitamina D son muy controvertidas y varían de un autor a otro. En 2002, Holick indicaba que la exposición de la cara, manos y brazos de dos a tres veces por semana (el tiempo depende del tipo de piel, latitud y época del año) representaría la tercera parte o la mitad de la dosis mínima de radiación UV necesaria para provocar un eritema<sup>(112)</sup>. Es la llamada dosis mínima eritematosa o MED (“minimal erythema dose”). Siguiendo estas recomendaciones durante la primavera, verano y otoño estarían cubiertos los requerimientos corporales de vitamina D durante todo el

año. En otras palabras, la dosis semanal de alrededor de 1 MED en estas zonas corporales debería ser suficiente para prevenir la deficiencia de vitamina D. Otros autores apuntan que 5-10 minutos, dos o tres veces por semana, serían suficientes para producir eficazmente vitamina D<sup>(113)</sup>. En latitudes extremas del norte o del sur, durante el invierno, la exposición de la cara y las manos durante 30 minutos por semana podría ser suficiente para evitar deficiencias<sup>(114)</sup>.

Los dos principales factores que determinan la cantidad de vitamina D<sub>3</sub> que puede producirse fotoquímicamente por la exposición solar son la cantidad de sustrato y las características de la luz, en cuanto a intensidad y longitud de onda. Además de estos existen distintos factores que influyen en la síntesis endógena de la vitamina D: factores ambientales (latitud, estación del año, hora del día, altitud, condiciones climatológicas, reflexión, polución ambiental, concentración de oxígeno en la atmósfera y estratosfera, etc) y factores dependientes del individuo o de sus hábitos:

1. **Cantidad de 7-dehidrocolesterol (provitamina D<sub>3</sub>) en la piel:** En situaciones de nutrición adecuada suele haber una cantidad suficiente (25-50 µg/cm<sup>2</sup>) de 7-dehidrocolesterol<sup>(110)</sup>.
2. **Edad:** Con la edad (concretamente en los ancianos) se ve disminuida la cantidad de 7-dehidrocolesterol que hay en la dermis y, además, existe una menor exposición solar (limitaciones motoras, institucionalización, etc.). A partir de los 50 años, la síntesis cutánea de

vitamina D es un 50% menor que en los sujetos de 20 años, disminuyendo hasta el 25% en las personas mayores de 70 años.

**3. Pigmentación (cantidad de melanina) y queratinización de la piel:** La síntesis de vitamina D está regulada por dos procesos: la pigmentación y la queratinización del estrato córneo, el cual permite regular la cantidad de radiación UV que penetra desde la capa externa de la piel hasta el lugar de síntesis de vitamina D. La melanina cutánea compite con la provitamina D<sub>3</sub> por los fotones de luz UV, limitando así la producción de vitamina D<sub>3</sub> en la piel. Por ello, en las personas de piel oscura la producción de vitamina D<sub>3</sub> es menor, requiriéndose mayor exposición solar para la biosíntesis de cantidades similares de vitamina D. Por otro lado, una hiperqueratinización provocaría un engrosamiento del estrato córneo<sup>(114)</sup>. En función de estos dos procesos, se puede clasificar a las pieles en blancas (despigmentadas y desqueratinizadas), amarillas (principalmente queratinizadas) y negras (principalmente pigmentadas). Los distintos tipos de pieles son adaptaciones del estrato córneo para maximizar la penetración de las radiaciones UV en las latitudes septentrionales y minimizarlas en las latitudes cercanas al ecuador, manteniéndose así la síntesis de vitamina D dentro de los límites fisiológicos. Así se explica la menor concentración de calcidiol en personas de piel oscura. De hecho, hay una correlación inversa entre la latitud y el color de la piel, la cual se vuelve más blanca a medida que se eleva la latitud mejorando la biosíntesis cutánea de vitamina D<sup>(114)</sup>. El bronceado (pigmentación y queratinización) que aparece tras la

exposición al sol, por ejemplo durante el verano, contribuye a reducir la síntesis de vitamina D.

4. **Uso de cremas protectoras:** La mayoría de las cremas con protección solar combinan un fotoprotector químico (que absorbe los rayos UV) con un fotoprotector físico inorgánico, dando así un amplio espectro de protección. Aunque, actualmente los fotoprotectores solares en España no contienen ácido p-aminobenzoico o PABA (filtro químico UVB que interfiere con la síntesis cutánea de vitamina D<sub>3</sub>), hay que recordar que en el pasado sí se utilizaron<sup>(115)</sup>. En 1987, Matsuoka y sus colaboradores, observaron que las personas que utilizaban crema protectora con factor 8 (agente protector PABA) cuando se exponían al sol, presentaban valores de calcidiol sérico inferiores a los que no la utilizaban<sup>(116)</sup>. La administración tópica de cremas solares con factor de protección mayor de 8 reduce hasta un 95% la síntesis cutánea de vitamina D<sub>3</sub>; por ello, a aquellas personas que necesiten utilizar estos productos se les debe recomendar tomar el sol durante 15 minutos antes de aplicarlos en la piel.

5. **Ropa:** La ropa evita la fotosíntesis de la vitamina D<sub>3</sub><sup>(115)</sup>. A menor área corporal expuesta, menor síntesis de vitamina D<sub>3</sub>. La elección de la ropa, tanto el tipo de tejido como la cantidad, puede influir en los niveles séricos de vitamina D.

6. **Conducta en relación a la exposición solar:** En general, las PEA no suelen exponerse mucho al sol, ya sea por decisión propia para evitar los posibles efectos perjudiciales del sol, en el caso de las PEA de vida independiente, o porque tengan limitadas las salidas al

exterior, en el caso de las PEA que permanecen recluidas en instituciones. En el estudio multicéntrico SENECA se observó que las PEA de los países del sur de Europa tendían a evitar la exposición al sol (por miedo a los efectos dañinos de las radiaciones) mientras que las que vivían en los países del norte, intentaban pasar el mayor tiempo posible expuestas al sol. Esta condición dio lugar a que las PEA de los países del sur tuvieran menores concentraciones de vitamina D en sangre que las del norte<sup>(117)</sup>.

En definitiva, todos estos factores limitan extraordinariamente la síntesis endógena y condicionan la dependencia exógena de vitamina D (dieta), convirtiéndola así en un verdadero nutriente en determinados grupos de población.

Durante años se ha educado a las familias sobre la utilidad de la exposición a la radiación natural del sol desde la infancia, insistiendo en su efecto sobre la disposición suficiente de vitamina D. Sin embargo, la Academia Americana de Dermatología ha advertido del riesgo de esta estrategia y señala el aporte dietético como forma exclusiva de prevenir un estado deficitario. No podemos olvidar que el efecto nocivo de los rayos solares ultravioleta es acumulativo a lo largo de la vida y que aproximadamente el 25% de esta exposición se produce antes de los 18 años<sup>(118)</sup>. En ese mismo sentido, los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) mantienen una campaña para limitar la exposición a la luz solar ya desde los primeros momentos de la vida como medida fundamental en la prevención del cáncer de piel, aunque

estas precauciones con respecto de la insolación hayan propiciado secundariamente un aumento en la deficiencia de vitamina D. En todo caso, hoy no disponemos de evidencia suficiente para definir lo que es una radiación solar a la vez segura y eficaz en el logro de un estado de vitamina D adecuado, por lo que debemos insistir a los padres para que sus hijos menores de un año no sean expuestos directamente al sol, y lo sean con precaución y conociendo los riesgos a partir de esta edad.

### **Fuente endógena**

Aunque la principal fuente de vitamina D es la vía endógena, en los casos en los que la exposición solar, limitada por los factores ambientales e individuales comentados en el apartado anterior, es mínima, la vitamina D procedente de la dieta adquiere mayor importancia.

La vitamina D exógena ( $D_2$  o ergocalciferol, de origen vegetal, y  $D_3$  o colecalciferol, de origen animal) procede de la dieta, fundamentalmente a partir del pescado (arenque, caballa, salmón), cereales y productos lácteos. En la tabla 2 aparecen recogidos los principales alimentos fuente de vitamina D. En las tablas 3 y 4 aparecen las recomendaciones dietéticas actuales<sup>(119)</sup>.

Tabla 2. Principales alimentos españoles fuente de vitamina D.

Alimento	Vitamina D ( $\mu\text{g}$ ) por 100 mg P.C.
Aceite de hígado de bacalao	210 <sup>(121)</sup>
Angulas	110 <sup>(120,121)</sup>
Atún	25 <sup>(120,121)</sup>
Caballa en aceite	25 <sup>(121)</sup>
Bonito en aceite	23,80 <sup>(121)</sup>
Atún en aceite	23,50 <sup>(121)</sup>
Congrio	22 <sup>(120,121)</sup>
Atún, bonito, caballa (escabeche)	20 <sup>(120,121)</sup>
Bonito	20 <sup>(120,121)</sup>
Salmón ahumado	20 <sup>(120,121)</sup>
Langostinos	Trazas <sup>(120)</sup> -18 <sup>(121)</sup>
Caballa	16 <sup>(120,121)</sup>
Palometa	16 <sup>(120,121)</sup>
Anchoas en aceite	11,80 <sup>(121)</sup>
Sardinas en salsa de tomate	9,80 <sup>(121)</sup>
Sardinas en aceite	7 <sup>(120)</sup> – 8,20 <sup>(121)</sup>
Boquerón	7 <sup>(121)</sup> – 8 <sup>(120)</sup>
Salmón	Trazas <sup>(120)</sup> – 8 <sup>(121)</sup>
Sardina	8 <sup>(120,121)</sup>
“Corn Flakes” (Kellogg’s)	4,20 <sup>1(20,121)</sup>
Huevas frescas	2 <sup>(120)</sup>
Huevos	1,75 <sup>(120,121)</sup>
Mantequilla	0,76 <sup>(120)</sup>
Hígado	0,6 <sup>(120)</sup>
Queso en porciones	0,28 <sup>(120)</sup>
Queso manchego curado	0,27 <sup>(120)</sup>
Queso manchego semicurado	0,23 <sup>(120)</sup>
Queso gallego	0,18 <sup>(120)</sup>
Leche de vaca	0,03 <sup>(120)</sup>
Yogur natural	0,08 <sup>(120)</sup>
Queso de Burgos	0,02 <sup>(120)</sup>
Leche de vaca desnatada	Trazas <sup>(120)</sup>

**Tabla 3.- Recomendaciones de aporte de vitamina D**

Grupo de edad	EAR (U/día)	RDA (U/día)	UL (U/día)
<b>0 a 6 meses</b>	a	a	1000
<b>6 a 12 meses</b>	a	a	1500
<b>1 a 3 años</b>	400	600	2500
<b>4 a 8 años</b>	400	600	3000
<b>9 a 18 años</b>	400	600	4000

<sup>a</sup> Para lactantes de 0 a 12 meses la AI es de 400 U/día  
 AI: Ingesta adecuada (*adequate intakes*); EAR: Necesidades medias estimadas (*estimated average requirements*); RDA: *Recommended dietary allowances*; UL: Niveles máximos tolerables (*upper level*)

**Tabla 4.- Recomendaciones de aporte de calcio**

Grupo de edad	EAR (mg/día)	RDA (mg/día)	UL (U/día)
<b>0 a 6 meses</b>	a	a	1000
<b>6 a 12 meses</b>	a	a	1500
<b>1 a 3 años</b>	500	700	2500
<b>4 a 8 años</b>	800	1000	2500
<b>9 a 18 años</b>	1100	1300	3000

<sup>a</sup> Para lactantes de 0 a 6 meses la AI es de 200 mg/día y de 260 mg/día de 6 a 12 meses.  
 AI: Ingesta adecuada (*adequate intakes*); EAR: Necesidades medias estimadas (*estimated average requirements*); RDA: *Recommended dietary allowances*; UL: Niveles máximos tolerables (*upper level*)



### 2.5.2. METABOLISMO DE LA VITAMINA D

La vitamina D es considerada una hormona ya que después de ingerida o sintetizada en la piel tiene que metabolizarse –vía hígado y riñón- hasta transformarse en su forma activa que actúa sobre distintos órganos diana (intestino y hueso, principalmente).

La vitamina D, procedente bien de la síntesis cutánea, bien aportada por la alimentación, es vehiculizada a la sangre. La vitamina D aportada por la alimentación se incorpora con los ácidos biliares, ácidos grasos libres y otras vitaminas liposolubles a las micelas, absorbiéndose a nivel del duodeno y yeyuno. No requiere digestión previa para su absorción la cual parece efectuarse mediante un mecanismo de difusión pasiva. Al ser por difusión pasiva, es una absorción lenta e incompleta (del 50 al 80% del contenido alimentario). No existe control sobre esta etapa, de forma que se absorben cantidades tan grandes como sean ingeridas tanto sean D<sub>2</sub> o D<sub>3</sub>. Una vez alcanzada la vía linfática en forma de quilomicrones, penetra en la circulación sanguínea unida a una proteína específica, la DBP o VDBP.

Desde el punto de vista biológico, la vitamina D es intrínsecamente inactiva y requiere hidroxilaciones sucesivas en hígado y riñón para formar el calcitriol, su forma biológicamente más activa (figura 3).

Los quilomicrones son transportados por la circulación portal hacia el hígado. Allí la vitamina D, tanto endógena como exógena, es metabolizada por

una hidroxilasa del complejo citocromo P450 (CYP2R1) a 25-hidroxivitamina D (25-OH-D) o calcidiol, el metabolito más abundante y estable de la vitamina D en suero humano. Ésta sufre una segunda hidroxilación por la enzima mitocondrial CYP27B1  $\alpha$ 1hidroxilasa a 1,25 dihidroxivitamina D (1,25-[OH]<sub>2</sub>D) o calcitriol, fundamentalmente en las mitocondrias del túbulo proximal renal. La 1,25-[OH]<sub>2</sub>D es la forma biológicamente activa de la vitamina D, que interviene en la homeostasis calcio-fósforo, aumentando el transporte de calcio hacia la sangre a nivel óseo, intestinal y renal, en la mineralización ósea y en la función del músculo esquelético, sin embargo representa sólo el 0,1% de la prohormona 25-OH-D. Aunque la luz solar incrementa la concentración sérica de 25-OH-D<sub>3</sub> no influye sobre la tasa de 1,25(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>, lo que sugiere la existencia de una regulación muy fina de la hidroxilación renal.

Recientemente, se ha documentado la hidroxilación a 1,25-[OH]<sub>2</sub>D en localizaciones extrarrenales, incluyendo las células del sistema inmune como los macrófagos activados, queratinocitos, intestino o placenta<sup>(122,123)</sup>. Cuando la disponibilidad de 1,25-[OH]<sub>2</sub>D es suficiente, el riñón forma 24,25-[OH]<sub>2</sub>D que posteriormente es catabolizada<sup>(124)</sup>. A diferencia de la 25-hidroxilación en el hígado, la 1 $\alpha$ -hidroxilación en el riñón se regula según los requerimientos de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Por ejemplo, durante el embarazo, lactancia y crecimiento, la concentración plasmática de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> está aumentada probablemente por una síntesis incrementada en el riñón. La 1 $\alpha$ -hidroxilasa se estimula por varios factores iónicos (calcio, fósforo, magnesio y potasio) y hormonales (calcitonina, hormonas sexuales, hormona del crecimiento, prolactina, insulina, etc), particularmente por la hormona paratiroidea (PTH)<sup>(125)</sup>.

El catabolismo del calcitriol, mediado por la 25-hidroxivitamina D<sub>3</sub>-24R-hidroxilasa (24-OHasa) y controlado por el propio calcitriol de manera que se reducen sus concentraciones plasmáticas cuando están elevadas, da lugar a más de 30 metabolitos prácticamente inactivos, entre los que destacan la 24,25-vitamina D<sub>3</sub> y la 25,26-vitamina D<sub>3</sub><sup>(124)</sup>. La 24,25-vitamina D<sub>3</sub> es quizás el más discutido de los metabolitos en cuanto a su acción pues unos lo consideran un producto de degradación inactivo mientras que otros le reconocen acciones en el crecimiento y maduración del cartílago, importancia durante el desarrollo fetal e incluso se le reconoce como hormona esteroidea<sup>(125)</sup>.

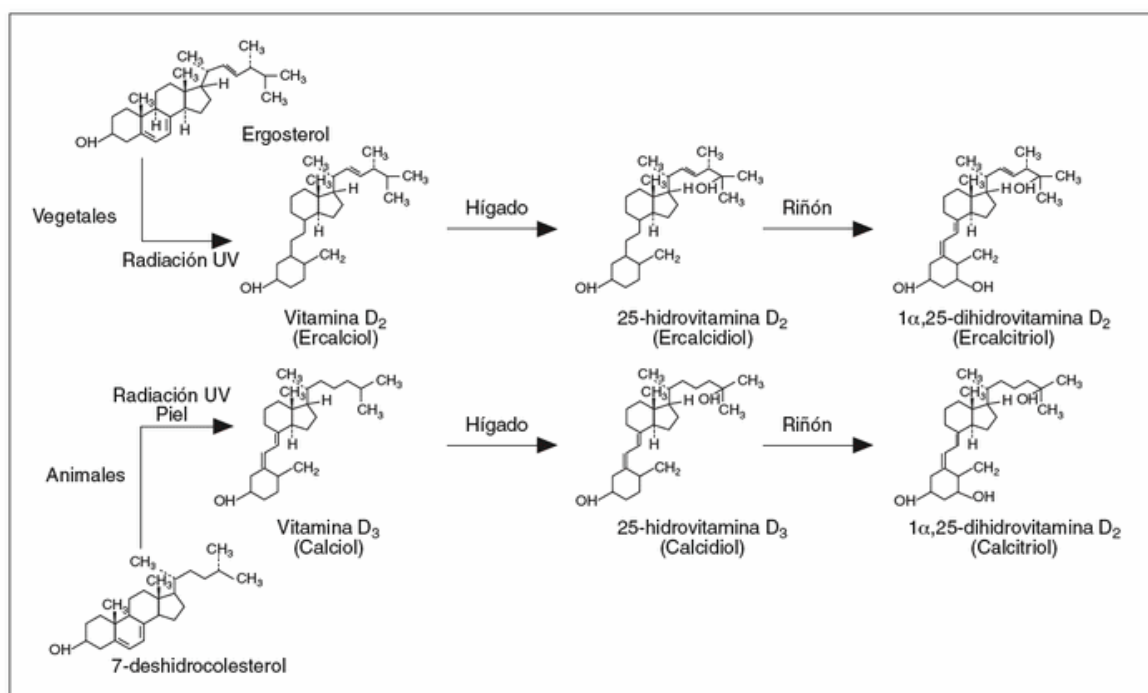
Al contrario que las otras vitaminas liposolubles, la vitamina D no se almacena a nivel del hígado salvo en los pescados magros. Los principales lugares de **almacenamiento** son: el tejido adiposo (bajo la forma de vitamina D) y los músculos (bajo la forma de 25-OH-D)<sup>(111)</sup>.

La vitamina D<sub>3</sub> y sus metabolitos son moléculas lipofílicas y por su baja solubilidad en el medio acuoso del plasma necesitan ser **transportados** unidos a proteínas plasmáticas. En circunstancias normales, aproximadamente el 85% de 1,25-[OH]<sub>2</sub>D está unido a la VDBP y el 15% a albúmina, siendo la circulación libre en plasma inferior al 0,5% para 1,25-[OH]<sub>2</sub>D e inferior al 0,05% para 25-OH-D. Estas formas libres circulantes son las únicas disponibles para su unión a los receptores de las células diana<sup>(126)</sup>. La proteína DBP circula a concentraciones 20 veces superiores a la de los metabolitos de la vitamina D.

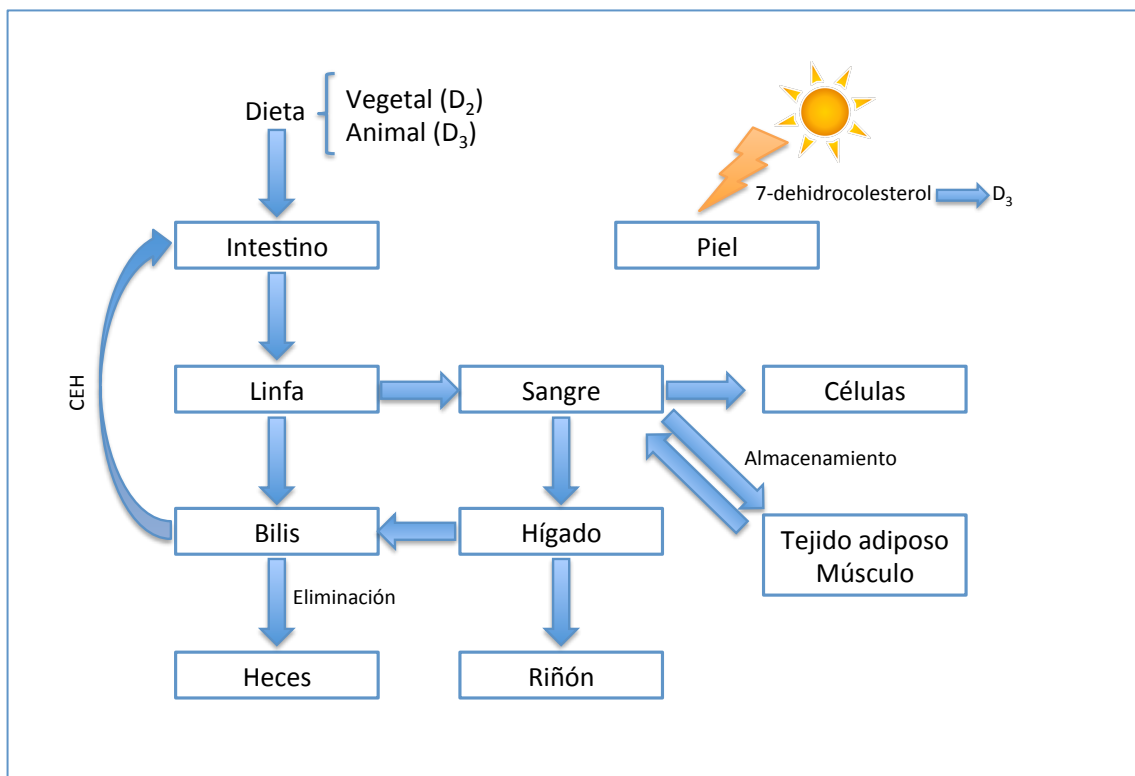
En condiciones fisiológicas casi toda la vitamina D circulante está unida a estas proteínas, lo que evita la intoxicación por dicha vitamina.

En el hígado la 25-OH-D<sub>3</sub> está conjugada con el ácido glucurónico, se excreta con la bilis y se reabsorbe después gracias al ciclo enterohepático (Figura 4). Tanto la vitamina D como la mayoría de sus metabolitos son **eliminados** vía fecal, existiendo numerosas vías de degradación, como la formación de derivados trihidroxilados.

El calcitriol tiene una vida media en plasma de 4-5 horas, tras las cuales y en casos de normalidad, se estimula la 24-OHasa iniciándose así la vía metabólica degradativa que conduce al ácido calcitriólico o 1,24,25-vitamina D, hidrosoluble y que es así eliminado por orina y heces<sup>(114)</sup>.



**Figura 3. Vía metabólica y metabolitos de la vitamina D**



**Figura 4. Representación esquemática del metabolismo de la vitamina D**

El receptor de vitamina D (VDR) es parte de la familia de receptores nucleares de hormonas esteroideas y actúa regulando la transcripción genética. El calcitriol es más hidrófilo y tiene menor afinidad por la DBP que la 25-OH-D<sub>3</sub>, lo que facilita que en su forma libre alcance los órganos diana, donde el calcitriol ejerce sus efectos mediante dos mecanismos: regulando la transcripción genética (vía genómica) y mediante un receptor de membrana - receptor de superficie celular de la vitamina D o VDRm- (vía no genómica).

El complejo calcitriol-receptor se une a secuencias reguladoras del ADN nuclear y controla la transcripción de ARN mensajeros específicos que a su vez controlan la síntesis de proteínas específicas: CBP o calbindina ("Calcium Binding Protein"), osteocalcina, fosfatasa alcalina, etc.

Cuando la  $1,25\text{-[OH]}_2\text{D}$  se une al VDR en los enterocitos activa la transcripción de la CBP y esto aumenta el transporte activo de calcio hacia la célula, existiendo un límite máximo para este mecanismo. Existe también un transporte pasivo a nivel paracelular por difusión, dependiente de gradiente de concentración, es decir, de la ingesta.

El calcitriol, además de regular la expresión genética, también tiene acciones no genómicas que incluyen la capacidad de estimular el paso de calcio a través de la membrana plasmática. Este transporte rápido de calcio es conocido como “transcaltaquia” y en él están involucrados la apertura de canales de calcio operados por el voltaje a través de la membrana y el transporte vesicular de calcio<sup>(125)</sup>.

### 2.5.3. FUNCIONES DE LA VITAMINA D

Existen dos funciones filogenéticamente diferentes de la vitamina D<sup>(99)</sup>. La primera de ellas es la **función hormonal**. La síntesis de vitamina D y el metabolismo de  $1,25\text{-[OH]}_2\text{D}$  depende de la homeostasis del calcio, modulada por la hormona paratiroidea (PTH), calcitonina y niveles de calcio y fósforo séricos. Desde un punto de vista global, la vitamina D es hipercalcemiente y la finalidad de sus diferentes acciones es la de mantener un “pool” fosfocálcico sérico adecuado y disponible para mantener la mineralización del hueso<sup>(99)</sup>.

La síntesis de  $1,25\text{-[OH]}_2\text{D}$  es estimulada por la PTH e inhibida por el factor de crecimiento fibroblástico circulante 23 (FGF23) producido por los

osteocitos. El descenso en el calcio sérico es detectado por receptores de membrana de las células paratiroides, aumentando la liberación de PTH y su expresión genética. La interacción de la PTH con su receptor a nivel de la membrana plasmática de las células del túbulo proximal renal aumenta la expresión genética de la CYP27B1 y la conversión de la 25-OH-D a 1,25-[OH]<sub>2</sub>D, incrementando la reabsorción de calcio y la actividad de la  $\alpha$ 1hidroxilasa a nivel del hígado. Estos mecanismos incrementan la producción de 1,25-[OH]<sub>2</sub>D y la absorción intestinal de calcio y fósforo. Por otro lado, la PTH estimula la actividad osteoclástica que moviliza el calcio óseo, incrementado asimismo el calcio sérico. Cuando el déficit de calcio es corregido, este eje se regula por el FGF23 liberado desde el hueso<sup>(127)</sup>. Las principales células de las glándulas paratiroides poseen receptores para el calcitriol (VDR y VDRm). Al unirse el calcitriol a estos receptores se disminuye la síntesis y secreción de la PTH por un mecanismo genómico<sup>(110)</sup>.

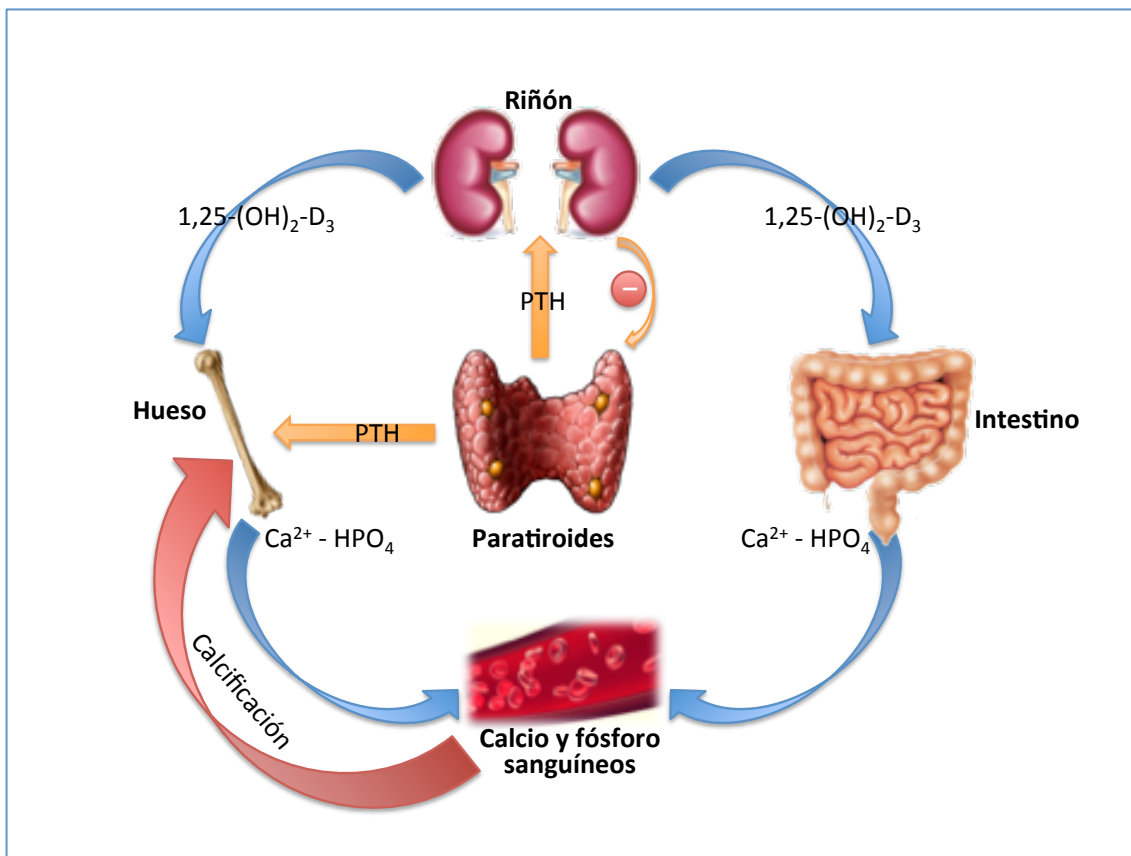
Los estrógenos y la prolactina también regulan el metabolismo de la vitamina D, incrementando las necesidades de calcio durante el embarazo. Durante el embarazo y la lactancia, la síntesis de CBP aumenta lo que entraña un aumento de la absorción intestinal del calcio. El transporte placentario del calcio está controlado por la vitamina D. Existen receptores para la 1,25(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> a nivel de la **placenta**, donde se sintetiza la CBP. Estos mecanismos están implicados en la mineralización del esqueleto fetal. Los receptores de las **glándulas mamarias** podrían estar implicados dentro de la regulación de la concentración de calcio en la leche.

La vitamina D es necesaria para el buen funcionamiento **muscular**, regulando la concentración de calcio. En casos de carencia de vitamina D se han observado anomalías en el electromiograma así como debilidad muscular<sup>(111)</sup>.

El calcitriol a través de mecanismos autocrinos, paracrinos y endocrinos, ejerce un importante papel sobre la proliferación y diferenciación celular<sup>(112)</sup>, regulación de la función inmune, secreción hormonal y desarrollo fetal entre otras<sup>(110)</sup>.

Existen receptores para el calcitriol en órganos que no están directamente implicados dentro del metabolismo fosfocálcico. Estos órganos diana serían las células  $\beta$  de los islotes de Langerhans del páncreas (especialmente ricas en CBP), las células de Sertoli testiculares, el sistema nervioso central, los órganos hematopoyéticos, los tumores malignos, etc<sup>(110)</sup>.





**Figura 5. Regulación de la homeostasis calcio – fósforo.**

En los **órganos hematopoyéticos**, el calcitriol induce la formación de macrófagos a partir de precursores mieloides. Inhibe la proliferación de los linfocitos B y T activos y la síntesis de inmunoglobulinas y estimula la agregación plaquetaria<sup>(111)</sup>.

La vitamina D ejerce además una acción **como citoquina**, producida para la defensa del huésped contra microorganismos patógenos<sup>(122)</sup>. La  $1,25-[OH]_2D$  es sintetizada por monocitos-macrófagos y actúa de forma intracrina mediante la interacción con el VDR para modular la respuesta inmune innata ante agentes microbianos<sup>(128)</sup>. Cuando se produce en cantidades suficientes

interacciona y controla los perfiles de citoquinas de los linfocitos T y B activados en el microambiente inflamatorio local<sup>(122)</sup>.

La diferencia fundamental entre estas funciones es que, mientras un inadecuado aporte de 25-OH-D estimula la hidroxilasa renal CYP27B1 para aumentar la 1,25-[OH]<sub>2</sub>D mediante un hiperparatiroidismo secundario, la deficiencia de sustrato para la CYP27B1 hidroxilasa extrarrenal conduce a un descenso en la 1,25-[OH]<sub>2</sub>D<sup>(122)</sup>.

## 2.6. ESTADO DE VITAMINA D

El estado de vitamina D de un paciente se determina mediante la medición de la 25-OH-D, que es la forma circulante principal, con una vida media de dos semanas, alcanzando su pico máximo a los 30 – 60 días tras la exposición solar en meses de verano<sup>(99)</sup>. Normalmente el 95% de la 25-OH-D circulante corresponde a 25-OH-D<sub>3</sub>, mientras que la 25-OH-D<sub>2</sub> constituye una fracción minoritaria, a no ser que el individuo tome suplementos de ergocalciferol<sup>(129)</sup>. Los niveles de 1,25-[OH]<sub>2</sub>D<sub>3</sub> pueden ser normales o incluso elevados en estados deficitarios en vitamina D y por tanto no son fiables para determinar el estado nutricional de vitamina D del paciente. La vitamina D “nativa” (vitamina D<sub>2</sub> y D<sub>3</sub>) tampoco es un buen indicador ya que su concentración en sangre únicamente refleja la reciente ingesta de vitamina D y/o exposición solar y, por lo tanto, puede variar enormemente en un corto período de tiempo<sup>(103)</sup>.

Aunque no existe consenso en cuanto a qué niveles son los deseables, la mayoría de expertos definen el déficit con niveles plasmáticos  $<20$  ng/ml ( $<50$  nmol/l)<sup>(126, 130)</sup>. Chapuy et al<sup>(131)</sup> y posteriormente otros autores definen la insuficiencia/deficiencia de vitamina D en base al aumento en los niveles de PTH. La PTH comienza a elevarse en suero cuando la 25-OH-D cae por debajo de 30 ng/ml (75 nmol/L). Valores entre 30 y 20 ng/ml se consideran representativos de la insuficiencia, mientras que cifras inferiores a 20 ng/ml definen el déficit de esta vitamina, debido que es por debajo de esta cifra cuando aparecen efectos esqueléticos en la clínica.

## 2.7. DÉFICIT DE VITAMINA D. ESTADO ACTUAL DEL TEMA

El déficit de vitamina D es una de las deficiencias nutricionales más frecuentes y se ha asociado a diversas situaciones clínicas crónicas en la población general<sup>(130,132)</sup>. Durante la infancia y adolescencia se necesitan niveles óptimos debido al importante papel de esta vitamina en el crecimiento celular, estructura esquelética y desarrollo. Diferentes estudios han comunicado concentraciones bajas de 25-OH-D en niños y adolescentes, con posibles consecuencias negativas en su salud futura<sup>(133)</sup>. La prevalencia en niños y adultos a nivel mundial oscila entre el 27 y 80%<sup>(134-137)</sup>, existiendo diferencias importantes en función del país estudiado. Datos extraídos del National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) demuestran que más del 90% de la población pigmentada de Estados Unidos (negros, hispánicos y asiáticos) y casi el 75% de la población blanca presentan niveles insuficientes de vitamina D ( $<30$  ng/ml), encontrando de un 25 a un 35% con

este déficit vitamínico (<20 ng/ml), cifras que doblan las estadísticas de la década anterior<sup>(138)</sup>.

Aunque las cifras son altamente variables en los diferentes trabajos consultados, existen grupos de mayor riesgo reconocido. Además de las personas de edad avanzada, en pediatría la prevalencia es superior en niños mayores y adolescentes. El estudio HELENA<sup>(135)</sup> (Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence), un estudio poblacional entre cuyos objetivos se encuentra la evaluación de la ingesta nutricional y alimentaria, la prevalencia de obesidad, dislipemia, resistencia insulínica y el estatus vitamínico, determinó sobre 1006 adolescentes de 10 ciudades europeas que alrededor del 80% presentaba niveles subóptimos, con una frecuencia de déficit del 27%. Tolppanen encuentra prevalencia del 29% entre 7560 niños británicos en edad escolar<sup>(134)</sup>. En un reciente estudio transversal español se halló una prevalencia del 51% entre niños escolares sanos de la provincia de Madrid<sup>(136)</sup>. La causa de este descenso se ha atribuido a varios factores: el descenso del consumo de leche, el aumento de la protección y en la evitación de la exposición solar y al aumento del índice de masa corporal<sup>(139)</sup>.

Otro factor predisponente es la etnia, en relación a la pigmentación de la piel, y la exposición solar. La prevalencia de déficit de vitamina D es superior en Europa que en Asia, Australia o EEUU y dentro de Europa existe correlación entre la latitud y los niveles de vitamina D, al contrario de lo que cabría esperar. Esto se ha atribuido a la mayor exposición solar, la piel más clara, a la toma de complejos multivitamínicos y hábitos alimenticios entre la población nórdica, en

contraposición a la piel más pigmentada y la evitación solar en países mediterráneos<sup>(124)</sup>. En este mismo sentido, los menores niveles de vitamina D encontrados fundamentalmente en mujeres de países del Medio Oriente tienen una base cultural y religiosa relacionada con una indumentaria que impide la exposición al sol<sup>(140)</sup>.

En el mundo occidental, el índice de masa corporal (IMC) y el porcentaje de grasa corporal son factores directamente relacionados con la hipovitaminosis D, así como los hábitos nutricionales y el uso de suplementos vitamínicos.

La deficiencia y resistencia a la vitamina D pueden producirse por estos cuatro mecanismos:

- 1) Insuficiente aporte por dieta inadecuada, enfermedad malabsortiva o falta de fotoisomeración por escasa exposición solar;
- 2) Falta de hidroxilación hepática y producción de 25-HO-D;
- 3) Falta de hidroxilación renal que produce 1,25-[OH]<sub>2</sub>D<sub>3</sub>;
- 4) Insensibilidad a los metabolitos de vitamina D (resistencia hereditaria a receptores de vitamina D).

Todas estas circunstancias están presentes con mayor frecuencia en los pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos que en la población general, siendo precisamente este colectivo el que más necesitaría disponer de niveles adecuados para afrontar el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, las infecciones o la disfunción cardiovascular, entre otras patologías.

Existen además factores que pueden disminuir la concentración de la vitamina D sin que necesariamente ésta se encuentre disminuida en sangre, como ocurre tras la fluidoterapia agresiva en algunos pacientes críticos. Es por ello que su medición aislada no debe considerarse diagnóstica en este contexto<sup>(141)</sup>.

## **2.8. IMPORTANCIA DEL PROBLEMA. REPERCUSIÓN DEL DÉFICIT DE VITAMINA D**

En los últimos años el conocimiento de la importancia de la vitamina D en diferentes enfermedades se ha extendido más allá del sistema esquelético. Las acciones más conocidas de la vitamina D están relacionadas con la absorción intestinal de calcio, la homeostasis calcio/fósforo y la movilización y apósito mineral óseo, previamente comentadas. Sin embargo, la mayoría de tejidos en nuestro cuerpo tienen receptores para la forma activa de la vitamina D (1,25-OH<sub>2</sub>-D), los llamados VDRs, lo que implica que estos tejidos son objetivos de la acción de la vitamina D. Muchos de estos tejidos contienen además la enzima CYP27B1, responsable de la conversión del mayor metabolito circulante, la 25-OH-D, en 1,25-OH<sub>2</sub>-D. Este hecho ha llevado al concepto de que el mantenimiento de niveles sanguíneos adecuados de 25-OH-D es importante para la regulación de gran número de funciones fisiológicas.

Las acciones “no clásicas” de la vitamina D pueden categorizarse en tres grandes grupos: la regulación de la secreción hormonal, la regulación de la

función inmune y la regulación de la proliferación y diferenciación celular<sup>(142)</sup>. En los últimos años se reconoce su participación en procesos muy diversos como la potenciación de la acción antimicrobiana<sup>(143)</sup>, función cerebral, fisiología cardíaca, cáncer y en la inmunomodulación de diferentes enfermedades (diabetes, obesidad, celiaquía, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedades autoinmunes, asma, etc)<sup>(144-153)</sup>.

La función más sujeta a reciente estudio es la que concierne a la síntesis de 1,25-OH<sub>2</sub>-D por monocitos-macrófagos actuando de forma intracrina a través de la interacción con VDRs en la modulación de la respuesta inmune frente a microorganismos invasores<sup>(128)</sup>. Estudios recientes en humanos han enfatizado el rol de la vitamina D como un intermediario necesario en la generación de péptidos antimicrobianos por parte de monocitos-macrófagos. Parece que la vitamina D puede realzar la inmunidad innata a través de diferentes vías, como la expresión de péptidos antimicrobianos ( $\beta$ -defensina 2 y la catelicidina). La activación de la vía de receptores Toll-like (TLR) de monocitos-macrófagos en respuesta a agentes microbianos inicia la expresión de la CYP27B1-hidroxilasa y de receptores VDR en estas células para modular la destrucción de estos gérmenes<sup>(122,154,155)</sup>. Además, los niveles bajos de 25-OH-D se han asociado con un aumento significativo en el padecimiento de infecciones de vías respiratorias altas<sup>(138)</sup>. Múltiples células del sistema inmune expresan VDRs (linfocitos T y B, células epiteliales, macrófagos activados, células dendríticas)<sup>(123)</sup> y estudios recientes sugieren la producción de catelicidina (LL37) por parte de células epiteliales de tejidos “barrera” como el intestino, el pulmón, la placenta y la piel<sup>(99,143)</sup>.

Existen datos que asocian la deficiencia de vitamina D con enfermedades autoinmunes<sup>(123,156-158)</sup>, cáncer<sup>(159-163)</sup> y asma<sup>(145,153,164,165)</sup>, todas ellas enfermedades principalmente mediadas por la respuesta de linfocitos Th1. En general, la 1,25-OH<sub>2</sub>-D suprime la proliferación celular y estimula la diferenciación de células cancerígenas, aunque existen excepciones<sup>(124)</sup>. Recientemente, se ha comunicado que la vitamina D inhibe la producción de diversas interleucinas (IL-2, IL-3, IL-4, IL-12, IL-17); esta última es una citoquina proinflamatoria importante en la defensa contra bacterias extracelulares, también implicada en enfermedades alérgicas y autoinmunes<sup>(146,156-158)</sup>. También se ha demostrado en estudios con células humanas que la vitamina D inhibe la síntesis de interferón  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) y que la suplementación con vitamina se asocia con un aumento en los niveles de factor de crecimiento transformante  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), una compleja citoquina con implicación en la inhibición de linfocitos T reguladores, reparación de heridas y cicatrización<sup>(146)</sup>. Asimismo, la vitamina D también tiene influencia sobre la función de los linfocitos B<sup>(124)</sup>.

La relación entre la vitamina D y el asma es objeto de investigación de diversos trabajos en la última década. Un estudio de casos-contrroles recientemente publicado<sup>(165)</sup> encuentra asociación estadísticamente significativa entre la insuficiencia de vitamina D (<30 ng/ml) y las exacerbaciones graves de asma, así como una mayor expresión de diferentes moléculas relacionadas con el estrés oxidativo y el daño del DNA, alteraciones con reconocida vinculación con dichas exacerbaciones. Adicionalmente, la



hipovitaminosis D está asociada a peor función pulmonar y a una menor respuesta terapéutica de las vías respiratorias en el asma<sup>(166)</sup>.

Este déficit también se ha relacionado con procesos alérgicos, condicionando el perfil de respuesta de citoquinas frente a determinados alérgenos ya desde los primeros meses de la vida, sugiriendo que niveles adecuados de vitamina D son necesarios incluso durante la vida intrauterina para prevenir el desarrollo de manifestaciones alérgicas y atópicas<sup>(167)</sup>.

Por otro lado, la deficiencia de 25-OH-D se relaciona con enfermedades cardiovasculares y diferentes componentes del síndrome metabólico como la hipertensión arterial, la obesidad, hiperglucemia<sup>(99,132)</sup>. En ratones, se ha identificado VDR en los túbulos t de los cardiomiocitos<sup>(168)</sup>. En este trabajo, Tishkoff y colaboradores observaron un efecto agudo (5 minutos) de la 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D en la aceleración de la relajación de los cardiomiocitos, lo cual tiene implicaciones en la difunción diastólica<sup>(168)</sup>. Además, estos autores demostraron que el agotamiento de VDR en los miocitos implicaba un aumento en la frecuencia de contracción y relajación, lo cual alteraba la cinética contráctil. Esto sugiere que la vitamina D afecta a la contractilidad directamente a través de un mecanismo que es independiente del calcio sérico, aunque quizás pueda estar en relación con el calcio intracelular a nivel del retículo sarcoplásmico. La literatura también sugiere que la vitamina D tiene propiedades antiinflamatorias, lo que puede mejorar la función cardiovascular globalmente<sup>(169, 170)</sup>.

De acuerdo con estos hallazgos, parece plausible pensar que niveles bajos de 25-OH-D pudieran estar asociados con efectos deletéreos a nivel musculoesquelético, inmunidad innata y sistema cardiovascular. Por todo ello, se ha renovado el interés en su farmacodinámica, especialmente en el paciente crítico y se postula que un estado correcto de vitamina D puede reducir los gastos asociados a la enfermedad grave y conferir ventajas en la supervivencia<sup>(171-173)</sup>.

## **2.9. VITAMINA D Y PACIENTES CRÍTICOS**

La deficiencia en vitamina D tiene una alta prevalencia y ha sido asociada con una gran diversidad de patologías crónicas en la población general. Sin embargo, la prevalencia, patogénesis y significado de este déficit ha sido poco estudiada en patologías agudas. Por ello, la hipovitaminosis D es raramente considerada y por tanto tratada adecuadamente en pacientes críticamente enfermos. El reciente reconocimiento de las acciones extraesqueléticas y efectos pleiotrópicos de la vitamina D en la inmunidad, función de los epitelios y regulación metabólica ya comentados puede llevar implícita la participación infraestimada del déficit de vitamina D en comorbilidades típicas de pacientes críticos, como sepsis, respuesta inflamatoria sistémica y disfunción metabólica y dicho descubrimiento ha captado el interés en cuidados intensivos<sup>(174-177)</sup>. La mejoría en el conocimiento del metabolismo y regulación de la vitamina D en la patología crítica puede permitirnos avanzar hacia un mejor tratamiento y por tanto pronóstico de estos pacientes.

La prevalencia de la deficiencia de vitamina D y su importancia en la evolución en pacientes críticos no es bien conocida. Hay series que sugieren una mayor incidencia de déficit de vitamina D y de reabsorción ósea en pacientes críticos con estancias prolongadas, incluso desde el primer día de ingreso<sup>(132,178,179)</sup>. Según distintos trabajos, la prevalencia del déficit de 25-OH-D en pacientes críticos adultos se encuentra entre el 38 y el 100%, en torno al 50% superior a la de pacientes hospitalizados<sup>(132,175,177,180)</sup>. La media de niveles de vitamina D en estos pacientes oscila entre 10 y 40 nmol/l (4 – 16 ng/ml), dentro del rango de la deficiencia, y se ha estimado que uno de cada cinco pacientes presenta niveles indetectables<sup>(127,175,180)</sup>.

Se ha documentado la existencia de asociación positiva entre el estado de vitamina D y los niveles de LL37 en pacientes críticos en relación a controles sanos y entre pacientes críticos con y sin sepsis, sugiriendo la regulación de esta proteína por la vitamina D y señalando la importancia de esta vitamina en procesos agudos con alta morbimortalidad<sup>(143)</sup>.

Por otro lado, se ha relacionado el déficit de vitamina D al ingreso con la necesidad y duración de la ventilación mecánica en pacientes adultos ingresados en UCI. En el estudio de Quraishi y colaboradores, los niveles de vitamina D al ingreso se correlacionaron inversamente con la duración de la ventilación mecánica, con una razón de tasas de incidencia de 0.66<sup>(181)</sup>.

En pacientes críticos pediátricos han sido publicados recientemente estudios en EEUU y Canadá que estiman prevalencia entre en 34,5% y el

69%<sup>(182-186)</sup>. En estos trabajos se observa una asociación entre el déficit de vitamina D y la gravedad de los pacientes estimada por escalas validadas, la estancia hospitalaria y la disfunción cardiovascular. En el estudio de McNally et al se observa que el déficit de vitamina D exacerba el efecto de la insuficiencia suprarrenal en la estabilidad cardiovascular en niños críticos<sup>(182)</sup>. Además parece que el déficit de vitamina D previo al ingreso es predictor de sepsis en el paciente crítico y que estos tienen un riesgo aumentado de mortalidad durante el ingreso en UCIP<sup>(185)</sup>.

El estudio de Rey y colaboradores en pacientes pediátricos ingresados en cuidados intensivos muestra una prevalencia del 29.5%, detectando niveles más bajos a mayor edad de los pacientes. A diferencia de otros estudios realizados tanto en niños como en adultos, Rey C y colaboradores no encuentran relación con la estancia ni con la morbilidad durante el ingreso en UCIP<sup>(187)</sup>.

Los pacientes críticos con estancias prolongadas pueden desarrollar déficit de vitamina D por diversas razones, como la falta de exposición a los rayos UVB, malnutrición, descenso en la  $1\alpha$  hidroxilación y aumento de la conversión a  $1,25\text{-[OH]}_2\text{D}_3$  durante el estrés agudo y la respuesta inflamatoria<sup>(160,188)</sup>. Otro factor contribuyente es la alteración de la VDBP y la albúmina sérica, ya que su disminución alterará la concentración total de la vitamina D.

Es conocida la disminución en niveles séricos de diferentes biomarcadores en individuos ingresados en unidades de medicina intensiva pero no está claro si esta asociación es causal o sólo observacional. Datos recientes de estudios en adultos han sugerido que la existencia de déficit de vitamina D se relaciona con una mayor morbimortalidad<sup>(189)</sup>. En pacientes adultos tras cirugía cardiovascular se ha encontrado asociación entre los niveles de 1,25-[OH]<sub>2</sub>D<sub>3</sub> y la evolución postoperatoria en UCI y relación inversamente proporcional con el filtrado glomerular, siendo más acusada en pacientes de mayor edad<sup>(190)</sup>.

En la población general hay un aumento del 26% en todas las causas de mortalidad entre los extremos del rango intercuartílico de los niveles de vitamina D<sup>(191)</sup>. Un reciente metanálisis en pacientes adultos concluye que la administración de vitamina D<sub>3</sub> parece disminuir la mortalidad, predominantemente en mujeres hospitalizadas<sup>(192)</sup>. Un estudio prospectivo en más de 3000 adultos encuentra una asociación significativa entre los niveles de vitamina D y mortalidad de causa cardiovascular, así como en la mortalidad global<sup>(193)</sup>.

Por todo lo expuesto anteriormente, existen razones suficientes para creer que en las poblaciones de riesgo se deba evitar la depleción de vitamina D. El tratamiento de este déficit vitamínico con aporte exógeno es efectivo en la recuperación de niveles normales y parece disminuir la mortalidad<sup>(194)</sup>. Sin embargo, se desconoce la dosis, formulación y vía de administración óptimas, no existiendo hasta la fecha estudios en la población pediátrica. Mata-

Granados observa la normalización de los niveles con dos dosis de 1,5 mg de 25-OH-D en pacientes críticos<sup>(175)</sup>, pero dosis inferiores han sido también utilizadas con éxito<sup>(171,194,195)</sup>.

En la actualidad, la suplementación con vitamina D de forma profiláctica en niños está recomendada en aquellos lactantes alimentados de leche materna y en quienes toman menos de un litro de leche fortificada con vitamina D, en dosis de 400 UI diaria. Sin embargo, se necesitan dosis mayores en aquellos niños con deficiencia conocida<sup>(196,197)</sup>. Es por ello el interés de identificar una población pediátrica de riesgo que pueda beneficiarse de las funciones que la vitamina D ejerce a diferentes niveles de nuestro metabolismo.

# OBJETIVOS

### **3.1. Hipótesis de trabajo:**

El déficit de vitamina D actúa como predictor de morbimortalidad en pacientes críticos pediátricos.

### **3.2. Objetivo general:**

Analizar la influencia del déficit de vitamina D en la supervivencia (en términos de mortalidad y morbilidad) de pacientes ingresados en una UCI pediátrica.

### **3.3. Objetivos específicos:**

1.- Estimar la prevalencia del déficit de vitamina D en pacientes ingresados en UCIP.

2.- Determinar la relación de los niveles de vitamina D con el índice pronóstico de mortalidad pediátrica PRISM-II que cuantifica objetivamente la gravedad del paciente crítico y estima la probabilidad de muerte.

3.- Establecer las características clínicas y sociodemográficas de los sujetos con déficit de vitamina D.



4.- Analizar la influencia de las variables clínicas, sociodemográficas, niveles de vitamina D y marcadores del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica en la supervivencia de estos pacientes.

# METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO

**4.1. ÁMBITO DEL ESTUDIO:** Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos (UCIP) del Hospital Regional Universitario (HRU) Materno Infantil de Málaga.

**4.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO:** Pacientes ingresados en la UCIP de dicho hospital desde 15 de enero de 2013 al 15 de mayo de 2014, cuyos padres firmen el consentimiento informado, que cumplan los criterios de inclusión y no presenten ninguno de los criterios de exclusión.

**o Criterios de inclusión:**

- Edad comprendida entre los 6 meses y 14 años.
- Necesidad de ingreso en Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos.

**o Criterios de exclusión:**

- Insuficiencia renal crónica.
- Estados malabsortivos.
- Enfermedad endocrina paratiroidea (hiper/hipoparatiroidismo) o resistencia a la vitamina D conocida previamente.
- Suplementación con vitamina D en el mes previo al ingreso.

No se incluyen en el estudio a los menores de 6 meses de edad debido a que en la fase de diseño del proyecto de investigación las recomendaciones vigentes recomiendan la suplementación con vitamina D<sub>3</sub>. Si hubiésemos incluido y no tratado a estos pacientes estaríamos incurriendo en un conflicto ético.

## Determinación del tamaño muestral

**Fase I:** Justificación del tamaño muestral para dar respuesta al objetivo general y a los objetivos específicos 2, 3, 4.

Por estudios previos AB Braun et al<sup>(189)</sup> sabemos que el riesgo de mortalidad a los 90 días en el grupo con deficiencia de vitamina 25-OH-D fue de 1.27. Para conseguir una precisión de 0.20 unidades en la estimación del logaritmo de un riesgo relativo mediante un intervalo de confianza asintótico Normal al 95% bilateral, asumiendo que el riesgo relativo esperado es 1.73 ( $IC(rr): 1.73 \cdot \exp(-0.20); 1.73 \cdot \exp(+0.20)$ ) y que la proporción de individuos en el grupo de Referencia respecto el total es del 50%, será necesario incluir 100 pacientes en el grupo de Referencia y 100 pacientes en el grupo Experimental, totalizando 200 pacientes en el estudio.

**Fase II:** Justificación del tamaño muestral para dar respuesta al objetivo específico 1.

Por estudios previos Rodríguez–Rodríguez y colaboradores<sup>(136)</sup> sabemos que el déficit de vitamina D en niños está en torno al 50%. Para conseguir una precisión del 5.6% en la estimación de una proporción mediante un intervalo de confianza asintótico Normal al 95% bilateral, asumiendo que la proporción es del 50%, será necesario incluir 307 unidades experimentales en el estudio.

Anualmente ingresa en UCIP un promedio de 380 pacientes. Considerando que el número de pacientes de edad superior a 6 meses en los años anteriores al estudio oscila entre los 200 y 300 casos, en un periodo de 18 meses se prevé la inclusión de casos suficiente para la realización del proyecto.

#### **4.3. DISEÑO DEL ESTUDIO**

##### **Fase I : Estudio de cohortes**

Este diseño permitirá dar respuesta al objetivo general y los objetivos específicos 2, 3 y 4.

##### **Fase II: Estudio de prevalencia.**

Este diseño permitirá dar respuesta al objetivo específico 1.

#### **4.4. VARIABLES DEL ESTUDIO**

##### **• VARIABLES DEPENDIENTES**

- Mortalidad: Cualitativa dicotómica (Sí / No)
- Morbilidad: Definida como la aparición de complicaciones que motiven una prolongación de la estancia en la unidad o la necesidad de tratamientos agresivos. Cualitativa dicotómica (Sí/No).
- Tipo de morbilidad: Tipo de complicación o tratamiento agresivo aplicado. Cualitativa polidicotómica (necesidad de ventilación mecánica invasiva >24 horas, drogas vasoactivas, técnica continua de depuración

extrarrenal, antibioterapia prolongada de >7 días o de nutrición parenteral).

- Fecha evento: Fecha en que se registra el evento. Variable tipo fecha (dd/mm/aaaa).

• **VARIABLES INDEPENDIENTES:**

• Variables sociodemográficas:

- Sexo: Variable cualitativa dicotómica (Hombre/Mujer)
- Edad: Variable cuantitativa continua (unidad de medida en años)
- Peso: Variable cuantitativa continua (unidad de medida kg)
- Talla: Variable cuantitativa continua (unidad de medida cm)
- IMC: Variable cuantitativa continua (calculada como peso en kg/talla en m<sup>2</sup>)
- Raza: Variable cualitativa polidicotómica (Blanca, Amarilla, Negra)
- Nacionalidad: Variable nominal
- Ciudad de residencia habitual: Variable cualitativa nominal
- Nivel de estudios de los padres o responsables legales: Variable cualitativa polidicotómica (Sin estudios / Primarios / Secundarios / Universitarios).

• Variables clínicas:

- Niveles de 25-OH-vitamina D: Se medirán en las primeras 48 horas del ingreso. Variable cuantitativa continua (unidad de medida ng/ml).
- Fecha de ingreso en UCIP: Variable tipo fecha (dd/mm/aaaa).
- Patología de base: Variable cualitativa nominal.

- Motivo de ingreso en UCIP: Variable cualitativa nominal.
- Estación del ingreso en UCIP: Variable cualitativa polidicotómica (Primavera/Verano/Otoño/Invierno).
- Puntuación en la escala predictora de gravedad: PRISM-II<sup>1,2</sup> (Probability Risk Infant Score Mortality II), basado en los valores de 14 variables clínicas y de laboratorio medidas durante las primeras 24 horas del ingreso.

#### 4.5. RECOGIDA DE DATOS Y FUENTE DE INFORMACIÓN

Los pacientes serán reclutados en la UCIP por orden sucesivo de ingreso.

Si el paciente cumple criterios de inclusión y ninguno de exclusión, se informará a la familia y se entregará copia del consentimiento informado, donde figurará un teléfono de contacto para posibles dudas acerca del estudio. A cada paciente se le asigna un código para evitar la identificación con fines diferentes a los de este estudio y se registran los valores de las variables estudiadas en la base de datos.

• **Métodos analíticos:** El laboratorio del Complejo Hospitalario Regional Universitario de Málaga permite la determinación plasmática cuantitativa de los parámetros analíticos necesarios para este proyecto, ya que están presentes en su cartera de servicios. Las muestras deberán extraerse en las primeras 48 horas del ingreso e incluirán las siguientes determinaciones:

- Bioquímica: Calcio iónico, calcio total, albúmina, PTH, magnesio, fósforo, ácido úrico, lactato, PCR y PCT.

- Vitamina D: 25-OH-vitamina D total (medición en ng/ml). Se empleará para ello el kit Vitamin D total (Cobas® e-602), inmunoensayo de electroquimioluminiscencia. Para cada muestra se necesitará un volumen de sangre de 2 – 2.5 ml para obtener un mínimo de 0.7 – 1 ml de suero en tubo seco. A continuación la muestra se centrifugará y se decantará el suero para su posterior análisis.

La exposición será determinada en función de la medición de 25-OH-vitamina D. Los pacientes con déficit de vitamina D, entendida como la existencia de niveles <20 ng/ml en una determinación espaciada al menos 12 horas de la expansión volumétrica o circulación extracorpórea si hubiera existido, se clasificarán como expuestos. En caso de no presentar déficit de vitamina D según los criterios anteriormente descritos se incluirá dentro del grupo de pacientes no expuestos.

Se administrará el cuestionario PRISM-II (Probability Risk Infant Score Mortality) para predecir la escala de gravedad, basado en los valores de 14 variables clínicas y de laboratorio medidas durante las primeras 24 horas del ingreso.

- **Métodos informáticos:** Para la elaboración de este estudio se ha utilizado un ordenador MacBook Pro®. Para el tratamiento del texto se usará el



procesador de textos “Microsoft Word 2011®”. Los gráficos se realizarán mediante “SPSS 20®” y “Microsoft Excel 2011®”.

- **Métodos estadísticos:** Para el análisis estadístico de los resultados, se utilizará el paquete estadístico SPSS 20.0®. Para la recogida de datos se construirá una base de datos en Microsoft Excel 2011®. Para el análisis y elaboración de las conclusiones del estudio se contará con la colaboración de un experto en estadística de la fundación IMABIS.

#### 4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Se realizará un análisis descriptivo de las variables con estimación puntual e intervalo de confianza para el 95% de seguridad, tratándose las variables continuas como medias, desviación estándar, valores máximo y mínimo. Cuando las variables analizadas tengan desviaciones elevadas, se incluirá el cálculo de otras medidas de tendencia central como medianas o modas. Las variables categóricas se presentarán en frecuencias y porcentajes.

El análisis en función de cada uno de los objetivos se describe a continuación:

- **Fase I.** Se corresponde con el diseño del **estudio de cohortes**, definiendo la exposición como presentar déficit de vitamina D. Este diseño dará respuesta al objetivo general y a los objetivos específicos 2, 3 y 4.

Con objeto de analizar la asociación del déficit de vitamina D con la mortalidad, se aplicará análisis de supervivencia. Se construirá la curva de supervivencia de cada uno de los grupos ( Déficit de vitamina D / no déficit) mediante el método de Kaplan-Meier. Se realizará una comparación de las curvas de supervivencia mediante el test de log-rank. Se construirá el modelo de regresión de cox bivalente el cuál nos aportará el Hazard Ratio acompañado de su respectivo intervalo de confianza al 95%. Para la variable morbilidad se procederá del mismo modo considerando el evento como la aparición de morbilidad.

Para valorar la asociación de los niveles de vitamina D con el índice pronósticos de mortalidad pediátrica PRISM se realizará un análisis bivalente, calculando el correspondiente coeficiente de correlación. Para ello se comenzará analizando si las variables se distribuyen según una normal mediante el test de Shapiro-Wilk. Para el caso paramétrico se calculará el coeficiente de correlación de Pearson y para el caso no paramétrico se obtendrá el coeficiente de correlación de Spearman. Con el resto de variables sobre índices pronóstico (PRISM-II), se procederá del mismo modo.

Para determinar las características clínicas y socio-demográficas de los sujetos con déficit de vitamina D, comenzaremos realizando un análisis descriptivo en función de la presencia de déficit de vitamina D (sí/no). Para analizar la asociación de déficit de vitamina D con variables socio-demográficas o clínicas de tipo cualitativo se usará tablas de contingencia y el test de la chi-cuadrado. En el caso de variables cuantitativas se comenzará analizando si la

variable se distribuye de forma normal en cada uno de los grupos (Déficit de vitamina D sí / no), en caso afirmativo se recurrirá a la aplicación de test paramétricos (t-Student), en caso contrario se aplicarán test no paramétricos (U de Mann-Whitney).

Para analizar la influencia de distintas variables dependientes (variables clínicas, sociodemográficas, niveles de vitamina D y marcadores del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica) en la supervivencia de pacientes, se construirá un modelo de regresión de Cox multivariante. Para ello se comenzará realizando un análisis de supervivencia bivariante para cada una de las variables dependientes consideradas. Aquellas variables con significación estadística serán incluidas en modelos de regresión de Cox paso a paso para identificar factores pronósticos relacionados con la supervivencia.

**- Fase II.-** Se corresponde con el diseño de **estudio de prevalencia**.

La prevalencia de déficit de vitamina D se calculará dividiendo el nº de casos encontrados con déficit de vitamina D, por el número de sujetos incluidos en el estudio en la fase II. Este resultado se presentará acompañado de su respectivo intervalo de confianza al 95%.

En ambas fases, se trabajará con un nivel de confianza del 95% considerándose, pues, los valores de p inferiores a 0.05 como estadísticamente significativos.

#### 4.7. ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN

La participación en el proyecto ha sido voluntaria y la solicitud de participación se ha realizado como una propuesta de investigación de salud, independiente del proceso asistencial convencional del sistema sanitario. A los participantes, o en su caso a los padres o tutores legales, se les informó por escrito de la naturaleza de la investigación y del uso que se va a hacer de la información que se obtenga. Además de la información verbal a los participantes, se les entregó un consentimiento informado por escrito. El proyecto ha sido evaluado y aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Hospital Regional Universitario de Málaga.

Para garantizar la confidencialidad de la información, todos los datos recogidos en este proyecto han sido registrados de forma anónima, siguiendo estrictamente las leyes y normas de protección de datos en vigor (Ley 41/2002 de 14 de noviembre; Ley 15/1999 de 15 de diciembre). Con el fin de proteger la confidencialidad de la información personal de los participantes se han tomado las siguientes medidas:

- Todos los datos que puedan identificar al participante se mantienen separados del resto de la información recogida en los diferentes cuestionarios del estudio así como de la historia clínica.
- Cada caso del estudio contará con un número de identificación que es el que figura en las bases de datos.

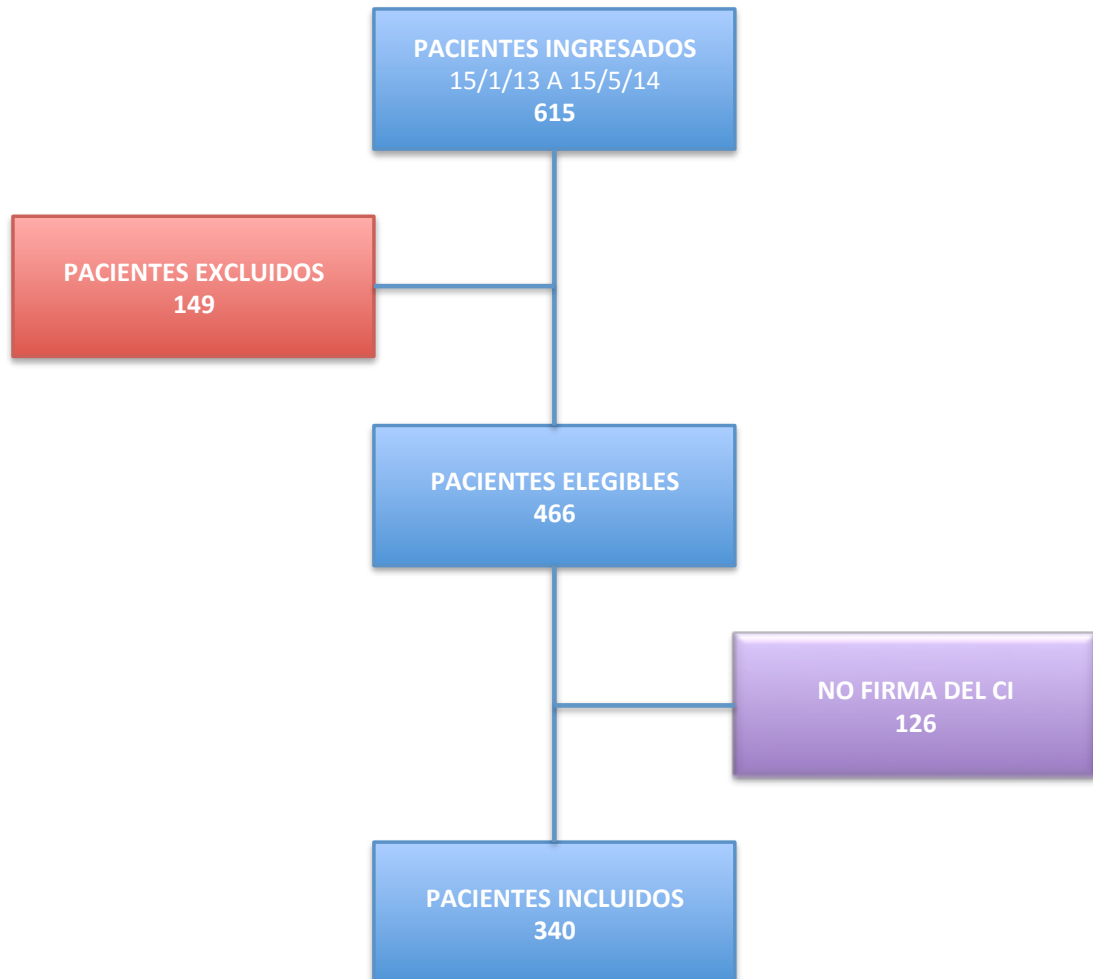
- El análisis de la información se ha realizado siempre de forma agregada y nunca individual.
- Todos los investigadores implicados en el proyecto se comprometen a cumplir las normas necesarias para preservar la confidencialidad de la información facilitada por los participantes.
- Los datos personales se desvincularán permanentemente de los datos clínicos con el fin de proteger la identidad de los participantes.
- Todas las bases de datos del proyecto estarán protegidas electrónicamente con códigos que limiten el acceso únicamente a los investigadores del proyecto.

El investigador se compromete a realizar el estudio de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki. El estudio se ha desarrollado de acuerdo con el protocolo y asegura el cumplimiento de la Normas de Buena Práctica Clínica, tal como se describe en las Normas Tripartitas Armonizadas de la ICH para Buena Práctica Clínica 1996.

# RESULTADOS

## 5.1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

### 5.1.1. Selección de los pacientes



**Figura 5.1.- Diagrama de flujo que describe el proceso de selección de la muestra**

Durante el periodo comprendido entre el 15 de enero de 2013 y el 15 de mayo de 2014 hubo un total de 615 pacientes admitidos en UCIP. De estos, 149 no se incluyeron en el estudio debido a que presentaban uno o más criterios de exclusión previamente definidos:

- Edad  $\leq 6$  meses o  $> 16$  años: 145 pacientes
- Tratamiento con vitamina D en el mes previo (la mayoría de edad  $< 6$  meses): 28
- Enfermedad malabsortiva (la mayoría de ellos con suplementos de vitamina D): Siete pacientes
- Enfermedad paratiroidea: Dos pacientes
- Insuficiencia renal crónica: Dos pacientes

De los 466 pacientes elegibles para participar en el proyecto, hubo un total de 126 individuos que no firmaron el consentimiento informado, que serán analizadas con posterioridad en el apartado 5.1.4. Finalmente, se incluyeron para el análisis 340 pacientes (figura 5.1).

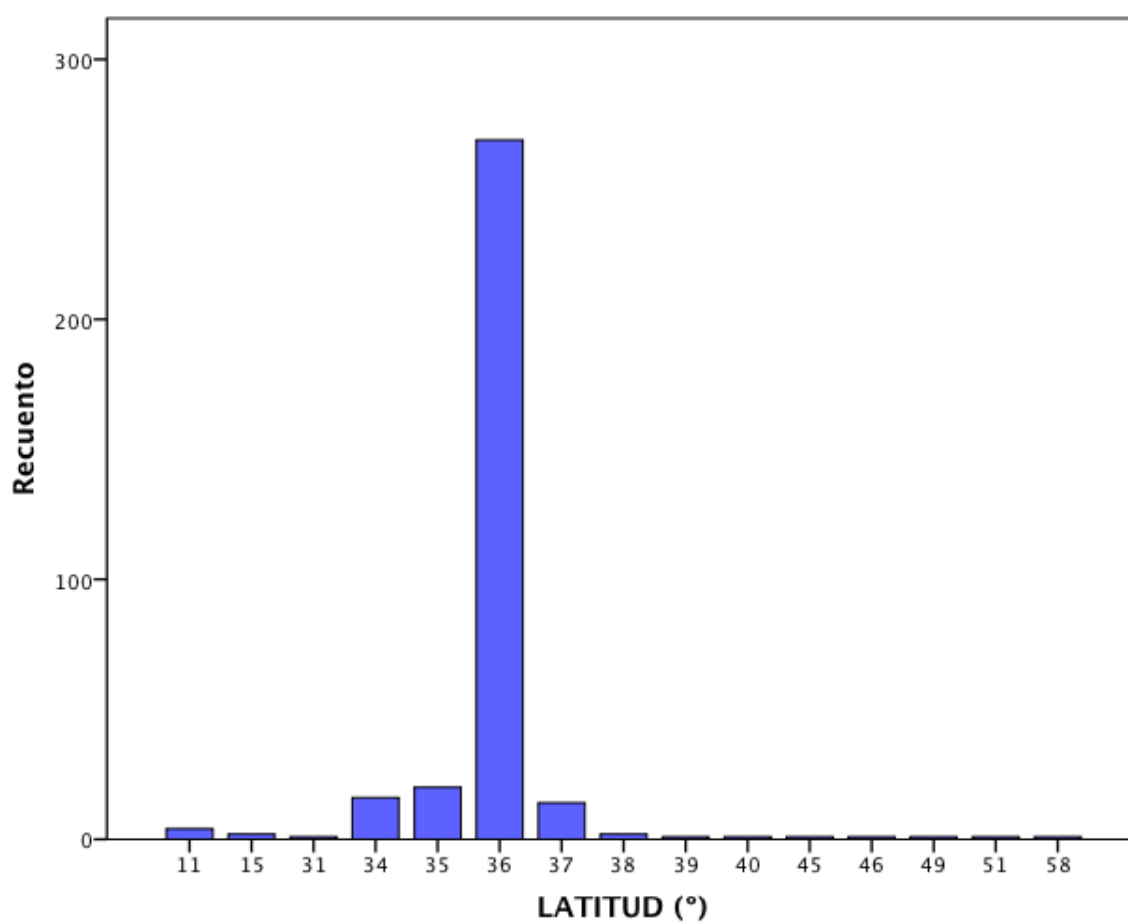


### 5.1.2. Características sociodemográficas de la muestra

Se incluyeron 340 casos a lo largo del periodo de estudio, 45.6% (155) de mujeres y 54.4% (185) de hombres. La mediana de edad fue de 60 meses (RIQ 23 – 117), con una mediana de peso de 16 kg (RIQ 11 – 31.35), de talla 1.05 metros (0.84 – 1.39) y de IMC 15.85 (RIQ 14.12 – 19.51).

Un 93.8% (319) eran de raza blanca, un 5.3% (18) de raza negra y un 0.6% (2) de raza amarilla. El 83.5% (284) era de nacionalidad española, el 9.4% (32) de nacionalidad marroquí y el resto (23) procedían de diferentes países.

El 57.2% (269) de los niños procedían de ciudades andaluzas con una latitud de 36°, un 4.3% (20) de ciudades con latitud 35° (Melilla y Al Hoceima de Marruecos), un 3.4% (16) de latitud 34° (Nador de Marruecos), un 3% (14) de latitud 37° (Sevilla, Jaén, Granada, Córdoba, Antequera, Humilladero, Sierra de Yeguas, Cortes y Mollina) y el resto (16) de ciudades más lejanas de latitudes diversas (ver figura 5.2).



**Figura 5.2. Gráfico de barras de la distribución de la latitud de la ciudad/país de residencia habitual.**

Tabla 5.1.- Listado de ciudades/países de residencia habitual en función de la latitud

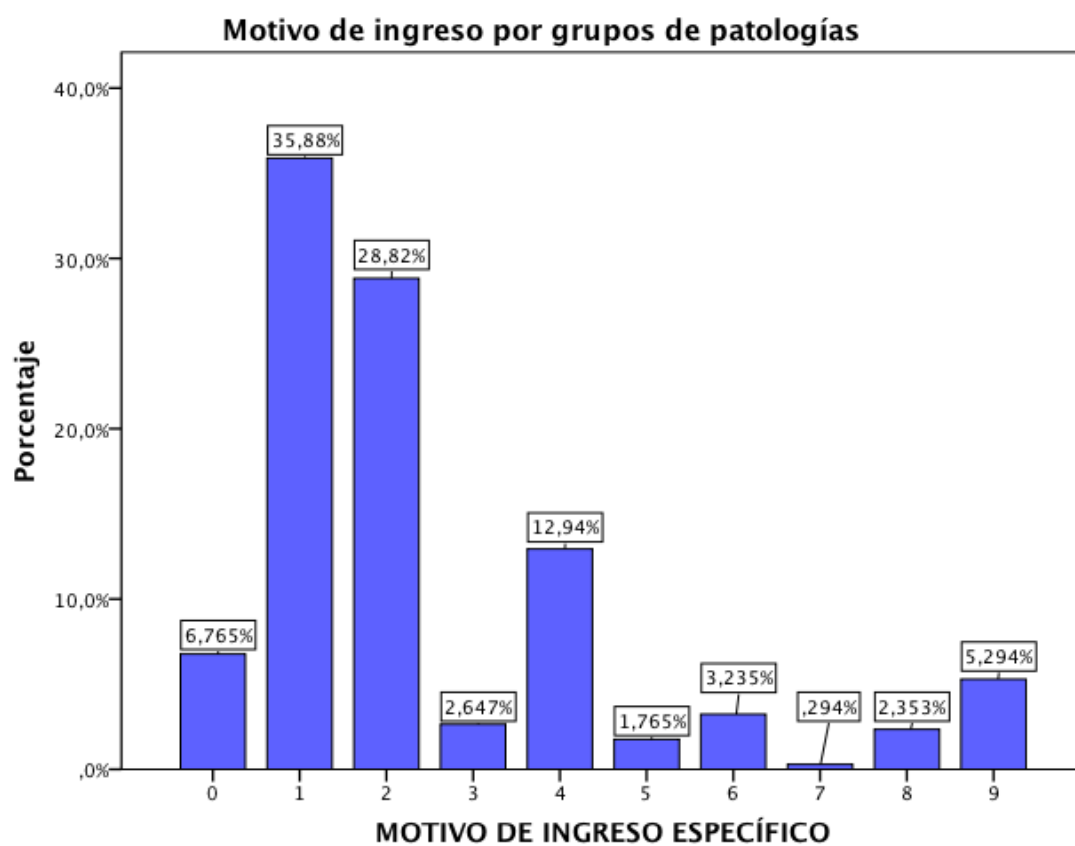
Latitud	Localización geográfica			
11°	Guinea Bissau			
15°	Mauritania			
31°	Jerusalén			
34°	Nador			
35°	Al Hociema D'Al Hoccima Melilla			
36°	Algarrobo Alhaurín de la Torre Alhaurín El Grande Almería Almuñécar Álora Alozaina Arroyo Coche Arroyo de la Miel Benahavis Benajarafe Cádiz	Cala del Moral Campanillas Campillos Cártama Casarabonela Churriana Coín El Ejido Estepona Fuengirola Jubrique La Línea	Málaga Manilva Marbella Mijas Costa Monda Pizarra Puerto de la Torre Rincón de la Victoria Riogordo Ronda Roquetas de Mar Sabinillas	Salares San Pedro de Alcántara San Roque Tarifa Torre de Benagalbón Torre del Mar Torremolinos Torrox Vélez-Málaga Villanueva de la Concepción
37°	Antequera Córdoba Cortes Granada Humilladero Jaén Mollina			
38°	Linares			
39°	Mallorca			
40°	Madrid			
45°	Francia			
46°	Suiza			
49°	Luxemburgo			
51°	Países Bajos			
58°	Suecia			

El nivel de estudios de los padres fue en el 29.5% (81 de 275) de los casos estudios primarios, en 34.5% (95 de 275) de los casos estudios secundarios y en 26.9% (74 de 275) estudios superiores. Un 9.1% (25 de 275) de los padres de estos niños carecían de formación académica.

El 64.1% (218) correspondió a ingresos por patología quirúrgica programada, el 29.1% (99) a patología médica urgente, el 6.5% (22) fueron ingresos postoperatorios urgentes y sólo un paciente ingresó de forma programada para tratamiento médico. Los motivos de ingreso específicos más frecuentes fueron de causa hemodinámica (35.9%), neurológica / neuroquirúrgica (28.8%) y por alteraciones patología intraabdominal / postoperatorios de cirugía digestiva (12.9%). El resto pueden consultarse en la tabla 5.2 y figura 5.3. Un 25.52% (97 pacientes) fueron postoperatorios de cirugía cardiovascular.

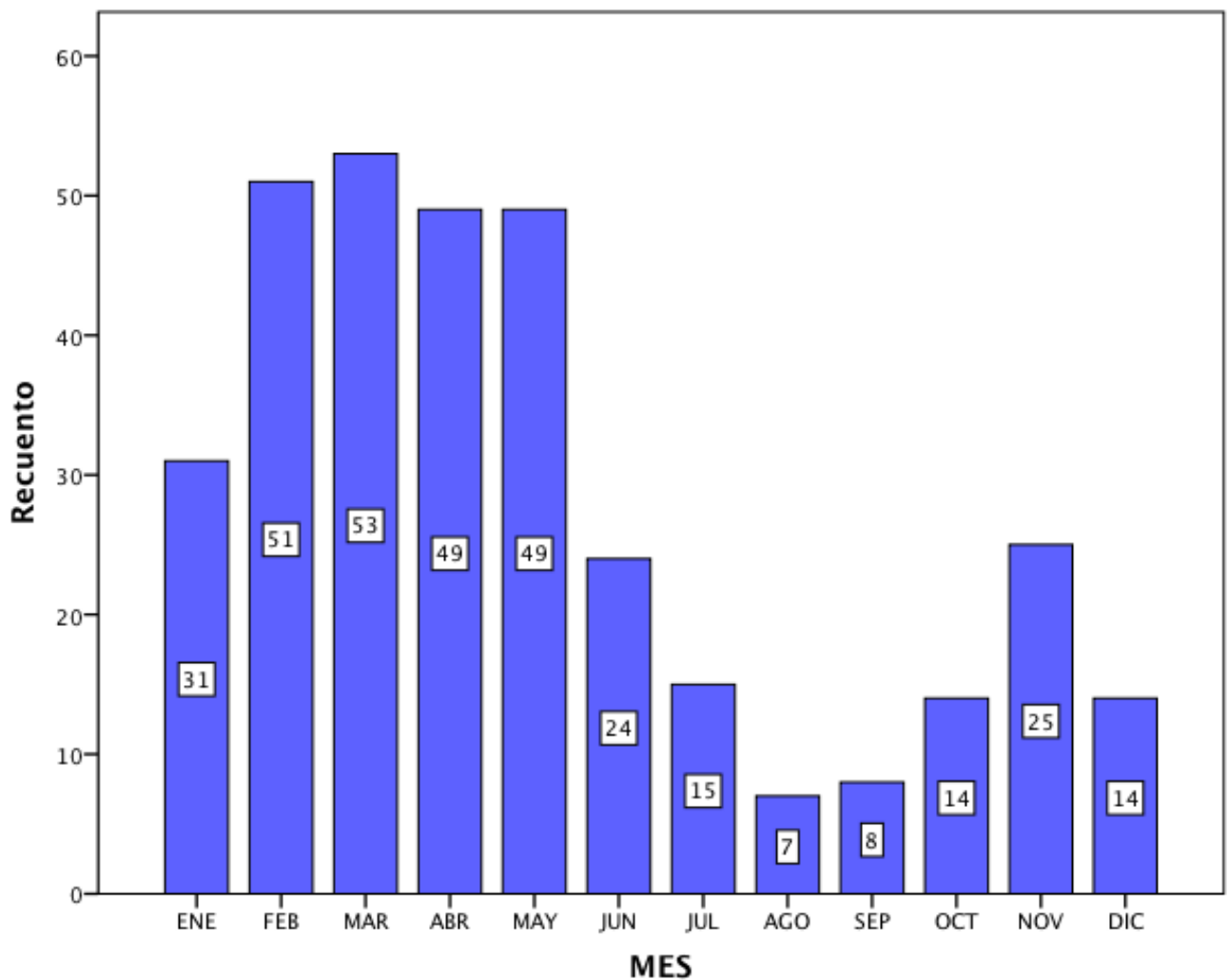
**Tabla 5.2. MOTIVO DE INGRESO ESPECÍFICO**

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
0 Respiratoria	23	6.8	6.8	6.8
1 Hemodinámica	122	35.9	35.9	42.6
2 Neurológico	98	28.8	28.8	71.5
3 Medio interno/Renal	9	2.6	2.6	74.1
4 Abdominal	44	12.9	12.9	87.1
5 Maxilofacial	6	1.8	1.8	88.8
6 ORL	11	3.2	3.2	92.1
7 Genitourinario	1	0.3	0.3	92.4
8 Gran quemado	8	2.4	2.4	94.7
9 Traumatológico	18	5.3	5.3	100
Total	340	100	100	100



**Figura 5.3.- Motivo de ingreso por grupos de patologías**

Un 38.2% (130) ingresó en primavera, un 36.5% (124) en invierno, un 15% (51) en otoño y un 10.3% (35) en verano. La distribución de ingresos según el mes del año puede consultarse en la figura 5.4.



**Figura 5.4. Gráfico de barras que muestra la distribución en frecuencia absoluta del mes de ingreso de los sujetos incluidos en el estudio**

El 75.9% (258) de los pacientes incluidos tenían algún tipo de enfermedad de base, siendo las más frecuentes las cardiopatías (42.2%), las

neoplasias (19.8%) y los trastornos o alteraciones neurológicas de diversa índole (12%). El resto de enfermedades de base de los pacientes puede consultarse en la tabla 5.3.

**Tabla 5.3. ENFERMEDAD DE BASE**

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Cardiopatía	109	32.1	42.2
Neoplasia	51	15.0	19.8
Alteraciones o malformaciones óseas	14	4.1	5.4
Trastorno neurológico	31	9.1	12
Malformación genitourinaria	4	1.2	1.6
Trastorno digestivo y del árbol hepatobiliar	16	4.7	6.2
Enfermedad respiratoria crónica	7	2.1	2.7
Síndrome polimalformativo	7	2.1	2.7
Enfermedad hematológica	3	0.9	1.2
Metabolopatía	2	0.6	0.8
Diabetes mellitus	5	1.5	1.9
Arritmia	4	1.2	1.6
Hipertrofia amigdalal	2	0.6	0.8
Enfermedad renal	1	0.3	0.4
Trastorno psiquiátrico	1	0.3	0.4
Enfermedad tiroidea	1	0.3	0.4
Total	258	75.9	100
Ninguna	82	24.1	
Total	340	100	

La estancia mediana fue de 3 días (RIQ 1 - 4). La puntuación mediana en la escala PRISM-II en las primeras 24 horas de ingreso fue de 5 (RIQ 1 - 9). Hubo 10 fallecimientos (2,9%).



### 5.1.3. Características evolutivas en UCIP de la muestra

El 43.8% (149) presentó algún tipo de morbilidad durante el ingreso: Veintitrés pacientes (6.8%) requirieron ventilación no invasiva durante una mediana de 2 días (1 - 5), 140 (41.2%) ventilación invasiva durante una mediana de 24 horas (6 - 48), en 60 de los cuales (84%) la duración fue inferior a 24 horas. Cincuenta y ocho pacientes (17.1%) necesitaron drogas vasoactivas a lo largo de su estancia con una duración mediana de 3 días (2 - 4.25). Once sujetos (3.2%) precisaron TCDER durante una mediana de 7 días (2 - 7), 80 (23.5%) antibioterapia terapéutica durante una mediana de 8 días (7 - 14), 18 (5.3%) nutrición parenteral durante una mediana de 3 días (1.75 - 7.75) y once (3.2%) pacientes tuvieron otro tipo de complicaciones, entre las que destacan las alteraciones neurológicas. Diez pacientes fallecieron (2.9%) durante su estancia en UCIP.

Los niveles analíticos de los diferentes parámetros analizados se muestran en la tabla 5.4.

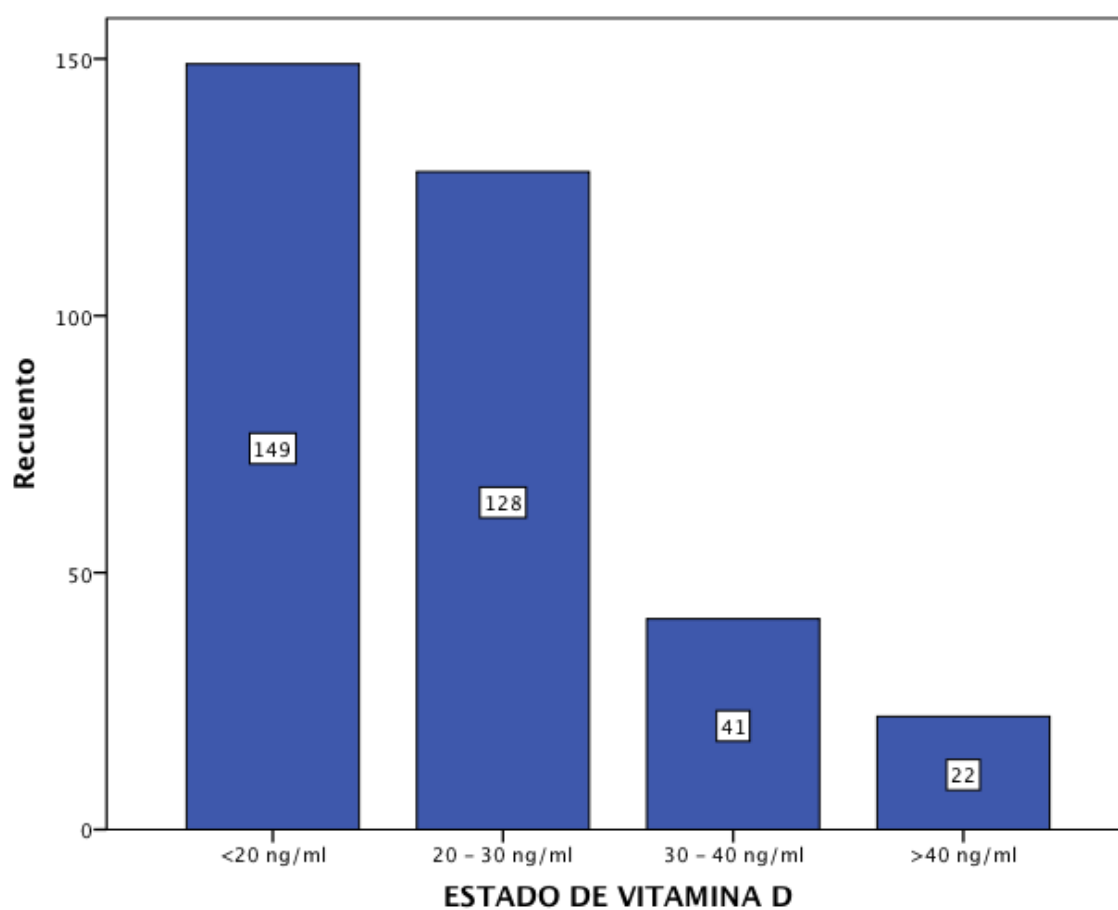
**Tabla 5.4. NIVELES SANGUÍNEOS DE LOS PARÁMETROS ANALIZADOS**

Hemoglobina (g/dl)	15.51 ± 1.74
Leucocitos (mm <sup>-3</sup> )	11580 (8760 – 15720)
Neutrófilos (mm <sup>-3</sup> )	8500 (5300 – 12600)
Linfocitos (mm <sup>-3</sup> )	1500 (1000 – 2300)
Monocitos (mm <sup>-3</sup> )	510 (290 – 770)
Plaquetas (mm <sup>-3</sup> )	223000 (175000 – 281000)
Glucosa (mg/dl)	130 (105.5 – 161.5)
Urea (mg/dl)	24 (17 – 32.5)
Creatinina (mg/dl)	0.39 (0.27 – 0.53)
Albúmina (g/dl)	3.1 (2.7 – 3.65)
Úrico (mg/dl)	3.5 (2.5 – 4.4)
Calcio total (mg/dl)	8.4 (8.0 – 8.8)
Calcio iónico (mmol/L)	1.26 (1.21 – 1.30)
Fósforo (mg/dl)	4.5 ± 1.05
Magnesio (mg/dl)	2 (1.7 – 2.2)
Lactato (mmol/L)	1.5 (1.2 – 2.1)
pH	7.32 ± 0.07
Bicarbonato (mmol/L)	22.3 (20.1 – 24.95)
PCR (mg/L)	5.7 (2.9 – 33.5)
PCT (ng/ml)	0.1 (0.05 – 0.8)
Los valores se muestran como media ± desviación típica si la variables sigue una distribución normal y mediana (rango intercuartílico) en el resto de variables	

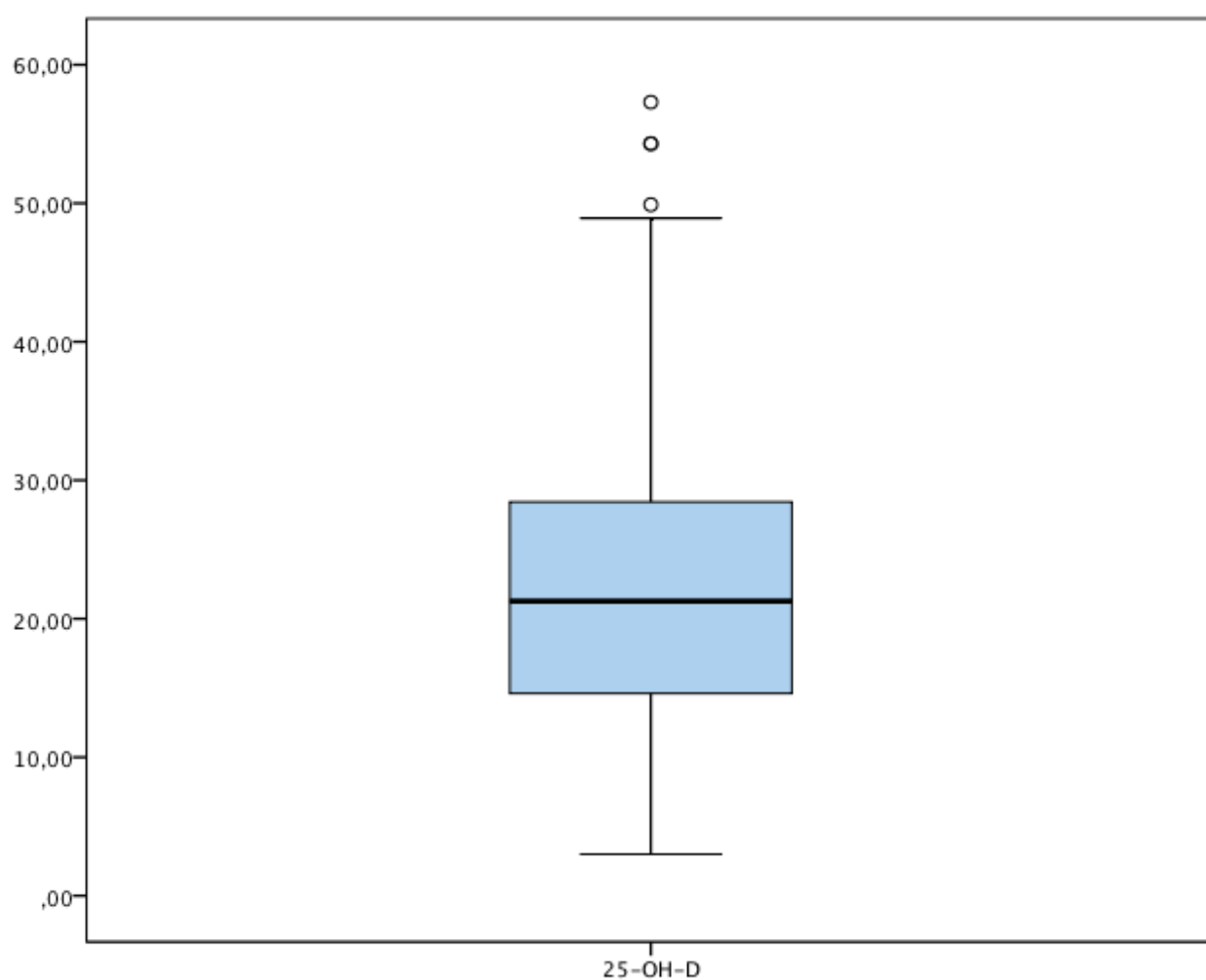
La prevalencia de déficit de vitamina D (<20 ng/ml) fue del 43.8% con un intervalo de confianza al 95% comprendido entre 38.53% y 49.07%. La media de concentración plasmática de 25-OH-vitamina-D fue de  $22.28 \pm 10.55$  ng/ml. El IC95% para la media de vitamina D poblacional fue de 22.28 ng/ml (21.15, 23.41). El 37,5% (128 pacientes) presentaron niveles insuficientes (IC95% 32.35, 42.64). Sólo un 18,6% (63 pacientes) tuvo niveles suficientes (IC95% 12.64, 20.55), de los cuales 22 individuos (6,5% del total de la muestra) mostró concentraciones óptimas (>40 ng/ml) (IC95% 3.88, 9.12) (Tabla 5.5, figuras 5.5 a 5.7).

**Tabla 5.5. Estado de vitamina D**

	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>	<b>IC 95%</b>
<20 ng/ml	149	43.8	38.53 – 49.07
20 – 30 ng/ml	128	37.6	32.35 – 42.64
30 – 40 ng/ml	41	12.1	9.01 – 15.95
>40 ng/ml	22	6.5	3.88 – 9.12
<b>Total</b>	340	100	



**Figura 5.5. Distribución de frecuencias en diagrama de barras del estado de vitamina D de la muestra.**



**Figura 5.6. Diagrama de cajas que muestra la distribución de los niveles de vitamina D.**

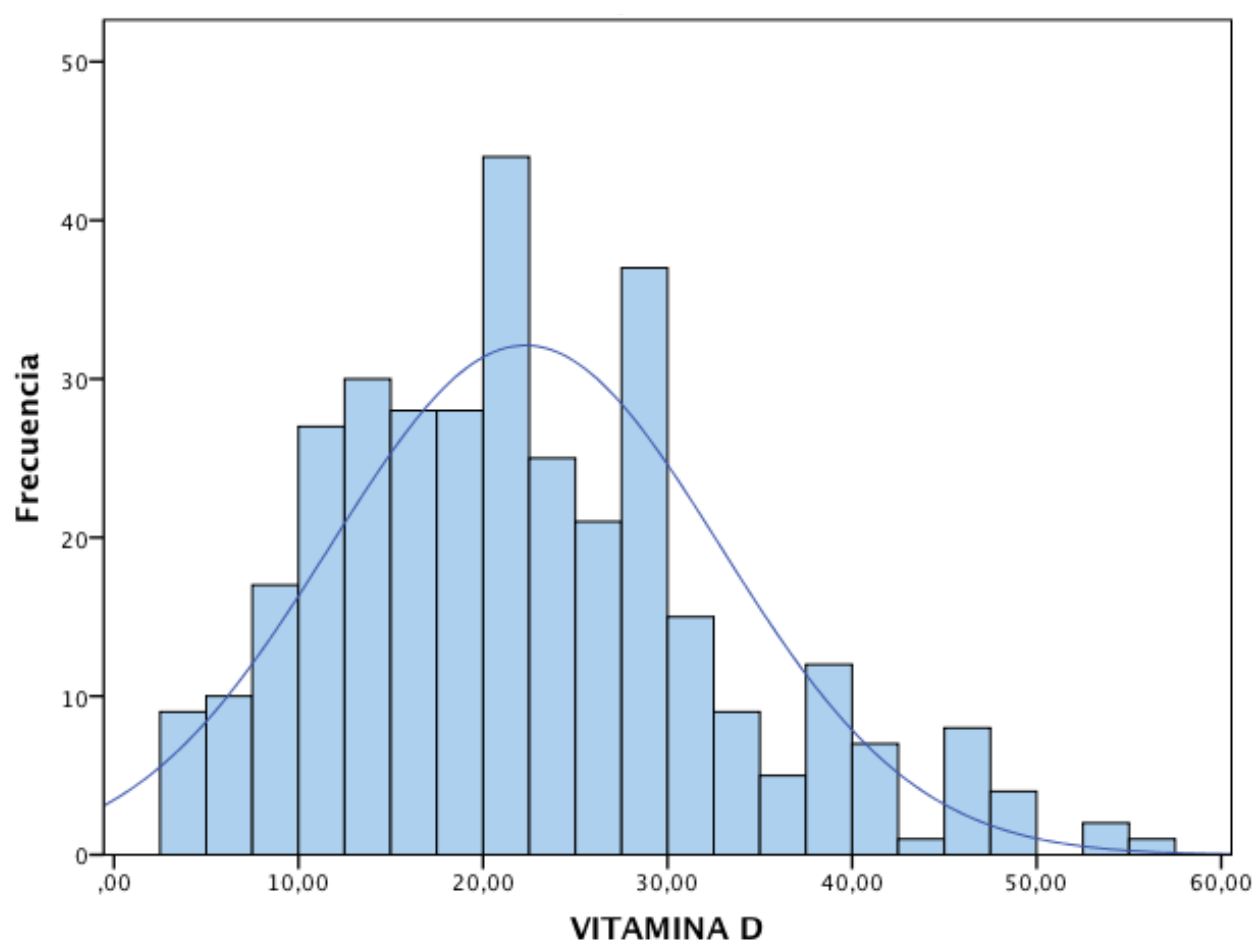


Figura 5.7. Histograma de la distribución de los niveles de vitamina D

#### 5.1.4. Análisis de los sujetos que no firmaron el consentimiento informado

Los pacientes tenían una edad y sexo similar a los incluidos en el estudio (tabla 5.6). El porcentaje de ingresos urgentes fue del 37.6%, sin diferencias respecto al grupo de estudio. La puntuación mediana en la escala PRISM-II en las primeras 24 horas fue superior en los pacientes incluidos, así como la estancia en UCIP. El porcentaje de pacientes que presentó algún tipo de morbilidad durante el ingreso fue discretamente superior en el grupo de pacientes incluidos, aunque las diferencias no fueron significativas. Sin embargo, hubo mayor mortalidad entre los sujetos no incluidos en la muestra analizada, siendo esta diferencia no significativa a nivel estadístico.

**Tabla 5.6. Características básicas de los sujetos elegibles**

		INCLUIDOS	NO INCLUIDOS	Nivel de significación
Edad (meses)		55 (21 – 108)	55 (20 – 101)	0.39
Sexo femenino		155 (45.6%)	57 (45.2%)	0.94
Motivo de ingreso	Urgente	121 (35.6%)	47 (37.6%)	0.69
	Programado	219 (64.4%)	78 (62.4%)	
PRISM-II		5 (1 - 9)	3 (0 – 6)	<0.001*
Estancia (días)		2 (1 – 4)	1.1 (0.66 – 3)	<0.001*
Morbilidad		149 (43.8%)	61 (48.7%)	0.08
Mortalidad		10 (2.9%)	5 (4%)	0.57
Total		340	126	

## 5.2. ANÁLISIS BIVARIANTE

### 5.2.1. Perfil de los pacientes con déficit de vitamina D y sin él

En las tabla 5.7 y 5.8 se muestra el análisis descriptivo de las variables estudiadas en función del estado de vitamina D, diferenciando los sujetos con déficit ( $<20$  ng/ml) o sin él ( $\geq 20$  ng/ml). Las variables cuantitativas que siguen una distribución normal se describen mediante la media y la desviación típica, utilizando el test estadístico t de Student, 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. Para las variables cualitativas se expresan las frecuencias absolutas y los porcentajes, utilizando la prueba de chi cuadrado y el test exacto de Fisher cuando no se cumplan los supuestos para poder aplicar aquélla.

En la tabla 5.9 se muestra el análisis de las correlaciones lineales (coeficiente de Pearson y coeficiente de determinación) y regresión lineal univariante para las variables cuantitativas consideradas en el estudio en relación a los niveles de 25-OH-D.



Tabla 5.7. Características de los pacientes con y sin déficit de vitamina D

		Déficit de vit D	No déficit de vit D	p
<b>Edad</b>		61 (24 - 122)	47 (18 - 102)	0.039*
<b>Peso</b>		18 (12-35)	15 (10-28)	0.041*
<b>Talla</b>		1.06 (0.88-1.41)	1.03 (0.81-1.36)	0.26
<b>IMC</b>		15.70 (14.17-19)	15.67 (13.91-19.48)	0.97
<b>Raza</b>	Blanca	138 (92.6%)	182 (95.3%)	0.26
	Negra	9 (6%)	9 (4.7%)	
	Amarilla	2 (1.3%)	0 (0%)	
<b>Estudios de los padres</b>	Ninguno	10 (8.7%)	15 (9.4%)	0.016*
	Primarios	32 (27.8%)	49 (30.6%)	
	Secundarios	31 (27%)	64 (40%)	
	Superiores	42 (36.5%)	32 (20%)	
<b>Latitud (°)</b>		36 (36 - 36)	36 (36 - 36)	0.52
<b>Estación del año</b>	Primavera	66 (44.3%)	64 (33.5%)	0.032*
	Verano	13 (8.7%)	22 (11.5%)	
	Otoño	14 (9.4%)	37 (19.4%)	
	Invierno	56 (37.6%)	68 (35.6%)	
<b>Enfermedad de base</b>		112 (75.2%)	146 (76.4%)	0.78
<b>MI general</b>	Urgente	51 (34.2%)	70 (36.6%)	0.64
	Programado	98 (65.8%)	121 (63.4%)	
<b>PO cardiovascular</b>		49 (32.9%)	48 (25.1%)	0.11
<b>PRISM-II</b>		5 (3-10.7)	5 (0-8)	0.008*
<b>Estancia UCIP</b>		3 (1-5.5)	2 (1-3)	0.001*
<b>Morbilidad</b>		91 (61.1%)	58 (30.4%)	<0.001*
<b>Mortalidad</b>		7 (4.7%)	3 (1.6%)	0.09
Los valores se muestran como media $\pm$ desviación típica si la variables sigue una distribución normal (pruebas paramétricas) y mediana (rango intercuartílico) en el resto de variables (pruebas no paramétricas)				

**Tabla 5.8. Características de los parámetros analíticos de pacientes con y sin déficit de vitamina D**

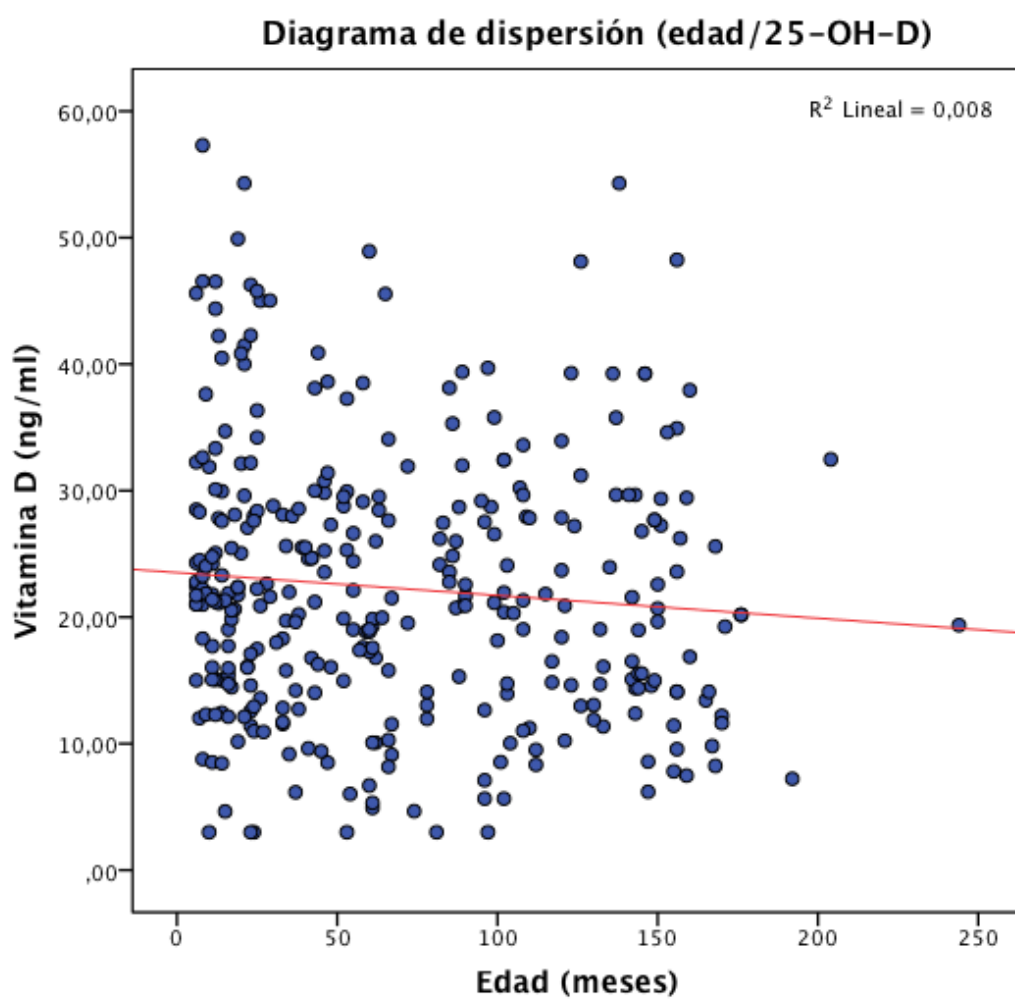
	Déficit de vit D	No déficit de vit D	p
Hemoglobina (g/dl)	11.50 ± 1.91	11.52 ± 1.6	0.90
Leucocitos (mm <sup>-3</sup> )	12540 (9050 – 17305)	11415 (8865 – 14810)	0.044*
Neutrófilos (mm <sup>-3</sup> )	9860 (6600 – 13800)	8300 (5265 – 11300)	0.006*
Linfocitos (mm <sup>-3</sup> )	1700 (1100 – 2400)	1500 (1000 – 2650)	0.95
Monocitos (mm <sup>-3</sup> )	630 (330 – 865)	490 (300 – 810)	0.075
Plaquetas (mm <sup>-3</sup> )	214000 (160000 – 274000)	257000 (199750 – 341250)	<0.001*
PTH (pg/ml)	56.01 ± 49.21	41.4 ± 34.6	0.004*
Glucosa (mg/dl)	133 (106.25 – 166.5)	127 (107 – 159)	0.51
Urea (mg/dl)	24 (18 – 32.5)	24 (16 – 32)	0.619
Creatinina (mg/dl)	0.39 (0.29 – 0.55)	0.37 (0.26 – 0.49)	0.023*
Albúmina (g/dl)	2.8 (2.3 – 3.5)	3.1 (2.8 – 3.5)	<0.001*
Úrico (mg/dl)	3.5 (2.2 – 4.7)	3.3 (2.22 – 4.3)	0.37
Calcio total (mg/dl)	8.3 (7.9 – 8.7)	8.6 (8.2 – 8.9)	<0.001*
Calcio iónico (mmol/L)	1.23 (1.19 – 1.27)	1.27 (1.23 – 1.30)	<0.001*
Fósforo (mg/dl)	4.64 ± 1.08	4.39 ± 1.01	0.032*
Magnesio (mg/dl)	1.9 (1.7 – 2.1)	2 (1.77 – 2.1)	0.20
Lactato	1.7 (1.2 – 2.22)	1.5 (1.2 – 1.9)	0.148
pH	7.31 ± 0.07	7.33 ± 0.07	0.035*
Bicarbonato (mmol/L)	22.8 (20.6 – 25.1)	22.3 (19.9 – 24.6)	0.246
PCR (mg/L)	9.6 (2.9 – 47.3)	4.9 (2.9 – 31.55)	0.19
PCT (ng/ml)	0.4 (0.05 – 3.27)	0.07 (0.05 – 0.46)	<0.001*
Los valores se muestran como media ± desviación típica si la variables sigue una distribución normal (pruebas paramétricas) y mediana (rango intercuartílico) en el resto de variables (pruebas no paramétricas)			

**Tabla 5.9. Análisis de la relación lineal entre variables cuantitativas con la concentración de vitamina D total**

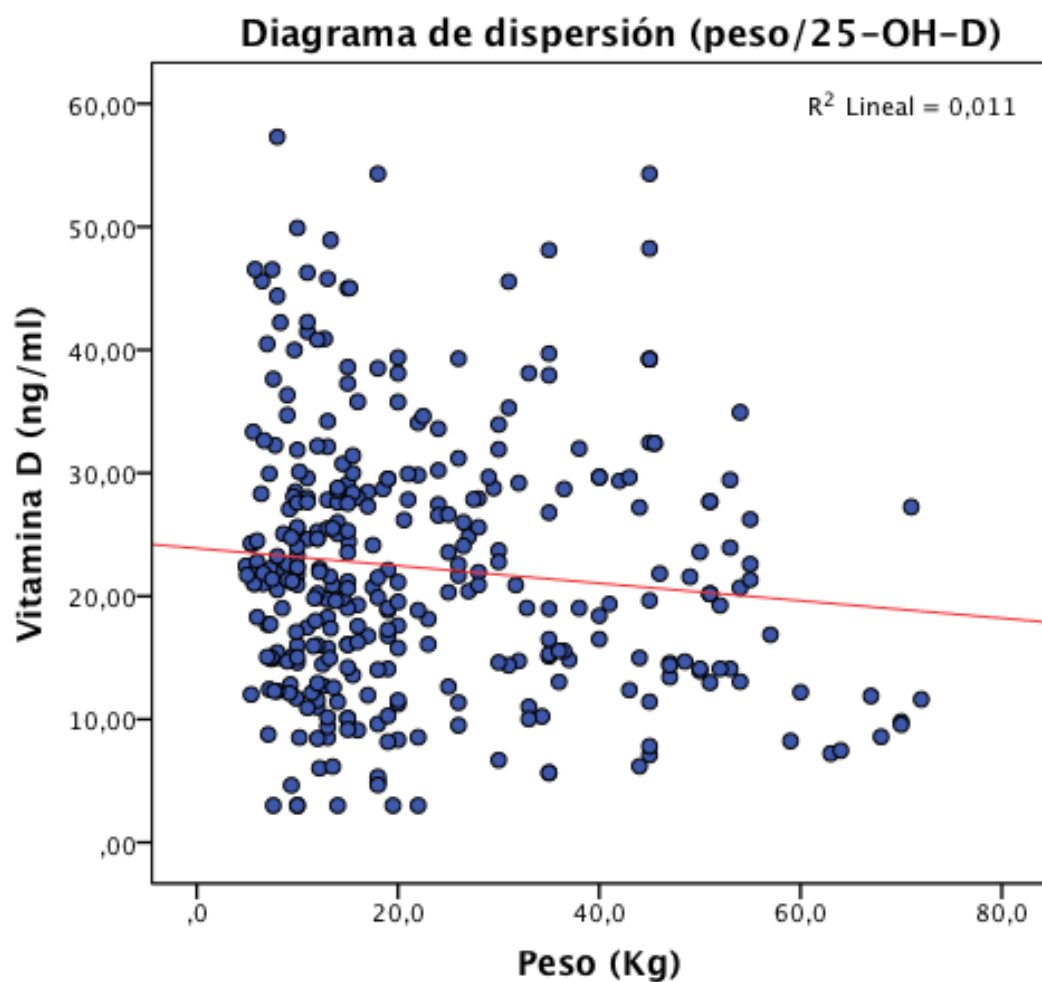
Variables	Pearson	p	R <sup>2</sup>	$\beta_0$	$\beta_1$ (IC95%)	p
Edad (m)	-0.09	0.097	0.008	78.72	-0.45 (-0.98, -0.082)	0.097
Peso (kg)	-0.105	0.054	0.011	26.07	-0.15 (-0.3, 0.02)	0.054
PRISM-II	-0.2	<0.001*	0.04	8.15	-0.104 (-0.16, -0.049)	<0.001*
Estancia (d)	-0.092	0.091	0.008	6.27	-0.77 (-1.167, -0.012)	0.09
PTH (mg/dl)	-0.216	<0.001*	0.05	67.16	-0.87 (-1.3, -0.43)	<0.001*
Hemoglobina (g/dl)	0.012	0.821	0	11.47	0.002 (-0.016, 0.02)	0.82
Leucocitos (mm <sup>-3</sup> )	-0.042	0.442	0.002	13222.4	-24.27 (-86.32, -37.76)	0.44
Neutrófilos (mm <sup>-3</sup> )	-0.092	0.09	0.009	10685.75	-49.31 (-106.35, -7.724)	0.09
Plaquetas (mm <sup>-3</sup> )	0.205	<0.001*	0.042	203091.2	2237.7 (1090.92, 3384.47)	<0.001*
Glucosa (mg/ml)	0.064	0.243	0.004	137.85	0.413 (-0.28, 1,1)	0.243
Creatinina	-0.13	0.018*	0.017	0.52	-0.004 (-0.07, -0.001)	0.018*
Úrico (mg/dl)	-0.094	0.098	0.009	23.57	-0.426 (-0.93, 0.079)	0.098
Albúmina	0.127	0.024*	0.016	2.89	0.01 (0.001, 0.019)	0.024*
Calcio total (mg/dl)	0.285	<0.001*	0.081	8.06	0.017 (0.01, 0.024)	<0.001*
Calcio iónico (mmol/L)	0.234	<0.001*	0.055	1.21	0.002 (0.001, 0.003)	<0.001*
Fósforo (mg/dl)	-0.142	0.01*	0.02	4.86	-0.015 (-0.03, -0.004)	0.01*
pH	0.161	0.004*	0.026	7.3	0.001 (0 – 0.002)	0.004*
Bicarbonato (mmol/L)	0.034	0.546	0.001	22.54	0.055 (-0.123, 0.232)	0.546
Lactato (mmol/L)	-0.05	0.396	0.002	1.92	-0.005 (-0.016, 0.006)	0.39
PCR (mg/L)	-0.06	0.271	0.004	45.11	-0.4 (-1.1, 0.31)	0.27
PCT (ng/ml)	-0.044	0.431	0.002	6.77	-0.087 (-0.3, 0.13)	0.43

Los pacientes con déficit de vitamina D tienen una mayor edad y peso que aquellos sin déficit, si bien esta relación no es lineal (figura 5.8 y 5.9). No se encuentran diferencias en cuanto a la raza de los sujetos, la presencia de enfermedad de base previamente al ingreso ni tampoco según el carácter urgente o programado del mismo.

Existe un porcentaje de pacientes postoperatorios de cirugía cardiovascular similar en ambos grupos, sin diferencias en las medias de niveles de vitamina D ( $22.6 \pm 11$  frente a  $21.5 \pm 9.4$  ng/ml en postoperatorios de cardiovascular).



**Figura 5.8. Diagrama de dispersión que refleja la relación entre la edad y los niveles de vitamina D**



**Figura 5.9. Diagrama de dispersión que muestra la relación entre el peso y la concentración de vitamina D.**

Existen diferencias significativas entre la distribución de frecuencias del nivel de estudios de los padres de niños con y sin déficit de vitamina D, apreciándose un mayor porcentaje de padres con estudios superiores entre los niños con déficit de vitamina D (36,5% frente a 20%) y menor porcentaje de estudios secundarios (27% frente a 40%) ( $p=0.016$ ).

Se analiza mediante regresión logística la relación entre la presencia o no de déficit de vitamina D y el nivel de estudios de los padres, encontrando diferencias significativas entre los niños cuyos padres tienen estudios primarios frente a superiores (OR 0.5, IC95% 0.26 – 0.94,  $p=0.033$ ) y estudios secundarios frente a superiores (OR 0.34, IC95% 0.19 – 0.69,  $p=0.002$ ) (tabla 5.10).

**Tabla 5.10. Regresión logística de la relación entre déficit de vitamina D (variable resultado) y el nivel de estudios de los padres (variable explicativa)**

NIVEL DE ESTUDIOS DE LOS PADRES	p	OR	IC 95% para OR	
			Inferior	Superior
NIVEL DE ESTUDIOS PADRES	0.018*			
Ninguno vs Superiores	0.150	0.508	0.202	1.278
Primarios vs Superiores	0.033*	0.498	0.262	0.944
Secundarios vs Superiores	0.002*	0.369	0.197	0.692
Constante	0.246	1.312		

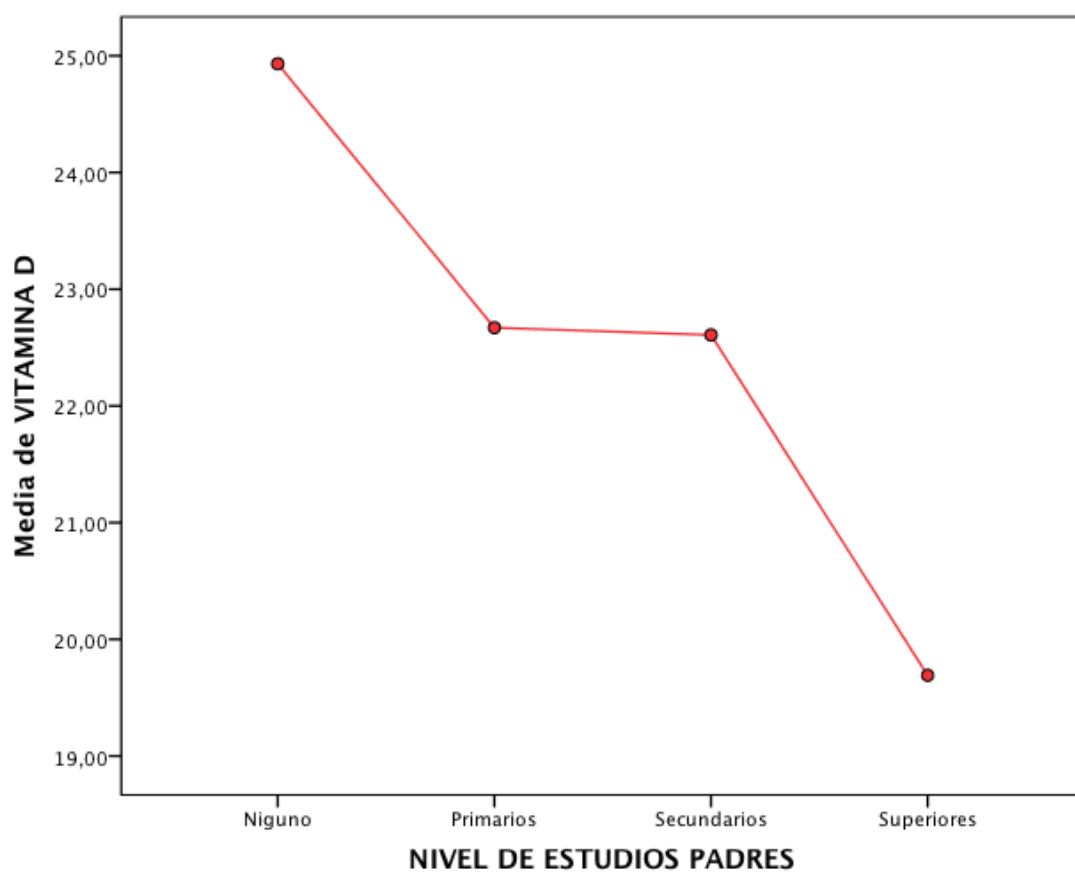
Si exploramos esta relación con el test ANOVA observamos que las diferencias no son estadísticamente significativas ( $p= 0.09$ ) debido a que los intervalos de confianza se solapan, pero se aprecian valores decrecientes de los niveles de vitamina D a medida que el nivel de estudios es más elevado (tabla 5.11, figuras 5.10 y 5.11).

**Tabla 5.11. Análisis de la varianza de los niveles de vitamina D en relación al nivel de estudio de los padres**

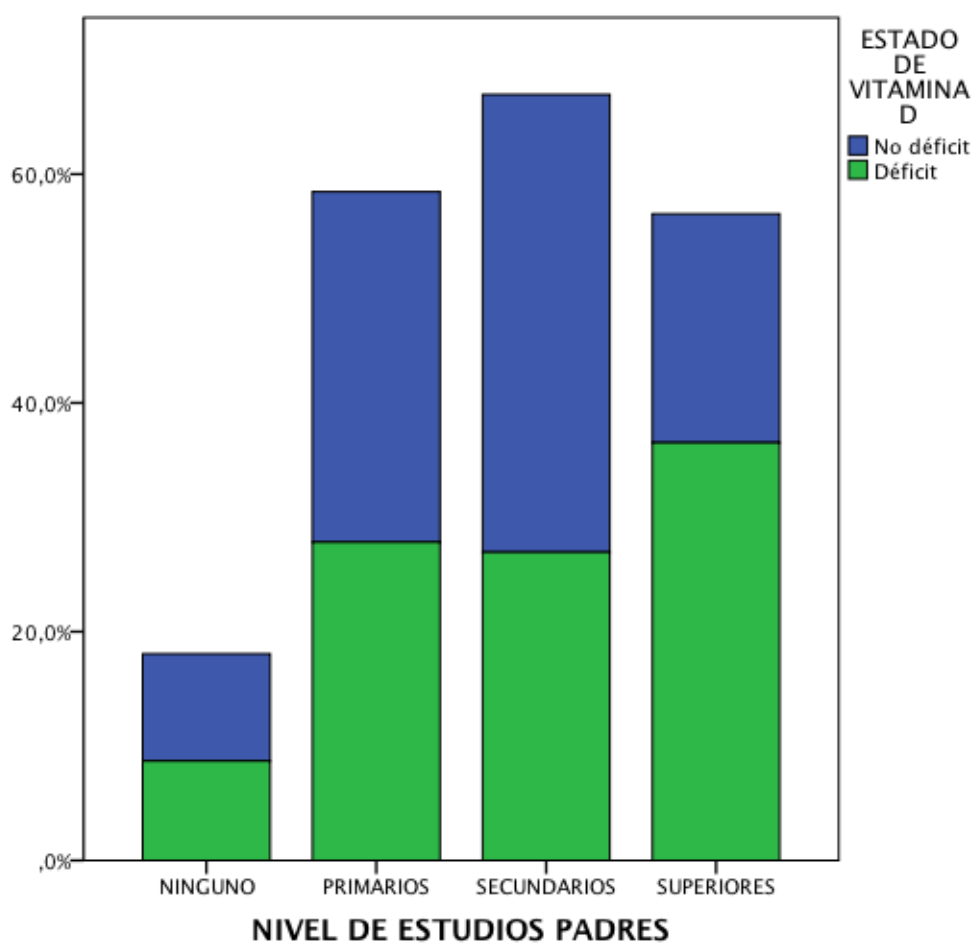
	N	Media	Desviación típica	Error típico	IC para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
0	25	24,9308	13,82517	2,76503	19,2241	30,6375	3,00	57,30
1	81	22,6704	11,09333	1,23259	20,2174	25,1233	3,00	54,30
2	95	22,6078	8,63867	,88631	20,8480	24,3676	3,00	48,11
3	74	19,6914	9,59260	1,11512	17,4689	21,9138	3,00	42,27
Total	275	22,0526	10,26017	,61871	20,8346	23,2707	3,00	57,30

**Nivel de estudios. 0: Ninguno; 1: Primarios; 2: Secundarios; 3: Superiores**



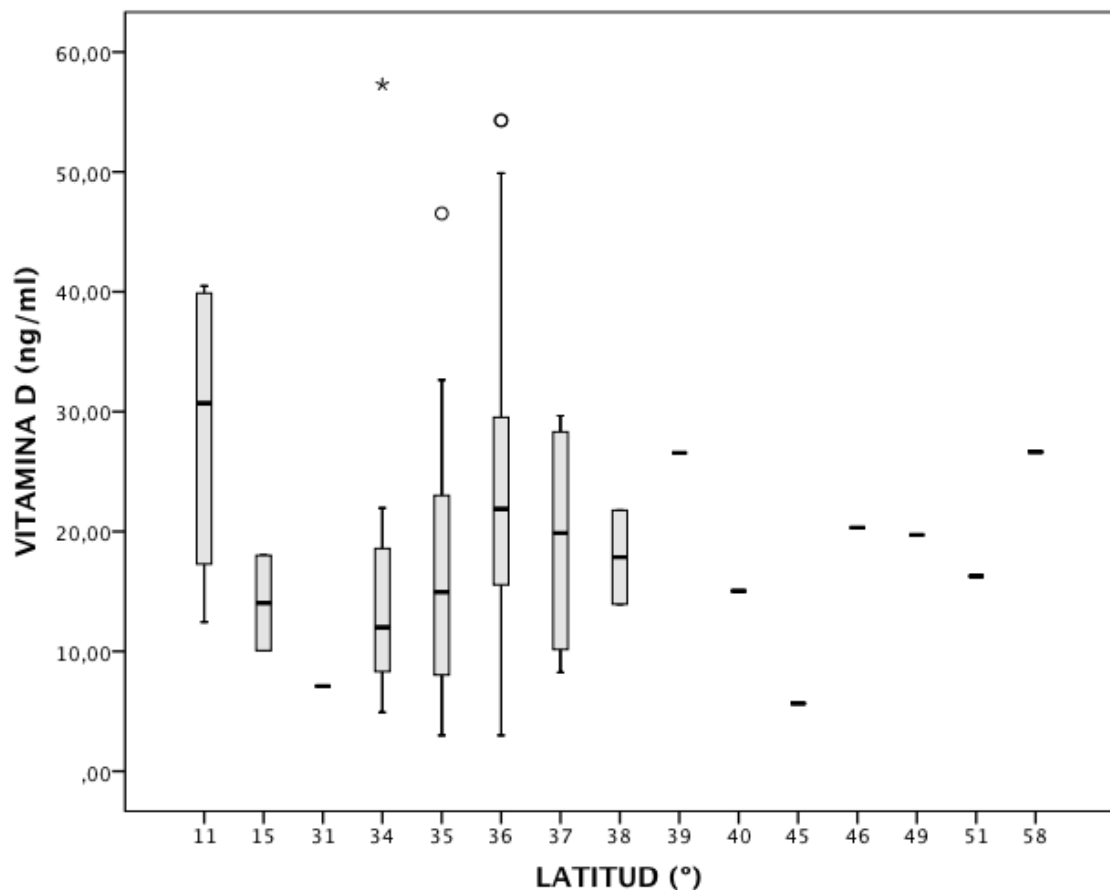


**Figura 5.10. Media de vitamina D en las distintas categorías en que se clasifica el nivel de estudios de los padres.**



**Figura 5.11. Diagrama de barras apiladas del estado de vitamina D en función del nivel de estudios de los padres.**

No se observaron diferencias en el estado de vitamina D y la latitud de la ciudad de residencia habitual, posiblemente porque hubo una mayoría de pacientes procedente de ciudades de latitud 36° (57.2%) (figura 5.12, tabla 5.12).

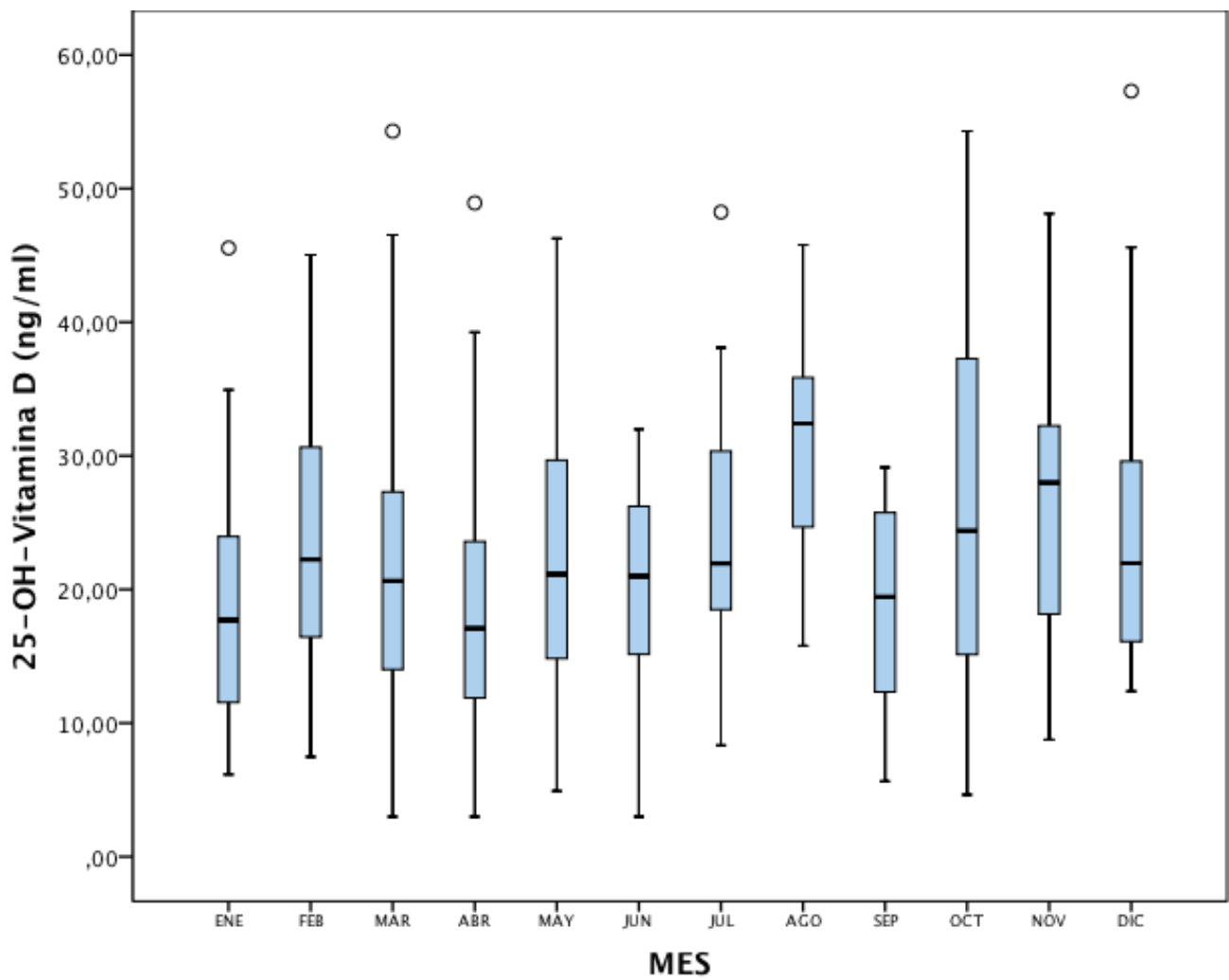


**Figura 5.12. Diagrama de cajas de los niveles de vitamina D en función de la latitud de la ciudad de residencia habitual.**

**Tabla 5.12. Regresión logística entre la latitud del lugar de residencia habitual y el déficit de vitamina D**

	p	OR	IC95% para OR
Latitud	0.629	0.986	0.93 – 1.045
Constante	0.811	1.292	

Se analiza la distribución de los niveles de vitamina D en función del mes en que ingresa en UCIP cada sujeto de la muestra (figura 5.13, tabla 5.13). La mayor concentración plasmática de 25-OH-D corresponde a los pacientes que ingresaron en el mes de agosto, con una mediana de 32.42 ng/ml (RIQ 24.67 – 39.39), mientras que el mes en el que se registran las menores cifras de vitamina D es en abril, con una mediana de 17.1 ng/ml (RIQ 11.45 – 24.55). Mediante el test ANOVA y de comparaciones múltiples de Tukey, obtenemos que estas diferencias son estadísticamente significativas ( $p=0.003$ ), debido a las diferencias que existen entre los meses de abril y agosto ( $p=0.049$ ) y abril y noviembre ( $p=0.0351$ ).



**Figura 5.13. Diagrama de cajas que muestra los niveles de vitamina D en relación al mes del ingreso.**

**Tabla 5.13. Niveles de vitamina D en los distintos meses de ingreso**

MES DE INGRESO	MEDIA	DESVIACIÓN TÍPICA	PERCENTILES		
			P25	P50	P75
<b>ENERO</b>	18.95	9.35	11.54	17.71	24.63
<b>FEBRERO</b>	23.62	9.68	16.09	22.24	31.2
<b>MARZO</b>	21.33	10.73	13.975	20.63	27.47
<b>ABRIL</b>	18.17	9.59	11.455	17.10	24.55
<b>MAYO</b>	23.30	11.15	14.52	21.14	29.80
<b>JUNIO</b>	20.29	7.02	15.07	20.99	26.71
<b>JULIO</b>	24.62	10.37	15.95	21.95	32.14
<b>AGOSTO</b>	30.72	10.02	24.67	32.42	39.29
<b>SEPTIEMBRE</b>	18.72	8.89	8.99	19.43	26.41
<b>OCTUBRE</b>	27.10	14.78	14.56	24.39	39.04
<b>NOVIEMBRE</b>	26.66	9.82	17.88	27.99	33.09
<b>DICIEMBRE</b>	25.315	12.58	16.08	21.95	29.70

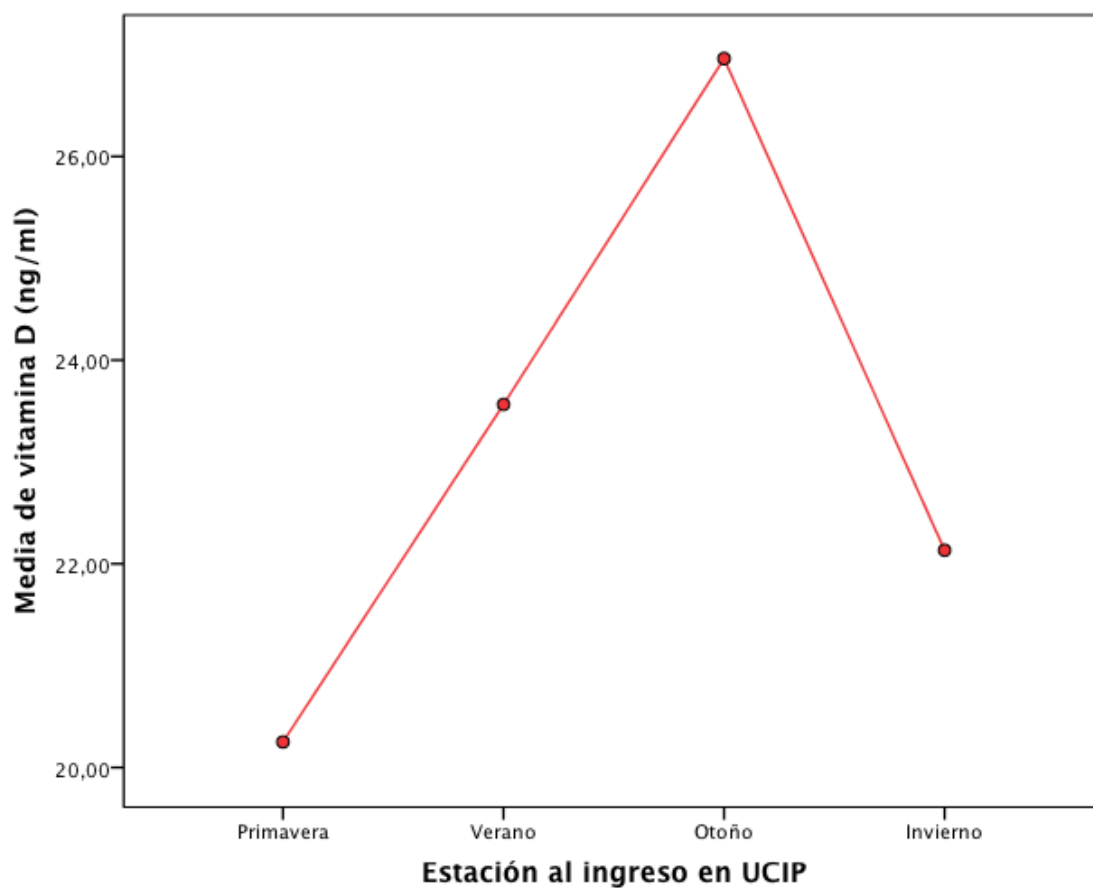
En nuestra muestra existe asociación estadísticamente significativa entre la estación al ingreso en UCIP y el porcentaje de sujetos con déficit de vitamina D ( $p=0.032$ ) (tabla 5.7, figura 5.14). Mediante el test ANOVA se estudia si existe diferencias entre las medias de la concentración plasmática de la vitamina D en las distintas estaciones del año (tabla 5.14):

**Tabla 5.14. Análisis de la varianza de la relación de los niveles de vitamina D y la estación al ingreso en UCIP.**

Descriptivos								
VITAMINA D								
	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Primavera	130	20,25	9,729	0,853	18,562	21,939	3,00	48,92
Verano	35	23,56	10,165	1,718	20,073	27,056	5,65	48,24
Otoño	51	26,96	11,787	1,651	23,645	30,276	4,64	57,30
Invierno	124	22,13	10,439	0,937	20,277	23,988	3,00	54,30
Total	340	22,28	10,556	0,572	21,158	23,411	3,00	57,30

Existen diferencias estadísticamente significativas entre estos grupos, por lo que podemos rechazar la hipótesis nula de no diferencias a un nivel de significación de  $p = 0.001$ .

Mediante el test de comparaciones múltiples HSD de Tukey, se detectan diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de vitamina D medios de los pacientes que ingresaron en otoño y los que ingresaron tanto en primavera como en invierno. No se apreciaron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes que fueron admitidos en la unidad entre el resto de estaciones climáticas (tabla 5.15).



**Figura 5.14. Representación de las medias de concentración de vitamina D en las distintas estaciones del año**



**Tabla 5.15. Comparaciones múltiples. Test HSD de Tukey. Variable dependiente: Vitamina D (ng/ml)**

(I) ESTACIÓN DE INGRESO	(J) ESTACIÓN DE INGRESO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	p	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Primavera	Verano	-3,31409	1,97316	,336	-8,4086	1,7805
	Otoño	-6,71002*	1,71202	,001	-11,1303	-2,2897
	Invierno	-1,88221	1,30065	,471	-5,2404	1,4760
Verano	Primavera	3,31409	1,97316	,336	-1,7805	8,4086
	Otoño	-3,39593	2,27434	,443	-9,2681	2,4763
	Invierno	1,43187	1,98326	,888	-3,6888	6,5525
Otoño	Primavera	6,71002*	1,71202	,001	2,2897	11,1303
	Verano	3,39593	2,27434	,443	-2,4763	9,2681
	Invierno	4,82780*	1,72365	,028	,3775	9,2781
Invierno	Primavera	1,88221	1,30065	,471	-1,4760	5,2404
	Verano	-1,43187	1,98326	,888	-6,5525	3,6888
	Otoño	-4,82780*	1,72365	,028	-9,2781	-,3775

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

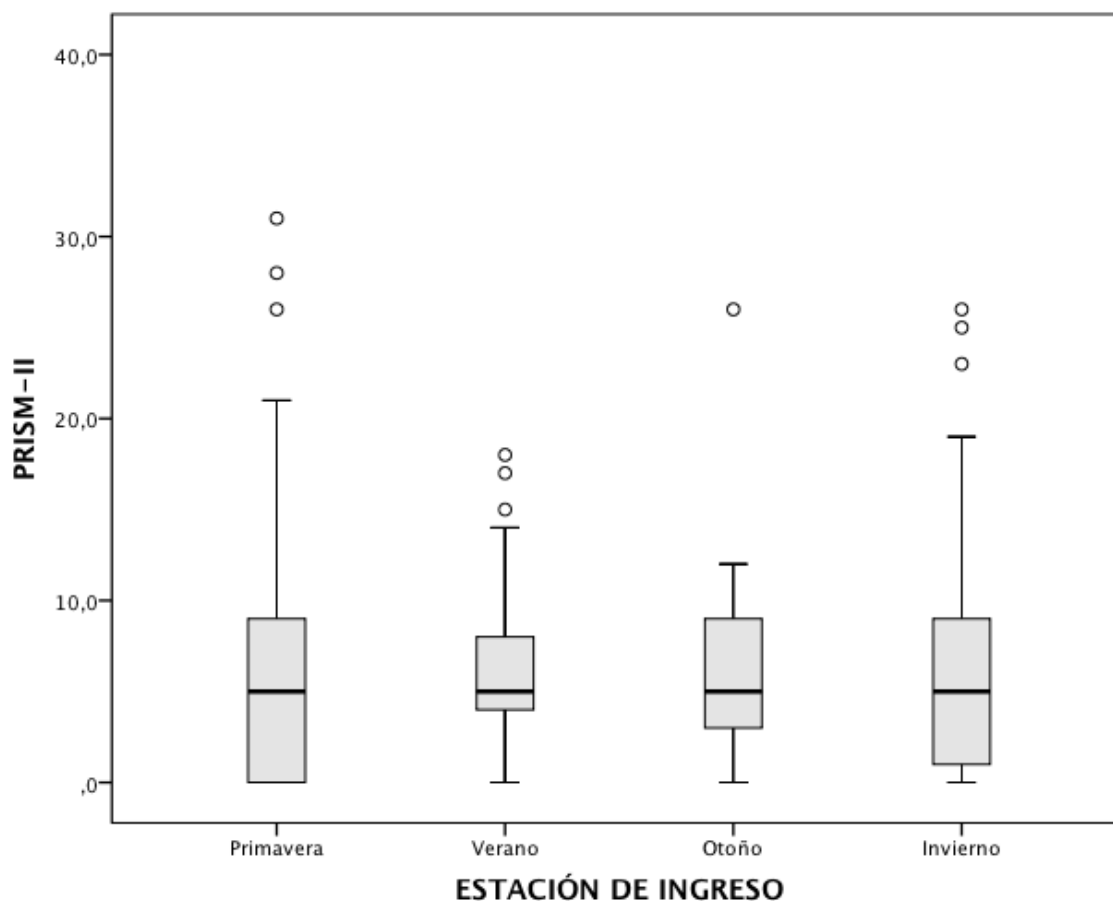
Como forma de aproximación a la posible influencia de la estancia previa en el hospital sobre las variaciones en la concentración de la vitamina D en las distintas estaciones del año, se construye una tabla de contingencia (tabla 5.16) enfrentando dicha variable a la variable “motivo de ingreso” (urgente/programado) y se aplica el test estadístico Chi-cuadrado:

**Tabla 5.16. Tabla de contingencia Estación de ingreso \* Motivo de ingreso**

		Motivo de ingreso		Total
		Urgente	Programado	
ESTACIÓN DE INGRESO	Primavera	43 (33.1%)	87 (66.9%)	130
	Verano	11 (31.4%)	24 (68.6%)	35
	Otoño	19 (37.3%)	32 (62.7%)	51
	Invierno	48 (38.7%)	76 (61.3%)	124
Total		121(35.6%)	219 (64.4%)	340

La distribución de frecuencias del motivo de ingreso en UCIP no es diferente en relación a la estación de ingreso ( $p=0.75$ ).

Mediante el test de Kruskal-Wallis se explora la posible asociación entre la estación de admisión en UCIP y la puntuación en la escala PRISM-II en las primeras 24 horas de estancia, como medida objetiva de la gravedad del paciente al ingreso. No existen diferencias estadísticamente significativas en las puntuaciones en esta escala de gravedad entre las distintas estaciones del año ( $p= 0.611$ ), lo que puede apreciarse observando los percentiles de la escala PRISM-II al ingreso en las distintas estaciones del año (tabla 5.17, figura 5.15)

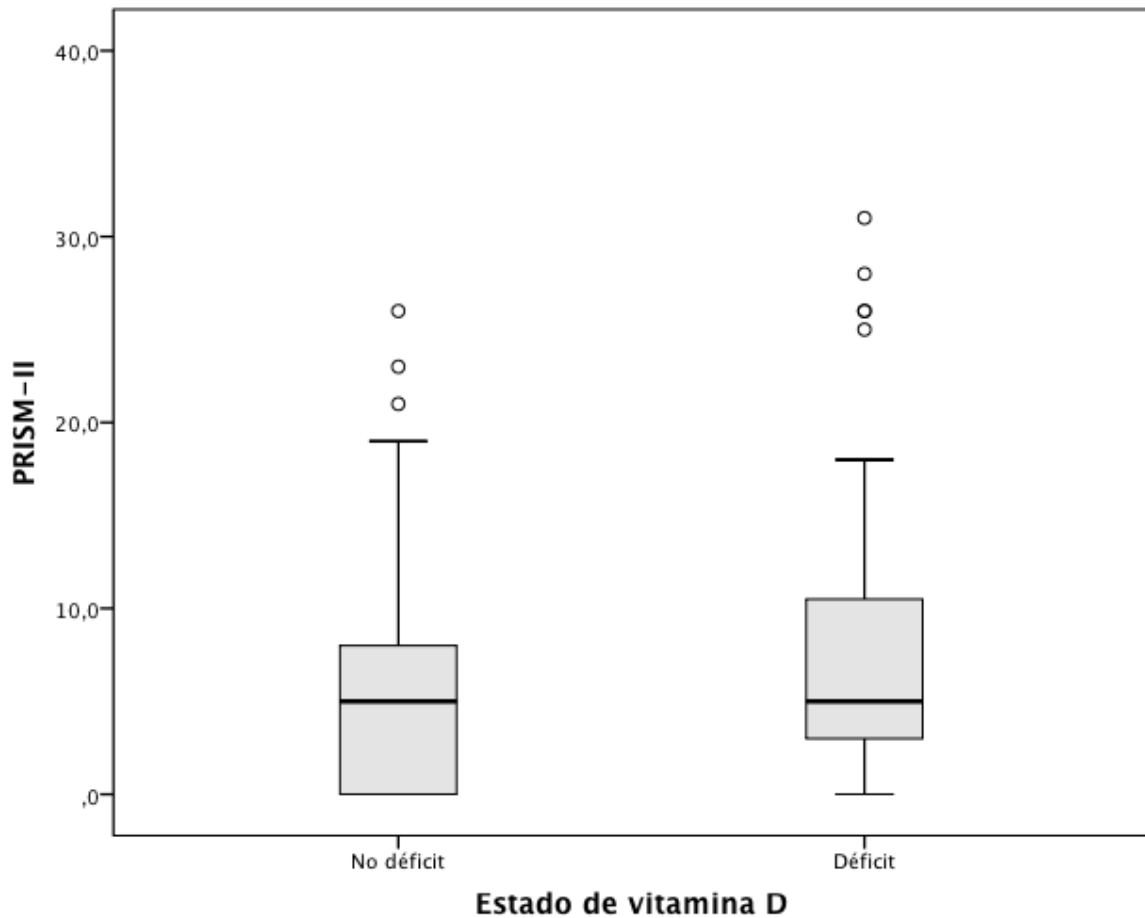


**Figura 5.15. Diagrama de cajas de la puntuación en la escala PRISM-II en función de la estación del año de ingreso en UCIP**

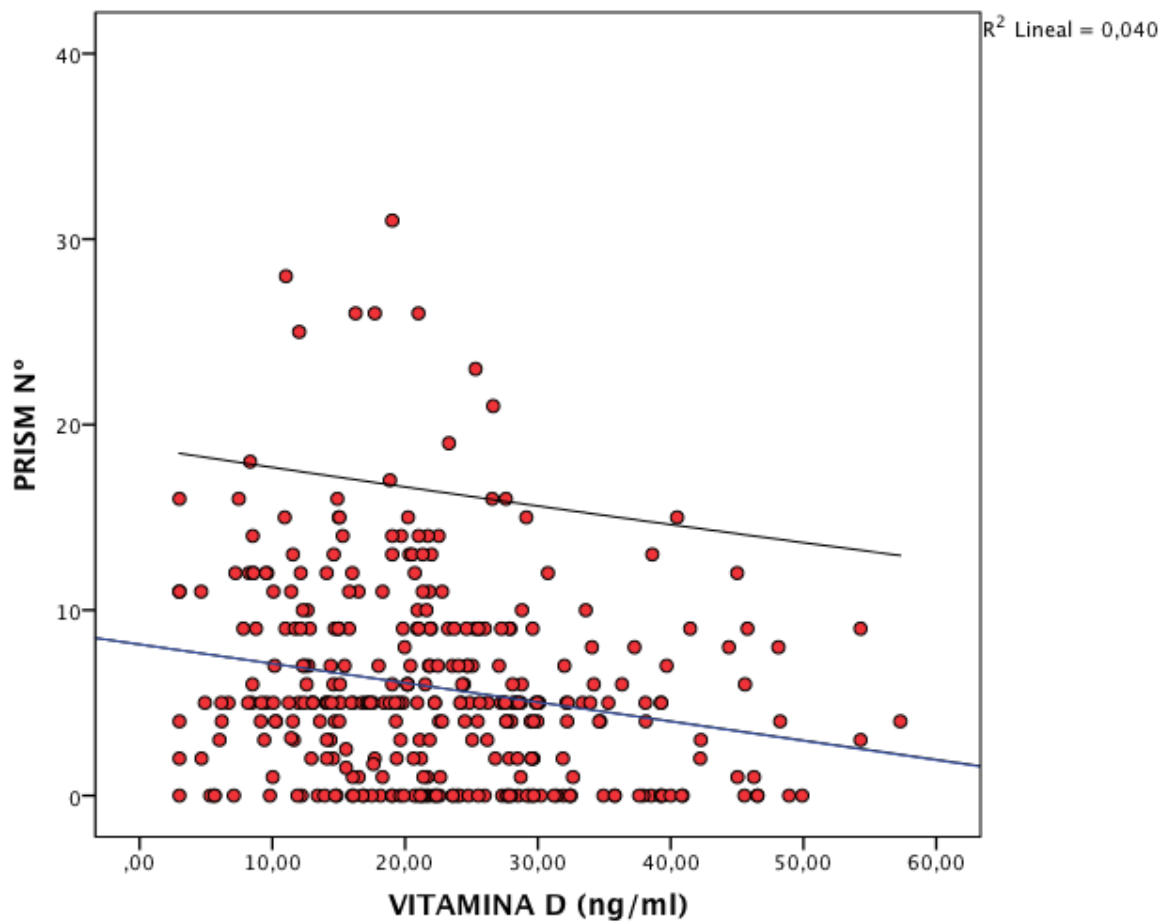
**Tabla 5.17. Percentiles de la escala PRISM-II al ingreso en cada una de las estaciones del año**

	ESTACIÓN DE INGRESO	Percentiles		
		25	50	75
PRISM-II	Primavera	0	5	9
	Verano	4	5	9
	Otoño	3	5	9
	Invierno	1	5	9

La distribución de la variable PRISM-II en las primeras 24 horas del ingreso es diferente entre los pacientes con hipovitaminosis D y los pacientes con niveles superiores a 20 ng/ml de vitamina D, si bien las medianas de puntuación entre ambos grupos no difieren (tabla 5.7, figura 5.16 y 5.17).

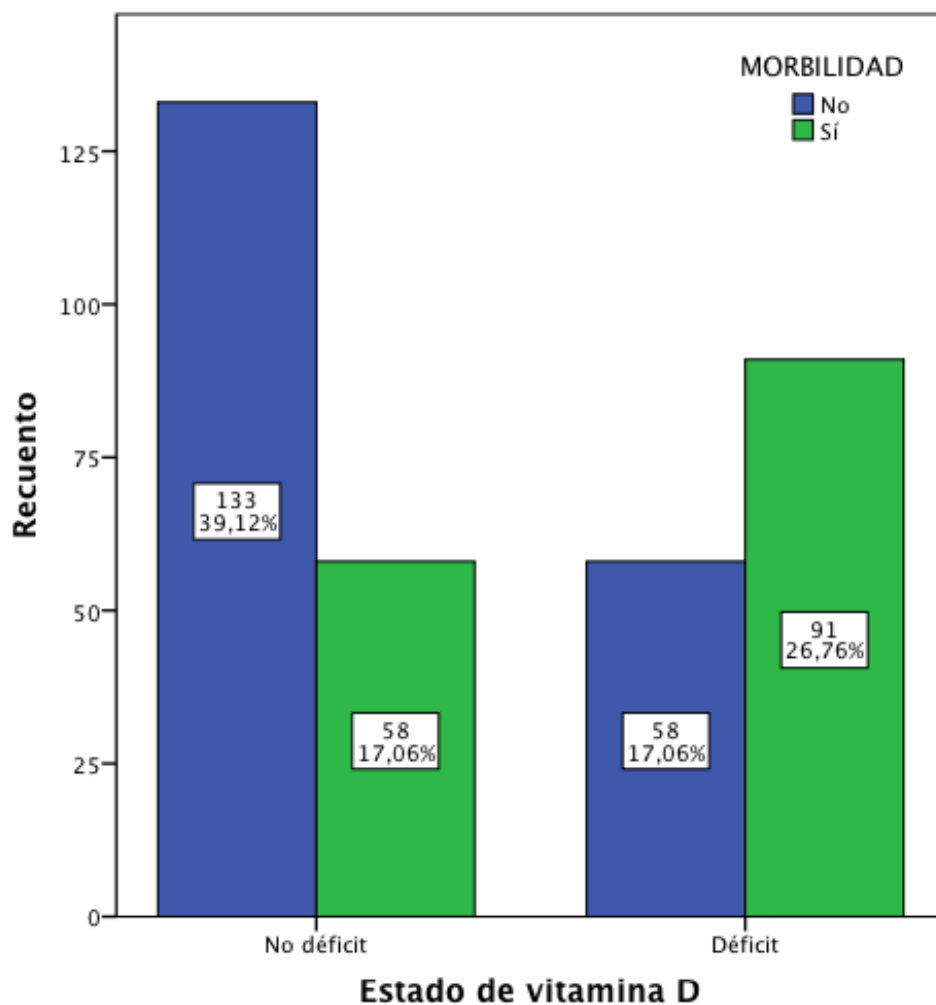


**Figura 5.16. Diagrama de cajas comparando las puntuaciones en la escala PRISM-II entre los pacientes con y sin déficit de vitamina D.**



**Figura 5.17. Diagrama de dispersión de las puntuaciones en la escala PRISM-II en relación a los niveles de vitamina D.**

La mediana de estancia es UCIP es superior en los pacientes con hipovitaminosis D, así como la presencia de morbilidad durante la misma (figura 5.18), siendo estas diferencias estadísticamente significativas. Asimismo, la mortalidad es superior en el grupo con déficit de vitamina D (4.7% frente a 1.6%), aunque esta diferencia no es significativa desde el punto de vista estadístico (figura 5.19).



**Figura 5.18. Diagrama de barras de la presencia de morbilidad durante el ingreso en función del estado de vitamina D**

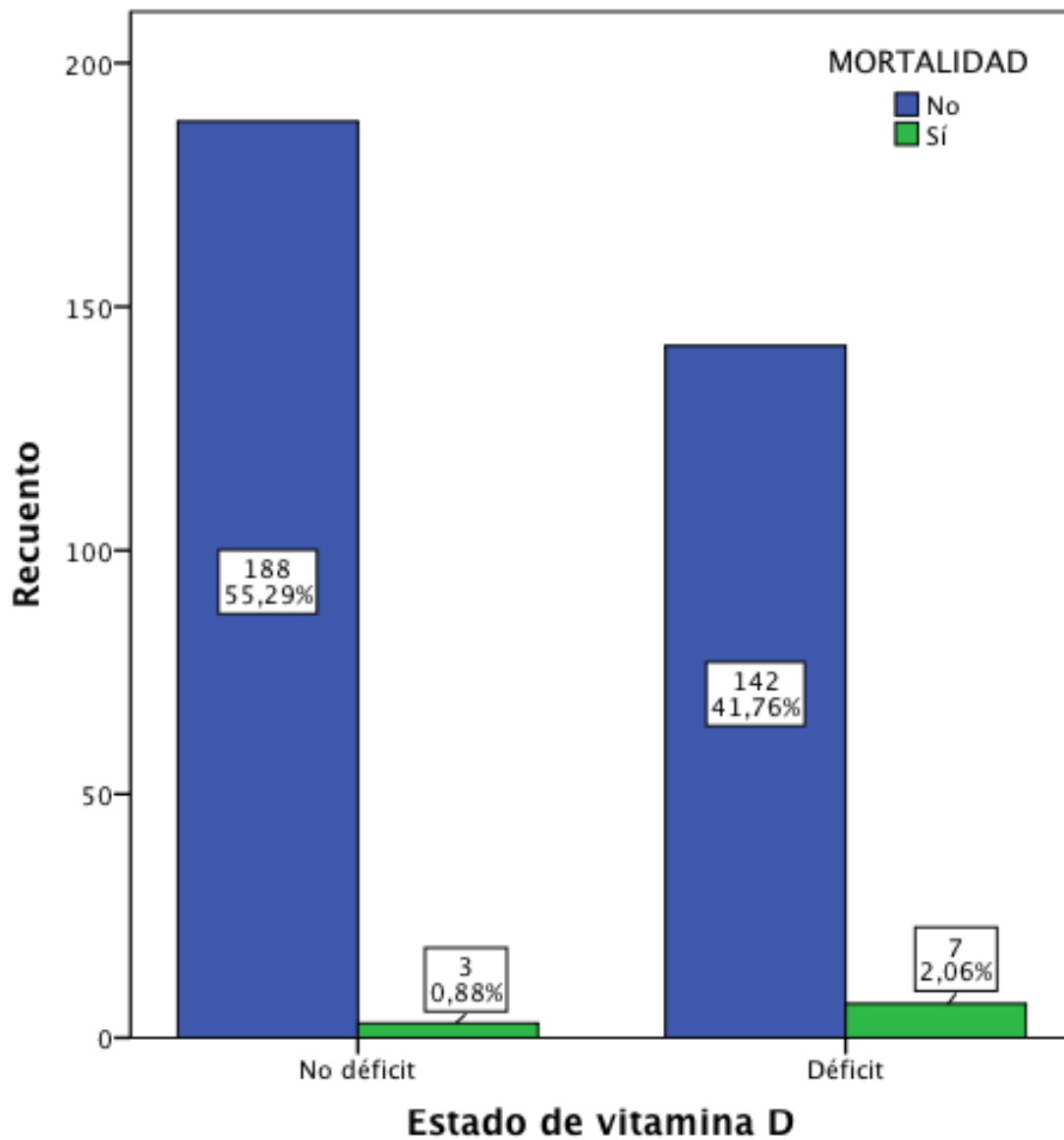
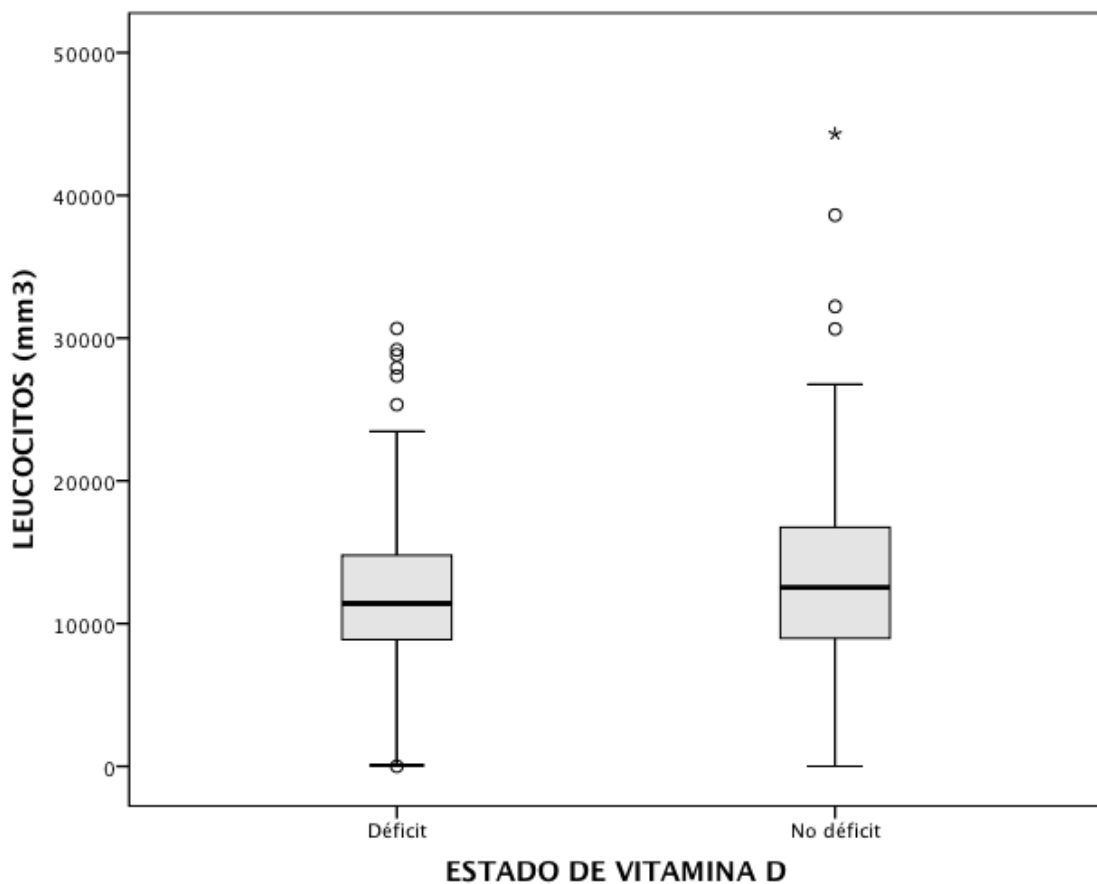


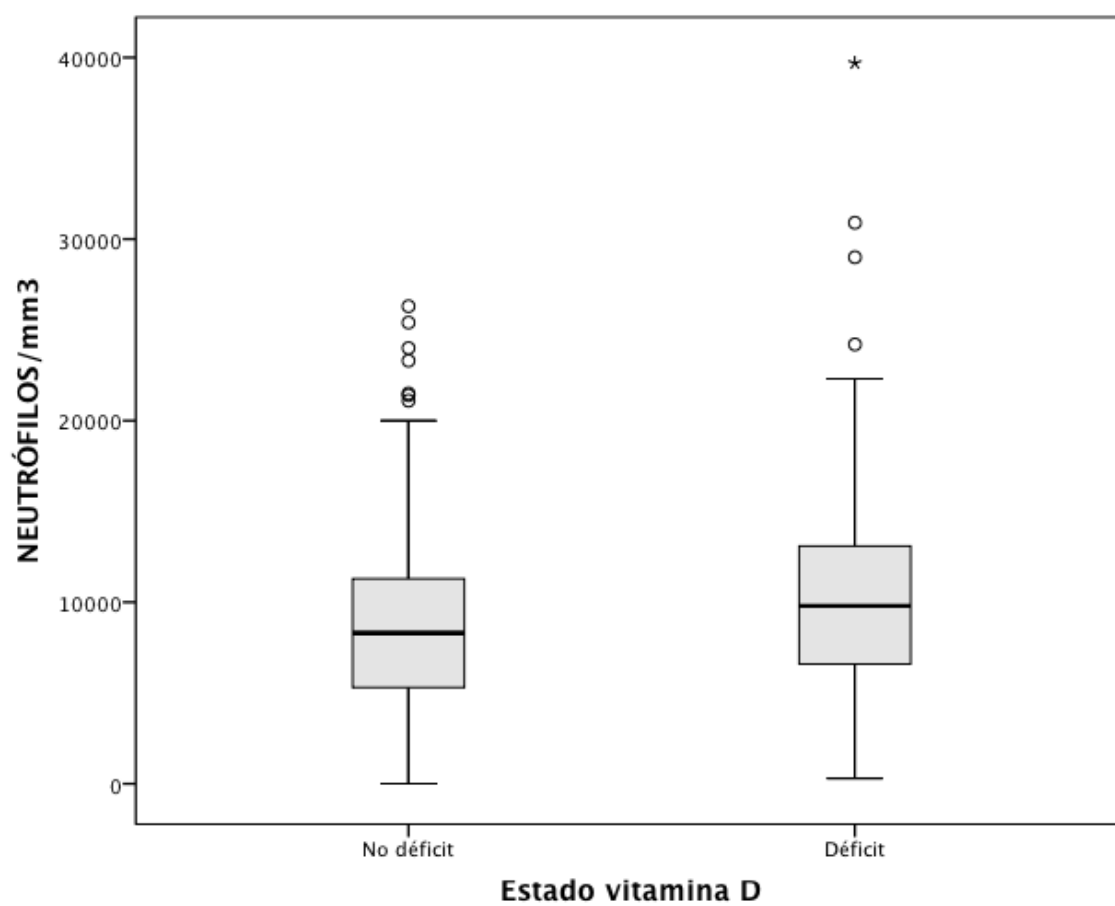
Figura 5.19. Diagrama de barras de la mortalidad en relación al estado de vitamina D.

Entre las variables analíticas consideradas los pacientes con déficit de vitamina D presentaron cifras más elevadas de leucocitos, neutrófilos y PCT y valores inferiores de plaquetas, albúmina y pH (tabla 5.9, figuras 5.20 a 5.26). Como era esperable, el déficit de vitamina D se asoció a menores concentraciones de calcio total e iónico y mayores de fósforo (figuras 5.27 y 5.28), sin apreciar relación significativa con la magnesemia. La asociación con las cifras de creatinina está en relación con la mayor edad de los sujetos con déficit de vitamina D.

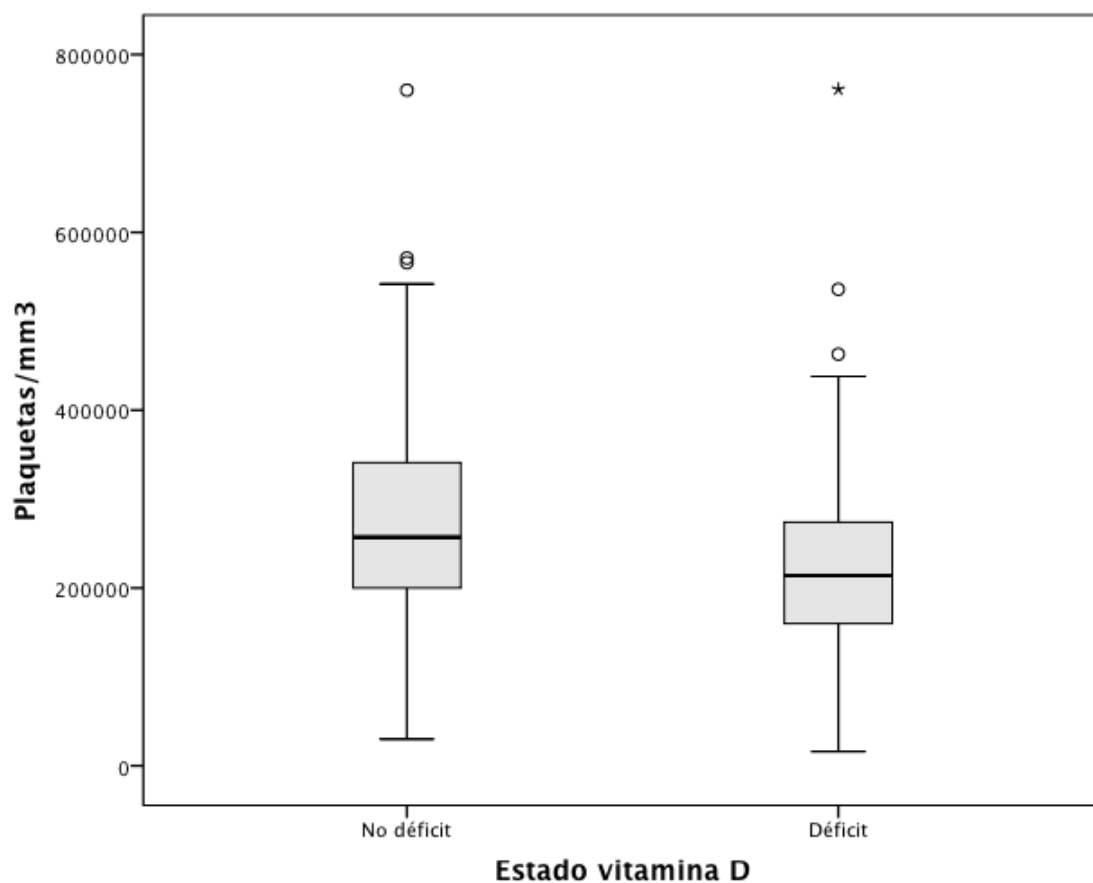


**Figura 5.20. Distribución de las cifras de leucocitos al ingreso en pacientes con y sin déficit de vitamina D**

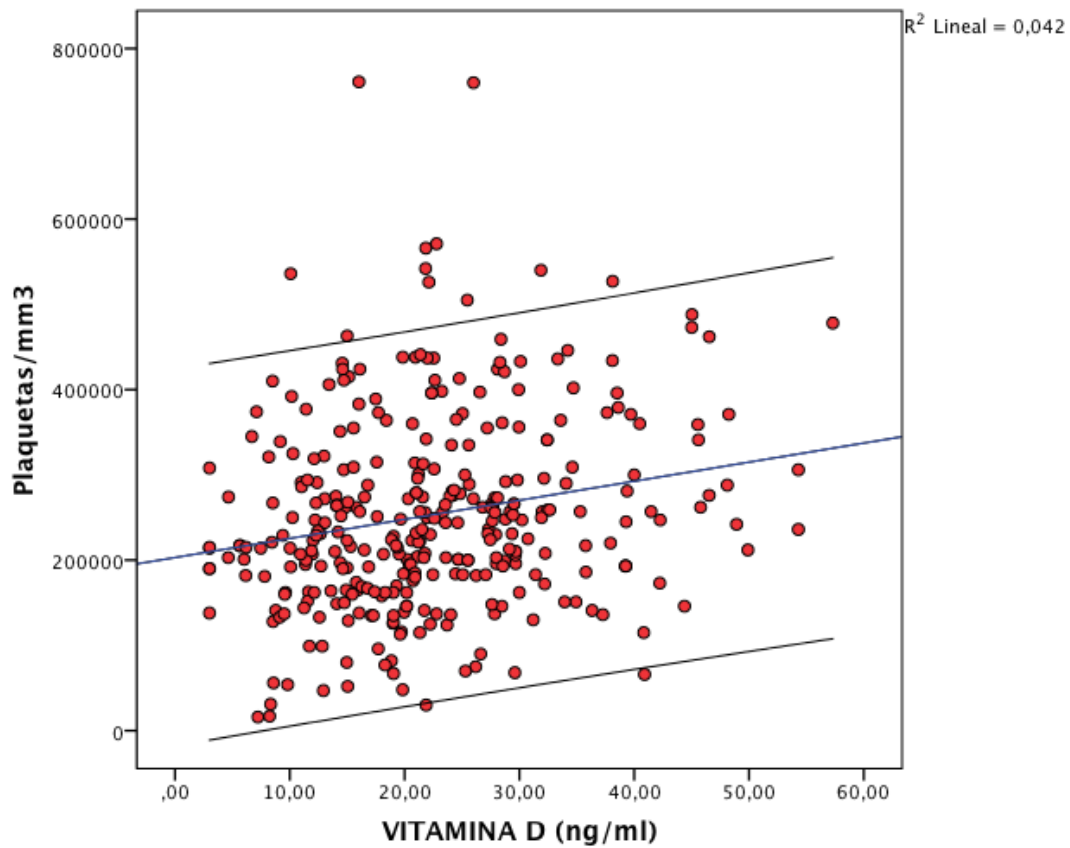




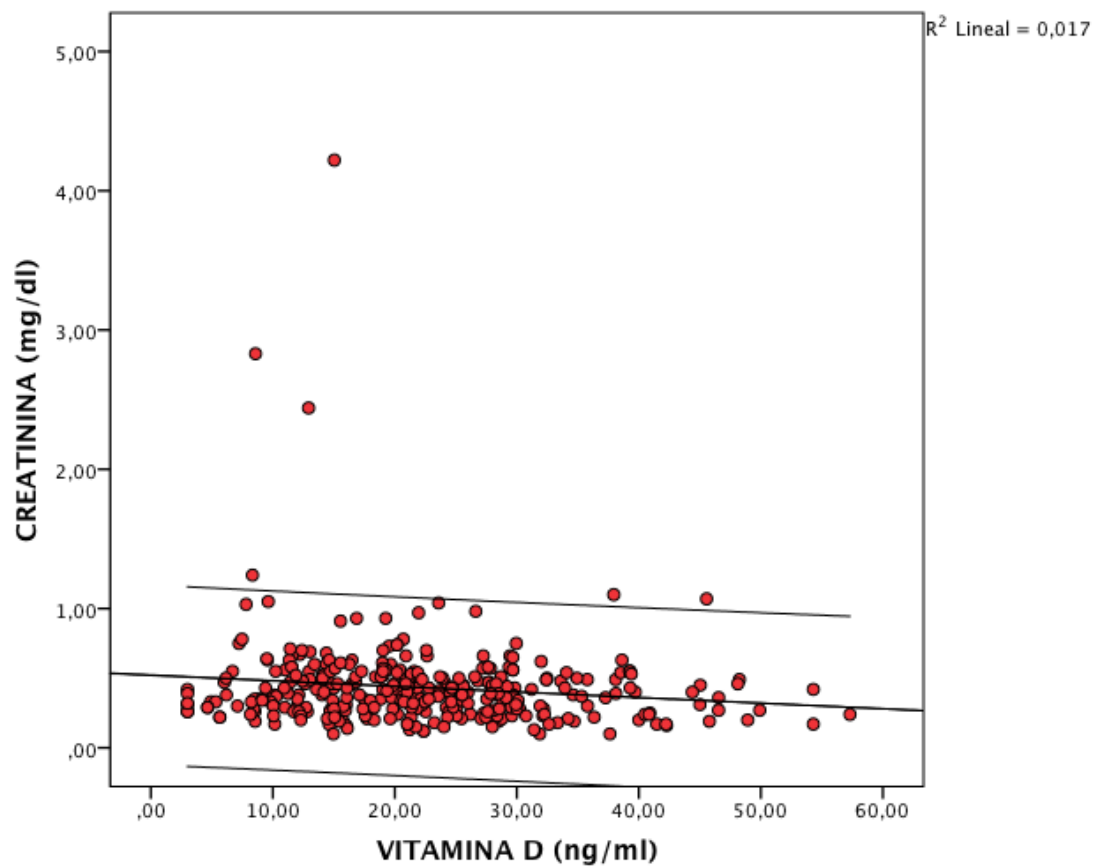
**Figura 5.21. Distribución de las cifras de neutrófilos al ingreso según estado de vitamina D**



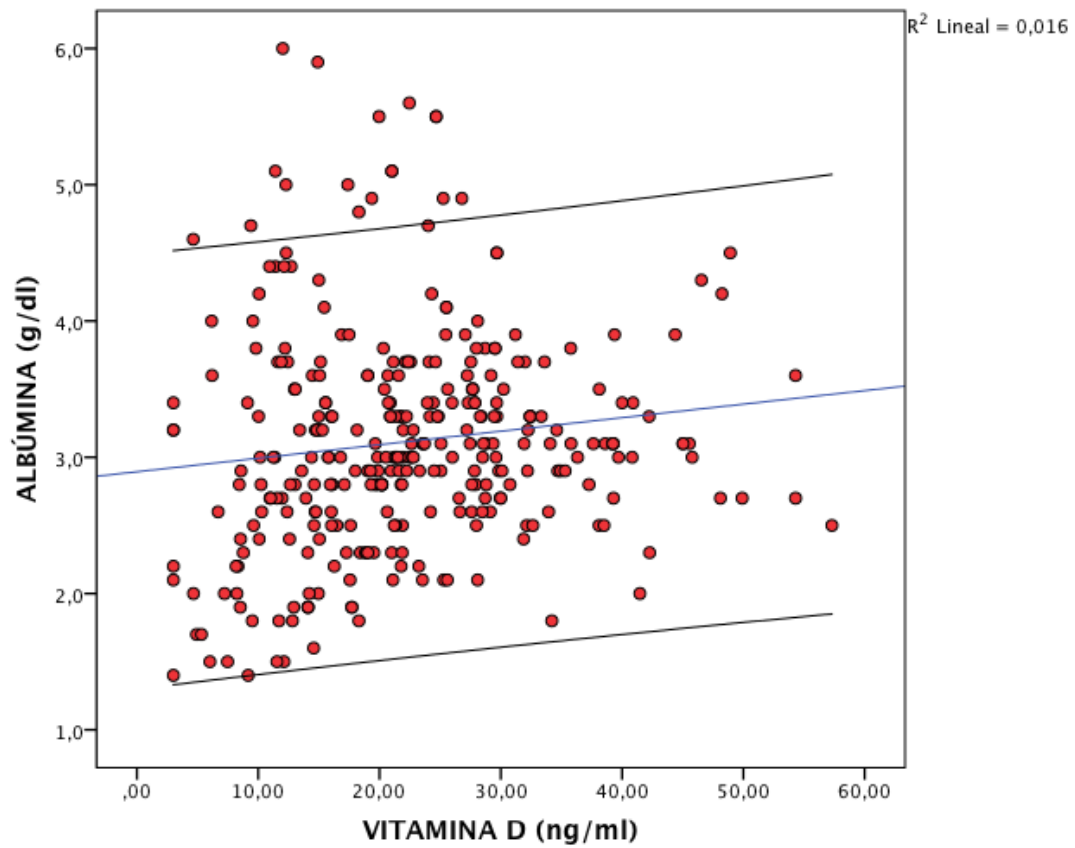
**Figura 5.22. Distribución de las cifras de plaquetas al ingreso según estado de vitamina D**



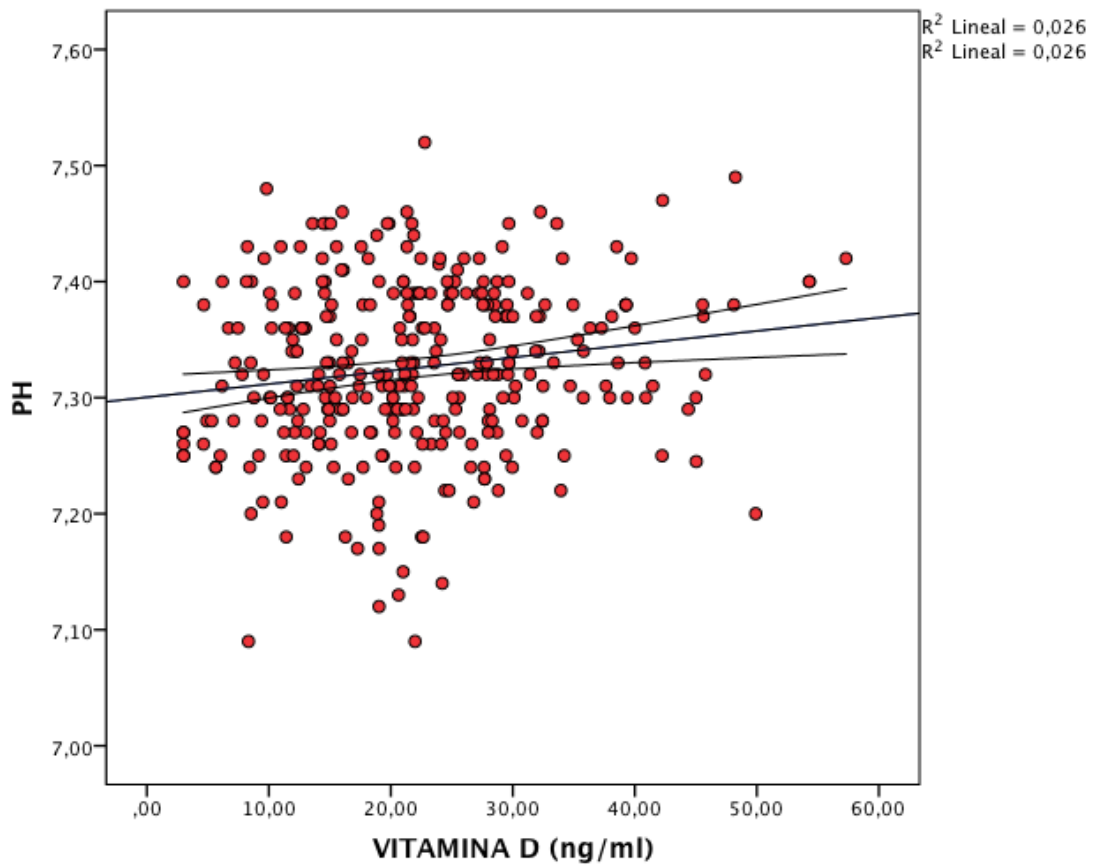
**Figura 5.23. Diagrama de dispersión de las cifras de plaquetas al ingreso en función de los niveles de vitamina D**



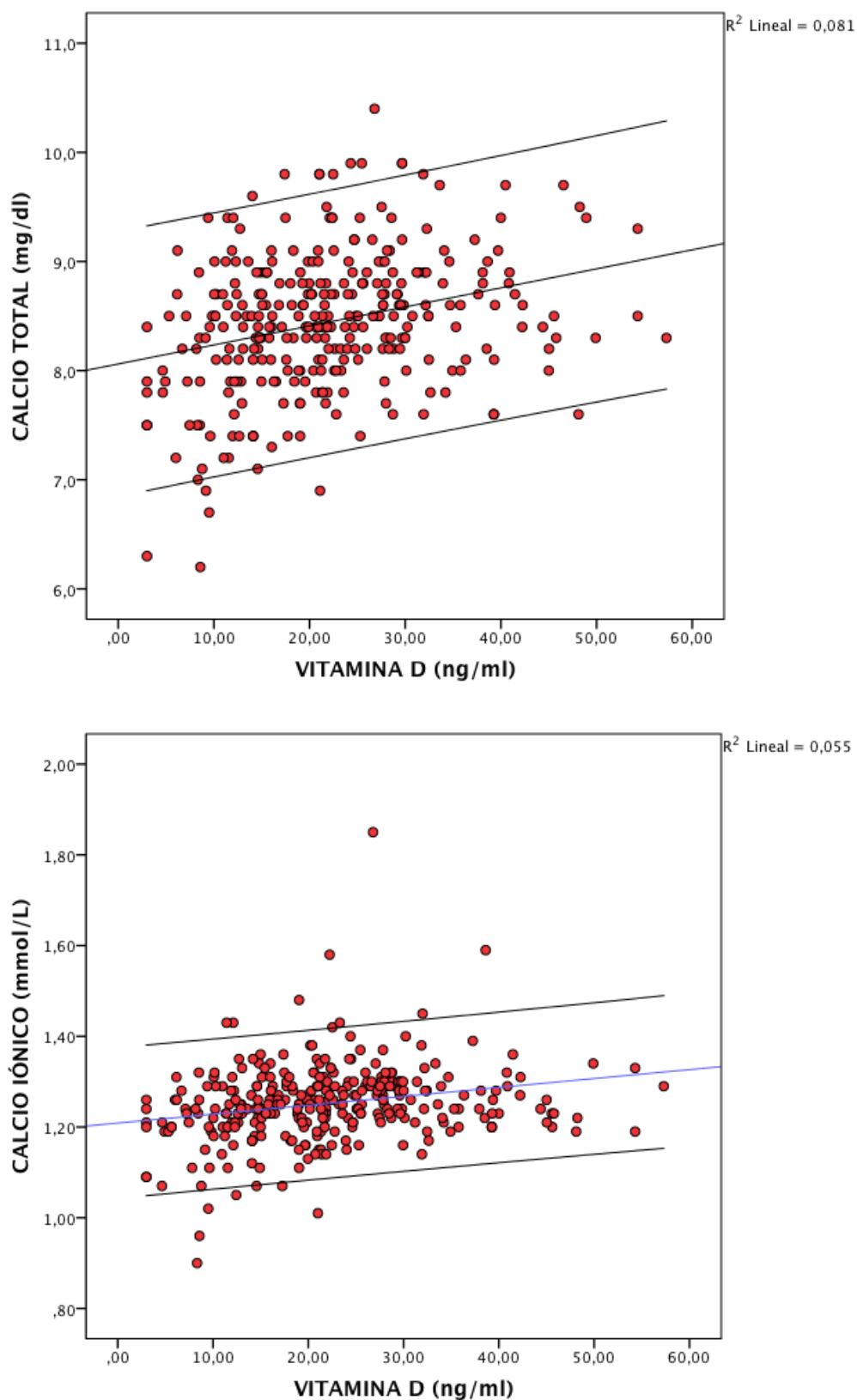
**Figura 5.24. Diagrama de dispersión de las cifras de creatinina al ingreso en función de los niveles de vitamina D**



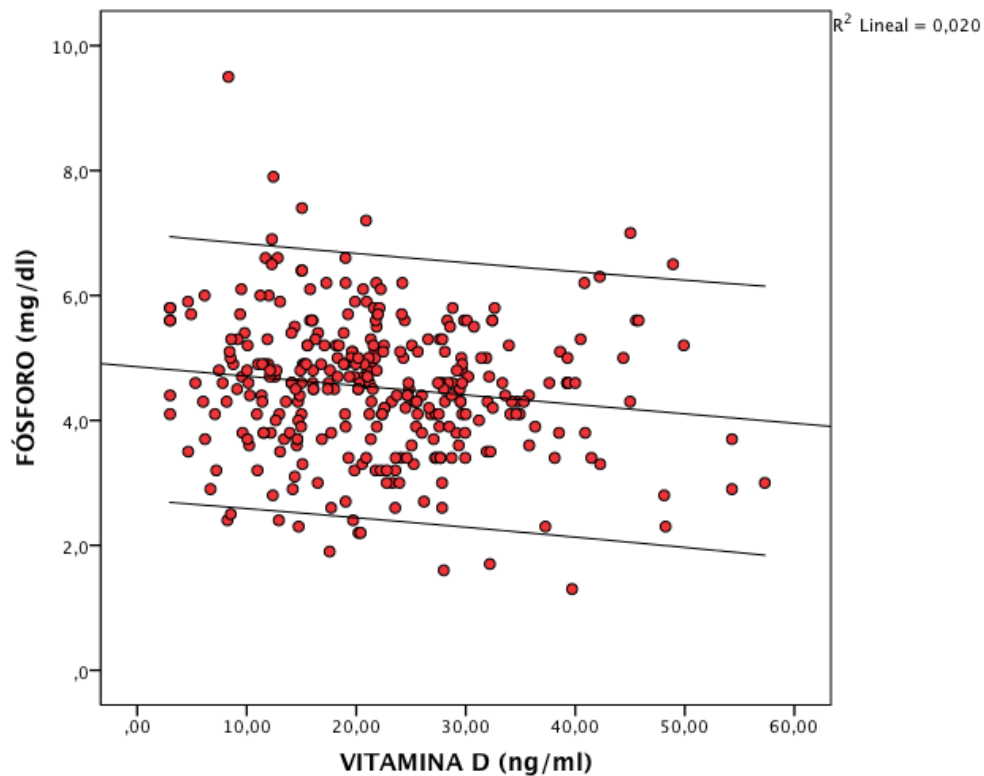
**Figura 5.25. Diagrama de dispersión de las cifras de albúmina al ingreso en relación a la concentración de vitamina D**



**Figura 5.26. Diagrama de dispersión del pH al ingreso según los niveles de vitamina D**



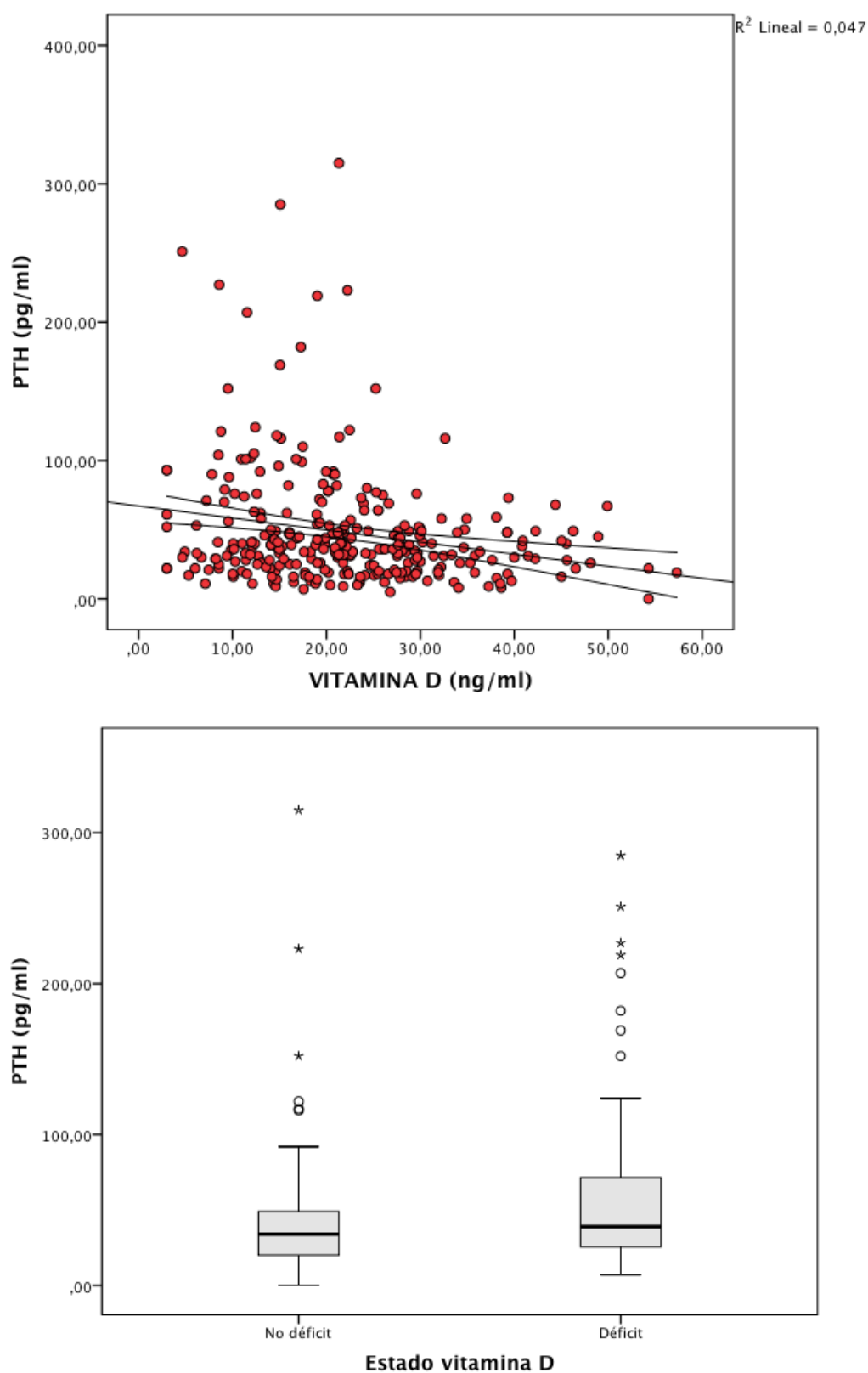
**Figura 5.27. Diagrama de dispersión del calcio total e iónico en función de los niveles de vitamina D**



**Figura 5.28. Diagrama de dispersión de la fosforemia al ingreso en función de los niveles de vitamina D**

Las cifras de PTH y de 25-OH-D presentan una correlación lineal negativa estadísticamente significativa, con un coeficiente de correlación de Pearson de -0.22 (figura 5.29).





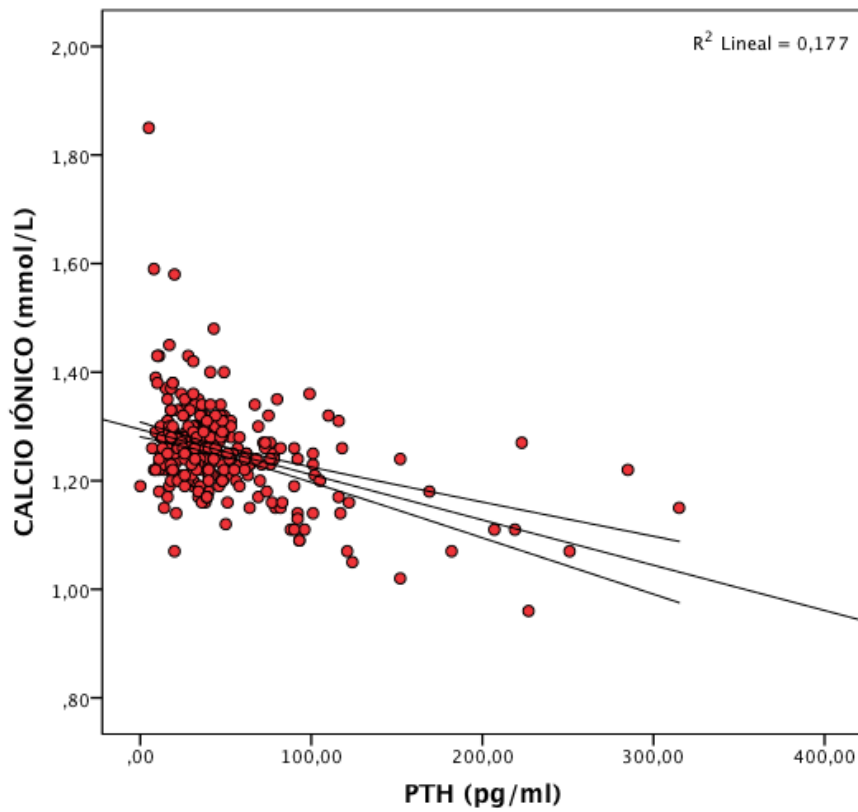
**Figura 5.29. Diagrama de dispersión y de cajas que muestra la relación entre la vitamina D y la PTH**

El porcentaje de pacientes con valores elevados de PTH ( $>60$  ng/L) fue superior en el grupo con déficit de vitamina D respecto al grupo con niveles superiores a  $20$  ng/ml (27.5% frente a 12.6%), chi cuadrado de Pearson 12.1,  $p = 0.001$  (tabla 5.18).

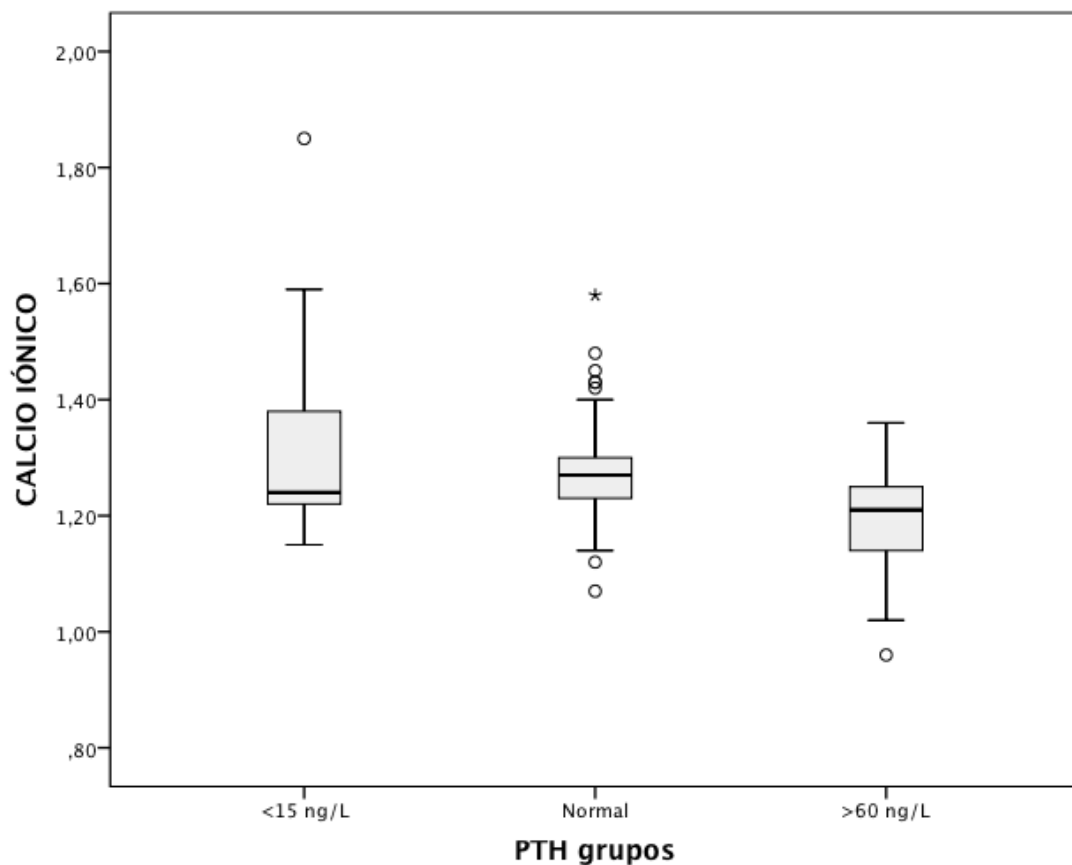
**Tabla 5.18. Tabla de contingencia Estado vitamina D \* PTH dicotomizada**

	PTH		Total
	$<60$ ng/L	$>60$ ng/L	
No déficit	167 (87,4%)	24 (12,6%)	191
Déficit	108 (72,5%)	41 (27,5%)	149
Total	275 (80,9%)	65 (19,1%)	340

No obstante, la correlación de la PTH es mayor con la concentración de calcio iónico que con los niveles de vitamina D (coeficiente de correlación Rho de Spearman de -0.33,  $p < 0.001$ ) (figura 5.30) y con la concentración de calcio total (coeficiente de correlación Rho de Spearman de -0.13,  $p < 0.001$ ) ya que los niveles de calcio iónico circulantes son el mayor estímulo para la secreción de dicha hormona.



**Figura 5.30. Diagrama de dispersión entre los niveles de PTH plasmática y el calcio iónico**



**Figura 5.31. Representación mediante diagrama de cajas de los niveles de calcio iónico según el estado de PTH**

Se explora dicha relación mediante regresión lineal uni y multivariante, tomando como variable dependiente la PTH y como variables independientes los niveles de calcio, fósforo y vitamina D, observando que la vitamina D pierde la significación al introducir el calcio y el fósforo en el modelo (tablas 5.19 y 5.20).

**Tabla 5.19. Regresión lineal simple. Variable dependiente: PTH (pg/ml)**

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	p	IC 95% para B	
	B	Error típico	Beta			Límite inferior	Límite superior
(Constante)	67.167	5.525		12,157	0.000	56.294	78.039
Vitamina D	-0.870	0.226	-0.216	-3.859	0.000	-1.314	-0.427

**Tabla 5.20. Regresión lineal multivariante. Variable dependiente: PTH (pg/ml)**

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	p	IC 95% para B	
	B	Error típ.	Beta		Límite inferior	Límite superior
(Constante)	249.054	37.743		0.000	174.759	323.350
Cai (mmol/L)	-179.338	27.817	-0.356	0.000*	-234.095	-124.581
Fósforo (mg/dl)	7.558	2.246	0.183	0.001*	3.137	11.979
Vitamina D (ng/ml)	-0.440	0.231	-0.104	0.058*	-0.895	0.015

### 5.2.2. Déficit de vitamina D y morbilidad

En 61.1% (41 sujetos) de los pacientes con déficit de vitamina D presentaron algún tipo de morbilidad durante el ingreso frente a un 30.4% (28 pacientes) de los que no tenían dicho déficit, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.001$ ). Mediante regresión logística considerando como variable dependiente la morbilidad durante el ingreso, obtenemos una OR de 3.598 para el déficit de vitamina D, con un intervalo de confianza al 95% de 2.29 a 5.65 ( $p < 0.001$ ), es decir, el riesgo de presentar morbilidad frente a no presentarla en sujetos con déficit de vitamina D es 3.6 veces el riesgo en los que no son deficientes en vitamina D.

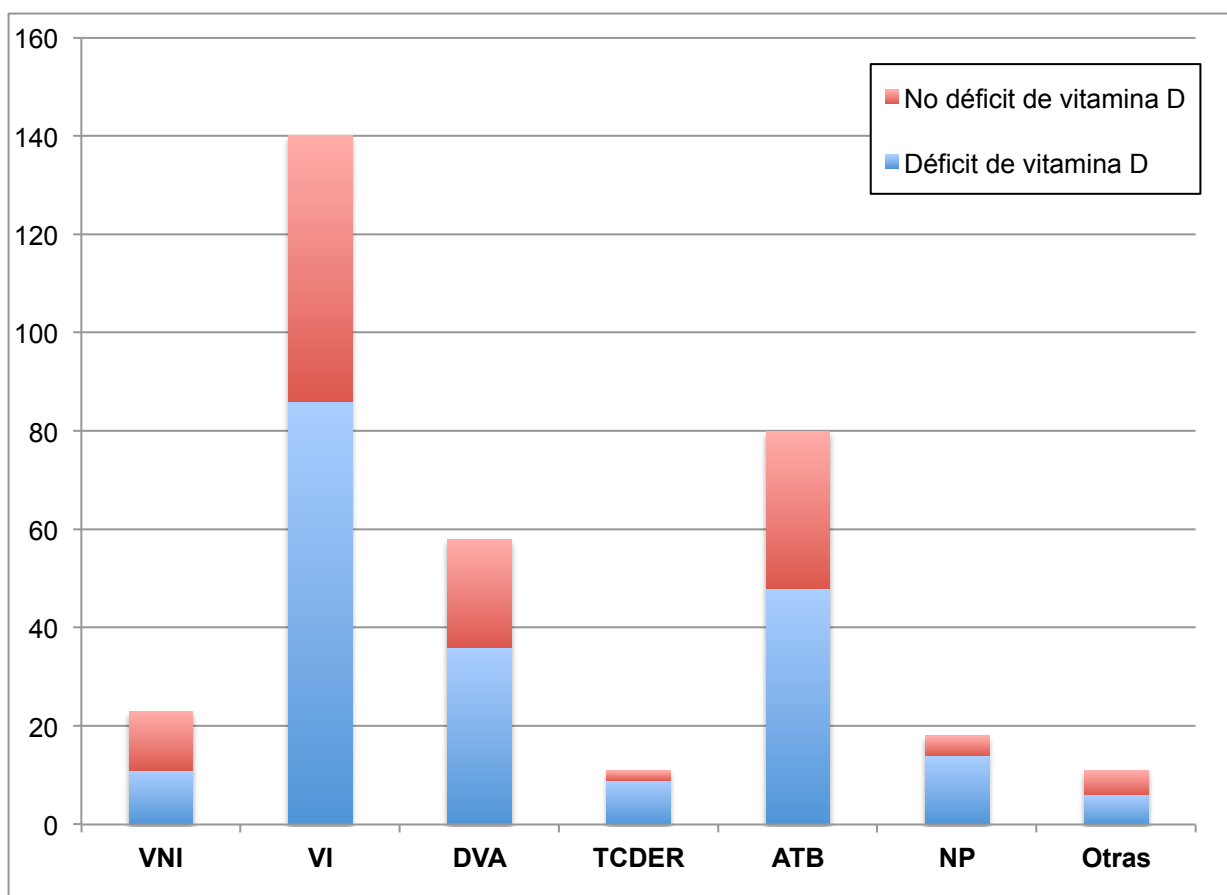
Si consideramos los niveles de vitamina D en relación a la morbilidad se obtiene una OR de 0.938, con un intervalo de confianza al 95% de 0.916 a 0.961 ( $p < 0.001$ ). Por tanto, podemos decir que existe asociación estadísticamente significativa entre la presencia de morbilidad durante el ingreso en UCIP y el estado de vitamina D, considerando la variable tanto cuantitativa como dicotómica, a falta de considerar otras variables. Esto último se analizará en el apartado siguiente como modelo multivariante.

En cuanto al tipo de morbilidad, encontramos mayor porcentaje de necesidad de VI, DVA, TCDER, antibioterapia prolongada y NP entre los individuos con déficit de vitamina D (tabla 5.21, figura 5.32)

**Tabla 5.21. Tipo de morbilidad en los pacientes con y sin déficit de vitamina D**

	Déficit de vitamina D	No déficit de vitamina D	Significación*
<b>VNI</b>	11 (7.4%)	12 (6.3%)	0.69
<b>VI</b>	86 (57.7%)	54 (28.3%)	<0.001*
<b>DVA</b>	36 (24.2%)	22 (11.5%)	0.002*
<b>TCDER</b>	9 (6%)	2 (1%)	0.01*
<b>ATB</b>	48 (32.2%)	32 (16.8%)	0.001*
<b>NP</b>	14 (9.4%)	4 (2.1%)	0.003*
<b>Otras</b>	6 (4%)	5 (2.6%)	0.46

VNI: Ventilación mecánica no invasiva, VI: Ventilación mecánica invasiva >24 horas, DVA: Necesidad de drogas vasoactivas, TCDER: Técnicas continuas de depuración extrarrenal, ATB: Antibioterapia >7 días, NP: Necesidad de nutrición parenteral.  
\*Test de la Chi cuadrado de Pearson.



**Figura 5.32.** Diagrama de barras que muestra el recuento de pacientes con y sin déficit de vitamina D en relación con el tipo de morbilidad durante el ingreso.



Mediante regresión logística binaria se explora la relación entre los diferentes tipos de morbilidad, considerados como variables dependientes en cada uno de los modelos, y el déficit de vitamina D como variable independiente o predictora (tabla 5.22). Se analiza igualmente esta relación con la variable vitamina D como cuantitativa continua (tabla 5.23).

**Tabla 5.22. Regresión logística binaria para cada tipo de morbilidad durante el ingreso. Variable independiente: Estado de vitamina D (déficit/no déficit)**

	p	OR	IC95%	
			Límite inferior	Límite superior
<b>VNI</b>	0.15	0.968	0.926	1.012
<b>VI</b>	<0.001*	3.463	2.203	5.445
<b>DVA</b>	0.003*	2.447	1.368	4.377
<b>TCDER</b>	0.022*	6.075	1.292	28.556
<b>ATB</b>	0.001*	2.361	1.415	3.941
<b>NP</b>	0.006*	4.848	1.561	15.054
<b>Otras</b>	0.47	1.561	0.467	5.217

De esta forma cuantificamos el riesgo de necesitar ventilación mecánica invasiva, drogas vasoactivas, TC DER, antibioterapia prolongada y nutrición parenteral en sujetos con déficit respecto a aquéllos sin déficit.

**Tabla 5.23. Regresión logística binaria para cada tipo de morbilidad durante el ingreso. Variable independiente: Niveles de vitamina D (ng/ml)**

	p	OR	IC95%	
			Límite inferior	Límite superior
<b>VNI</b>	0.689	1.189	0.509	2.776
<b>VI</b>	<0.001*	0.93	0.906	0.953
<b>DVA</b>	<0.001*	0.942	0.912	0.973
<b>TCDER</b>	0.025*	0.917	0.85	0.989
<b>ATB</b>	0.007*	0.965	0.940	0.990
<b>NP</b>	0.005*	0.918	0.865	0.975
<b>Otras</b>	0.030	0.920	0.854	0.992

La necesidad de ventilación no invasiva no está relacionada con el déficit de vitamina D. La presencia de otras complicaciones no muestra asociación estadísticamente significativa con el déficit de vitamina D. Es posible que esto sea debido al escaso número de pacientes (11) que tuvieron otro tipo de complicaciones además de las ya referidas y analizadas previamente.

Se realiza un análisis de las covariables consideradas en función de la presencia de morbilidad durante el ingreso (tablas 5.24 y 5.25).

Tabla 5.24. Características de los sujetos con y sin morbilidad en UCIP

		Sin morbilidad (191)	Con morbilidad (149)	p
<b>Edad</b>		86.5 (27.5 – 127)	37 (16 – 62)	<0.001*
<b>Peso</b>		20 (12.67 – 38.5)	13.6 (9.18 - 20)	<0.001*
<b>Talla</b>		1.2 (0.87-1.39)	0.96 (0.76-1.13)	<0.001*
<b>Sexo</b>		Mujer 47.1%	Mujer 43.6%	0.52
<b>IMC</b>		15.76 (14.12-19.1)	14.17 (13.58-17.98)	0.025*
<b>Raza</b>	Blanca	96.3%	91.3%	0.083
	Negra	3.7%	7.4%	
	Amarilla	0%	1.3%	
<b>Estudios de los padres</b>	Ninguno	7.7%	10.9%	0.42
	Primarios	30.1%	28.6%	
	Secundarios	37.8%	30.3%	
	Superiores	24.4%	30.3%	
<b>Estación del año</b>	Primavera	41.4%	34.2%	0.37
	Verano	9.4%	11.4%	
	Otoño	12.6%	18.1%	
	Invierno	36.6%	36.2%	
<b>Enfermedad de base</b>		86.9%	61.7%	<0.001*
<b>MI general</b>	Urgente	22%	53%	<0.001*
	Programado	78%	47%	
<b>PO CCV</b>		53.6%	46.4%	0.55
<b>PRISM-II</b>		3.05 (0-5)	8 (5 - 12)	<0.001*
<b>Estancia UCIP</b>		1 (1-2)	4 (2 - 7)	<0.001*
<b>Mortalidad</b>		0.5%	6%	0.003*
Media ± desviación típica (distribución normal, pruebas paramétricas) y mediana (rango intercuartílico) en el resto de variables (pruebas no paramétricas)				

Tabla 5.25. Parámetros analíticos en función de la morbilidad en UCIP

	Sin morbilidad (191)	Con morbilidad (149)	p
Vitamina D (ng/ml)	25.04 ± 10.61	18.74 ± 9.4	<0.001*
PTH	35.5 (26 – 48.25)	43 (21 – 77)	0.1
Hemoglobina (g/dl)	11.65 ± 1.52	11.33 ± 1.98	0.1
Leucocitos (mm <sup>-3</sup> )	11470 (8925 – 15582.5)	11890 (7590 – 16250)	0.43
Neutrófilos (mm <sup>-3</sup> )	8500 (6500 – 12550)	8000 (4600 – 12900)	0.76
Linfocitos (mm <sup>-3</sup> )	1400 (1000 – 2300)	1600 (1100 – 2400)	0.37
Monocitos (mm <sup>-3</sup> )	490 (257,5 – 750)	550 (380 – 830)	0.002*
Plaquetas (mm <sup>-3</sup> )	244000 (185500 – 297000)	203000 (141000 – 265000)	0.004*
Glucosa (mg/dl)	129 (104.75 – 168)	131 (107 – 157)	1
Urea (mg/dl)	24 (18 – 32)	25 (16 – 34)	0.75
Creatinina (mg/dl)	0.44 (0.29 – 0.55)	0.32 (0.24 – 0.46)	0.006*
Albúmina (g/dl)	3.3 (2.9 – 3.7)	2.8 (2.2 – 3.6)	<0.001*
Úrico (mg/dl)	3.4 (2.5 – 4.3)	3.6 (2.5 – 4.5)	0.236
Calcio total (mg/dl)	8.5 (8.2 – 8.9)	8.2 (7.7 – 8.7)	0.003*
Calcio iónico (mmol/L)	1.27 (1.23 – 1.31)	1.23 (1.17 – 1.29)	<0.001*
Fósforo (mg/dl)	4.45 ± 0.92	4.62 ± 1.25	0.17
Magnesio (mg/dl)	2 (1.77 – 2.2)	2 (1.7 – 2.2)	0.118
Lactato (mmol/L)	1.5 (1.2 – 2.12)	1.4 (1 – 2)	0.27
pH	7.33 ± 0.07	7.32 ± 0.07	0.44
Bicarbonato (mmol/L)	21.9 (19.7 – 24.3)	22.55 (20.6 – 25.17)	0.032*
PCR (mg/L)	2.9 (2.9 – 13.6)	22.5 (4.2 – 80.8)	<0.001*
PCT (ng/ml)	0.05 (0.05 – 0.2)	0.74 (0.14 – 4.83)	<0.001*
Los valores se muestran como media ± desviación típica si la variables sigue una distribución normal (pruebas paramétricas) y mediana (rango intercuartílico) en el resto de variables (pruebas no paramétricas)			

Se analiza mediante regresión logística binaria cada una de las variables que muestran asociación estadísticamente significativa en las tablas anteriores (tabla 5.26). Con excepción del recuento plaquetario, niveles de creatinina y bicarbonato, el resto de variables analizadas muestran asociación estadística con la presencia de morbilidad durante el ingreso, aunque en la mayoría de casos las OR son cercanas a la unidad.

La relación con las variables antropométricas refleja el hecho de que los niños de menor edad, y por tanto de menor peso y talla, tienen mayor morbilidad durante el ingreso en UCIP, aunque las OR cercanas a uno hacen que no podamos considerar a dichas variables como factores de riesgo por sí mismas.

**Tabla 5.26. Regresión logística binaria de la morbilidad (variable dependiente) con cada una de las covariables asociadas.**

Variable	OR (IC 95%)	Nivel de significación
Edad (meses)	0.99 (0.986 – 0.995)	<0.001*
Peso (kg)	0.969 (0.954 – 0.985)	<0.001*
Talla (m)	0.175 (0.073 – 0.42)	<0.001*
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	0.92 (0.855 – 0.986)	0.018*
Enfermedad de base	0.243 (0.142 – 0.415)	<0.001*
MI general	4 (2.5 – 6.4)	<0.001*
PRISM-II	1.24 (1.17 – 1.32)	<0.001*
Estancia (días)	1.614 (1.412 – 1.844)	<0.001*
Mortalidad	12.214 (1.53 – 97.52)	0.018*
Monocitos (mm <sup>-3</sup> )	1.001 (1 – 1.001)	0.01*
Vitamina D (ng/ml)	0.938 (0.916 - 0.961)	<0.001*
Plaquetas (mm <sup>-3</sup> )	1 (1 – 1)	NS
Creatinina (mg/dl)	1.16 (0.77 – 1.73)	NS
Albúmina (g/L)	0.52 (0.38 – 0.71)	<0.001*
Calcio total (mg/dl)	0.54 (0.37 – 0.78)	0.001*
Ca <sub>i</sub> (mmol/L)	0.004 (0 – 0.091)	<0.001*
Bicarbonato (mmol/l)	1.005 (0.991 – 1.02)	NS
PCR (mg/L)	1.013 (1.008 – 1.02)	<0.001*
PCT (ng/ml)	1.25 (1.11 – 1.4)	<0.001*

Según los datos analizados, la existencia de enfermedad de base se comporta como factor protector para el desarrollo de complicaciones en UCIP, lo cual a priori carece de sentido desde el punto de vista clínico. Es posible que la mayoría de estos pacientes sean admitidos en la unidad para el seguimiento postoperatorio programado, quienes tienen menor morbilidad que los que son admitidos con carácter urgente, con una OR cruda de 4 (IC 95% 2.5 – 6.4).

Si observamos el análisis de subgrupos, de los 258 pacientes con alguna enfermedad de base, 209 niños (81%) fueron ingresados de forma programada frente a 10 (12.2%) de los 82 pacientes sin enfermedad de base, lo cual supone una diferencia estadísticamente significativa en el análisis Chi cuadrado. Aunque se detallará en el análisis multivariante, la verdadera variable asociada a la morbilidad es el motivo de admisión urgente. El motivo de ingreso se comporta por tanto como un factor de confusión (tablas 5.27 y 5.28).

**Tabla 5.27. Tabla de contingencia: Enfermedad de base / Motivo de ingreso**

Enfermedad de base		Motivo de ingreso		Total
		Urgente	Programado	
No	Recuento (%)	72 (87.8%)	10 (12.2%)	82 (100%)
Sí	Recuento (%)	49 (19%)	209 (81%)	258 (100%)
Total	Recuento (%)	121 (35.6%)	219 (64.4%)	340 (100%)

$\chi^2$  128.53  $p < 0.001$

**Tabla 5.28. Tabla de contingencia Enfermedad de base / Morbilidad según motivo de ingreso**

MOTIVO DE INGRESO			MORBILIDAD		Total
			No	Sí	
URG	Enfermedad de base	Recuento (%)	20 (27.8%)	52 (72.2%)	72 (100%)
	Sin enfermedad	Recuento (%)	22 (44.9%)	27 (55.1%)	49 (100%)
	Total	Recuento (%)	42 (34.7%)	79 (65.3%)	121 (100%)
PROG	Enfermedad de base	Recuento (%)	5 (50%)	5 (50%)	10 (100%)
	Sin enfermedad	Recuento (%)	144 (68.9%)	65 (31.1%)	209 (100%)
	Total	Recuento (%)	149 (68%)	70 (32%)	219 (100%)
Total	Enfermedad de base	Recuento (%)	25 (30.5%)	57 (69.5%)	82 (100%)
	Sin enfermedad	Recuento (%)	166 (64.3%)	92 (35.7%)	258 (100%)
	Total	Recuento (%)	191 (56.2%)	149(43.8%)	340 (100%)

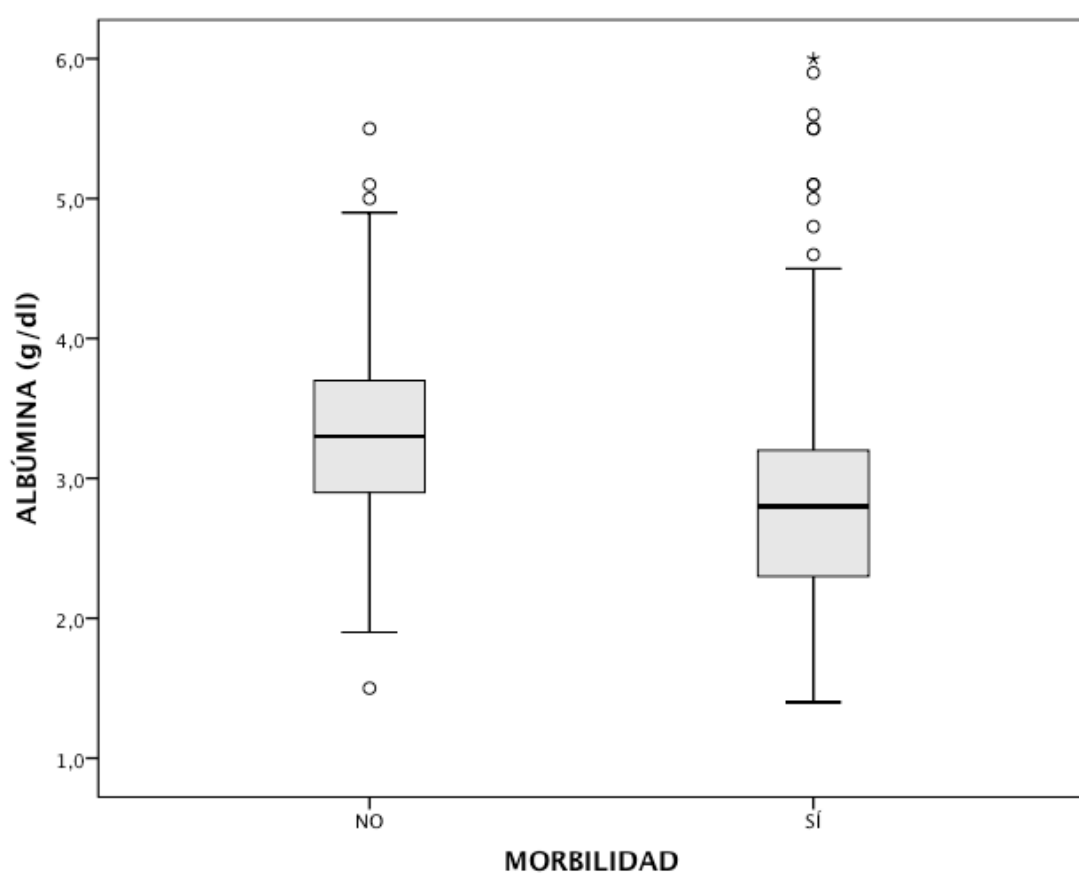
$$OR_1 (\text{Urgente}) = (20 \cdot 27) / (22 \cdot 52) = 0.47; X^2 3.771, p=0.052$$

$$OR_2 (\text{Programado}) = (5 \cdot 65) / (5 \cdot 144) = 0.45; X^2 1.568, p=0.211$$

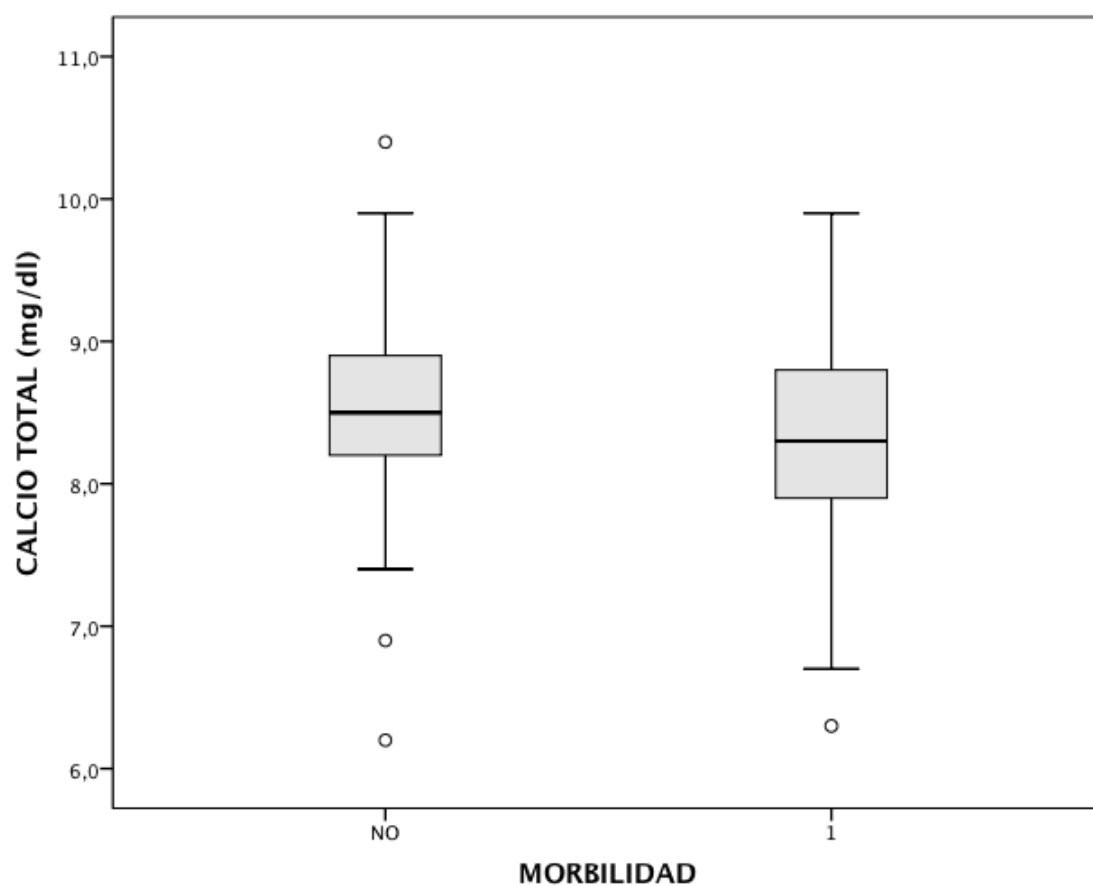
$$OR \text{ global} = (25 \cdot 92) / (57 \cdot 166) = 0.24; X^2 28.96, p<0.001$$

Los niveles de albúmina y calcio total se comportan como factores protectores de morbilidad en el análisis bivalente, con OR de 0.52 y 0.54 respectivamente, así como el calcio iónico, aunque la magnitud de la asociación para este último es débil (OR 0.004; 0 – 0.091) (figuras 5.33 y 5.34).





**Figura 5.33. Diagrama de cajas de la distribución de albúmina (g/dl) en función de la presencia de morbilidad durante el ingreso.**



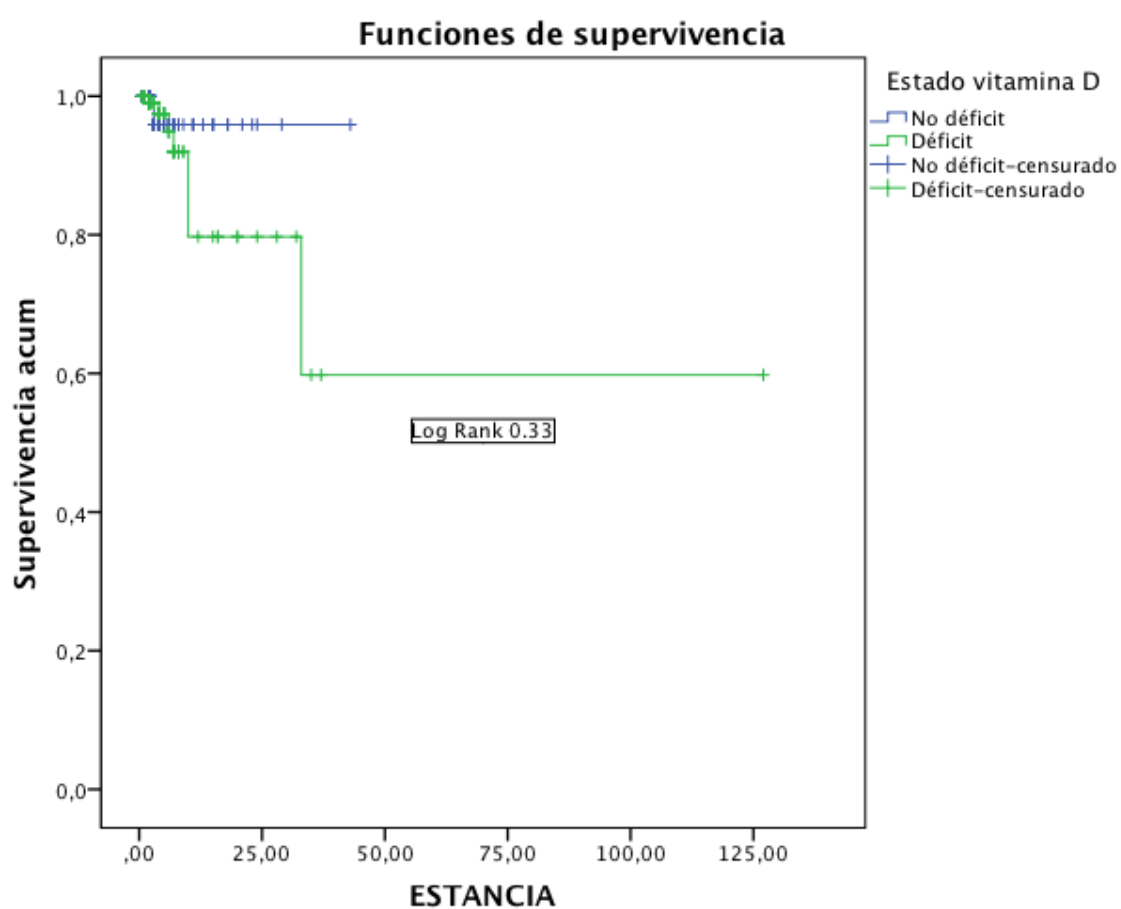
**Figura 5.34.** Diagrama de cajas de la distribución del calcio total en relación a la presencia de morbilidad durante el ingreso en UCIP.

### 5.2.3. Déficit de vitamina D y mortalidad

La mortalidad en el grupo con déficit de vitamina D fue superior respecto al grupo sin déficit 7(4.7%) frente a 3 (1.6%), aunque esta diferencia no resultó ser estadísticamente significativa ( $p=0.09$ ). Se explora esta relación mediante regresión logística binaria. Los niveles de vitamina D muestran asociación estadísticamente significativa con la mortalidad, aunque con una OR de 0.9 (IC95% 0.82 – 0.98). Se explora dicha relación tomando la variable vitamina D como dicotómica (déficit/no déficit) y vemos que la asociación deja de ser significativa, con una OR de 3.01 (IC95% 0.78 – 12.15;  $p=0.10$ ).

En la curva de supervivencia de Kaplan-Meier vemos que no existen diferencias significativas en cuanto a la supervivencia al alta de UCIP (log Rank 0.917,  $p = 0.338$ ). Como puede apreciarse en el gráfico (figura 5.35) existe un mayor número de eventos en el grupo con déficit de vitamina D, pero su estancia en UCIP es menor por lo que el tiempo de supervivencia también es menor.

Se realiza un análisis bivalente entre la mortalidad en UCIP y el resto de covariables del estudio para identificar factores asociados a la misma (tablas 5.29 y 5.30).



**Figura 5.35. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier según estado de vitamina D (déficit frente a no déficit).**

**Tabla 5.29. Análisis de las características de los sujetos en función de la supervivencia en UCIP**

		Supervivientes	Fallecidos	p
<b>Edad</b>		57.5 (21 - 108)	34 (11.25-117)	0.38
<b>Peso</b>		16 (11 – 31.8)	13 (8.27-23.75)	0.37
<b>Talla</b>		1.05 (0.83-1.39)	0.84 (0.83-1.35)	0.86
<b>Sexo</b>		Mujer 45.5%	Mujer 50%	0.77
<b>IMC</b>		15.76 (14.12-19.1)	14.17 (13.58-17.98)	0.44
<b>Raza</b>	Blanca	310 (93.9%)	10 (100%)	0.42
	Otras	20 (6,1%)	0 (0%)	
<b>Estudios de los padres</b>	Ninguno	24 (9%)	1 (14.3%)	0.13
	Primarios	81 (30.2%)	0 (0%)	
	Secundarios	93 (34.7%)	2 (28.6%)	
	Superiores	70 (26.1%)	4 (57.1%)	
<b>Estación del año</b>	Primavera	123 (37.3%)	7 (70%)	0.019
	Verano	33 (10%)	2 (20%)	
	Otoño	50 (15.2%)	1 (10%)	
	Invierno	124 (37.6%)	0 (0%)	
<b>Enfermedad de base</b>		78.5%	80%	0.75
<b>MI general</b>	Urgente	112 (33.9%)	9 (90%)	<0.001*
	Programado	218 (66.1%)	1 (10%)	
<b>PRISM-II</b>		5 (1-9)	15 (10.75 - 26)	<0.001*
<b>Estancia UCIP</b>		2 (1-4)	5 (3-10)	0.004*
<b>Morbilidad</b>		140 (42.4%)	9 (90%)	0.003*
Los valores se muestran como media $\pm$ desviación típica si la variables sigue una distribución normal (pruebas paramétricas) y mediana (rango intercuartílico) en el resto de variables (pruebas no paramétricas)				

Tabla 5.30. Parámetros analíticos en supervivientes y fallecidos en UCIP

	Supervivientes	Fallecidos	p
Vitamina D (ng/ml)	22.53 ± 10.53	14 ± 8.81	0.012*
PTH	36 (22 – 53)	93 (43 – 105)	0.003*
Hemoglobina (g/dl)	11.55 ± 1.74	10.27 ± 1.47	0.022*
Leucocitos (mm <sup>-3</sup> )	12000 (9010 – 16175)	11365 (4827,5 – 16547,5)	0.52
Neutrófilos (mm <sup>-3</sup> )	8800 (5925 – 12700)	5800 (2275 – 13000)	0.21
Linfocitos (mm <sup>-3</sup> )	1555 (1000 – 2475)	1650 (415 – 2300)	0.39
Monocitos (mm <sup>-3</sup> )	560 (310 – 835)	590 (400 – 805)	0.877
Plaquetas (mm <sup>-3</sup> )	244000 (183000 – 309000)	129500 (49750 – 200500)	0.001*
Glucosa (mg/dl)	131 (107 – 162)	134.5 (106.5 – 176.75)	0.97
Urea (mg/dl)	24 (17 – 31)	35 (24 – 66.5)	0.004*
Creatinina (mg/dl)	0.38 (0.27 – 0.51)	0.47 (0.26 – 0.77)	0.30
Albúmina (g/dl)	3.1 (2.7 – 3.7)	2.6 (2.25 – 3.2)	0.16
Úrico (mg/dl)	3.5 (2.2 – 4.4)	4.1 (1.5 – 8.5)	0.30
Calcio total (mg/dl)	8.5 (8.1 – 8.8)	7.7 (7.17 – 8.6)	0.06
Calcio iónico (mmol/L)	1.25 (1.21 – 1.3)	1.11 (1.05 – 1.29)	0.017*
Fósforo (mg/dl)	4.44 ± 1.06	5.5 ± 0.17	0.37
Magnesio (mg/dl)	1.9 (1.7 – 2.1)	2 (1.8 – 2.27)	0.25
Lactato	1.5 (1.2 – 2.1)	2.2 (1.27 – 2.27)	0.23
pH	7.33 ± 0.07	7.27 ± 0.11	0.17
Bicarbonato (mmol/L)	22.5 (20.1 – 24.95)	22.1 (20 – 24.1)	0.77
PCR (mg/L)	6.6 (2.9 – 35.8)	26.7 (2.9 – 194.25)	0.16
PCT (ng/ml)	0.09 (0.05 – 0.91)	1.1 (0.45 – 20.68)	0.003*
Los valores se muestran como media ± desviación típica si la variables sigue una distribución normal (pruebas paramétricas) y mediana (rango intercuartílico) en el resto de variables (pruebas no paramétricas)			

Se explora mediante regresión logística binaria las variables que muestran diferencias estadísticamente significativas en la tabla anterior, obteniéndose los resultados reflejados en la tabla 5.31.

**Tabla 5.31. Regresión logística binaria. Variable dependiente: mortalidad.**

Variable	OR (IC 95%)	Nivel de significación
<b>Estudios de los padres</b>		NS
<b>Estación del año</b>		NS
<b>MI general</b>	17.52 (2.19 – 140)	0.007*
<b>PRISM-II</b>	1.26 (1.15 – 1.38)	<0.001*
<b>Estancia</b>	1.02 (0.98 – 1.05)	NS
<b>Morbilidad</b>	0.082 (0.01 – 0.65)	0.018*
<b>Vitamina D</b>	0.89 (0.83 – 0.98)	0.013*
<b>PTH</b>	1.012 (1.003 – 1.022)	0.009*
<b>Hemoglobina</b>	0.64 (0.43 – 0.94)	0.024*
<b>Plaquetas</b>	1 (1 – 1)	<0.001*
<b>Urea</b>	1.03 (1.014 – 1.051)	0.001*
<b>Calcio iónico</b>	0 (0 – 0.001)	<0.001*
<b>PCT</b>	1.018 (1.005 – 1.032)	0.09

La mayoría de variables analizadas, pese a presentar asociación estadísticamente significativa, muestran escasa magnitud de asociación, a excepción del motivo de ingreso en UCIP y los niveles de hemoglobina.

El ingreso con carácter urgente presenta mayor riesgo de mortalidad que cuando el ingreso se produce de forma programada, con una OR de 17.52. El hecho de no presentar morbilidad frente a presentarla representa un factor de protección frente a la mortalidad, con una OR de 0.082. Por otro lado, los niveles de hemoglobina tienen también una relación inversa con la mortalidad, es decir, los sujetos con mayor concentración de hemoglobina al ingreso tienen una menor mortalidad, con una OR de 0.64.

Los niveles de PTH también se relacionan con la mortalidad, pero la OR estimada es cercana a la unidad. Por último, tal y como se detalló en el apartado anterior, los niveles de vitamina D parecen tener un efecto protector sobre la mortalidad, aunque la magnitud del efecto es pequeña (OR 0.89). La significación estadística se pierde al dicotomizar la variable según el dintel de los 20 ng/ml seleccionado para identificar los sujetos con y sin déficit de esta vitamina.

#### **5.2.4. Déficit de vitamina D y estancia en UCIP**

Se explora mediante el test de la U de Mann-Whitney la relación entre los días de estancia en UCIP y el déficit de vitamina D. La estancia en UCIP fue superior en los individuos con déficit de vitamina D respecto al grupo sin déficit 3 (1 – 5.5) frente a 2 (1 – 3),  $p=0.001$ .

Se realizan correlaciones múltiples considerando la estancia hospitalaria como variable dependiente (tabla 5.32). En el análisis bivalente se obtiene

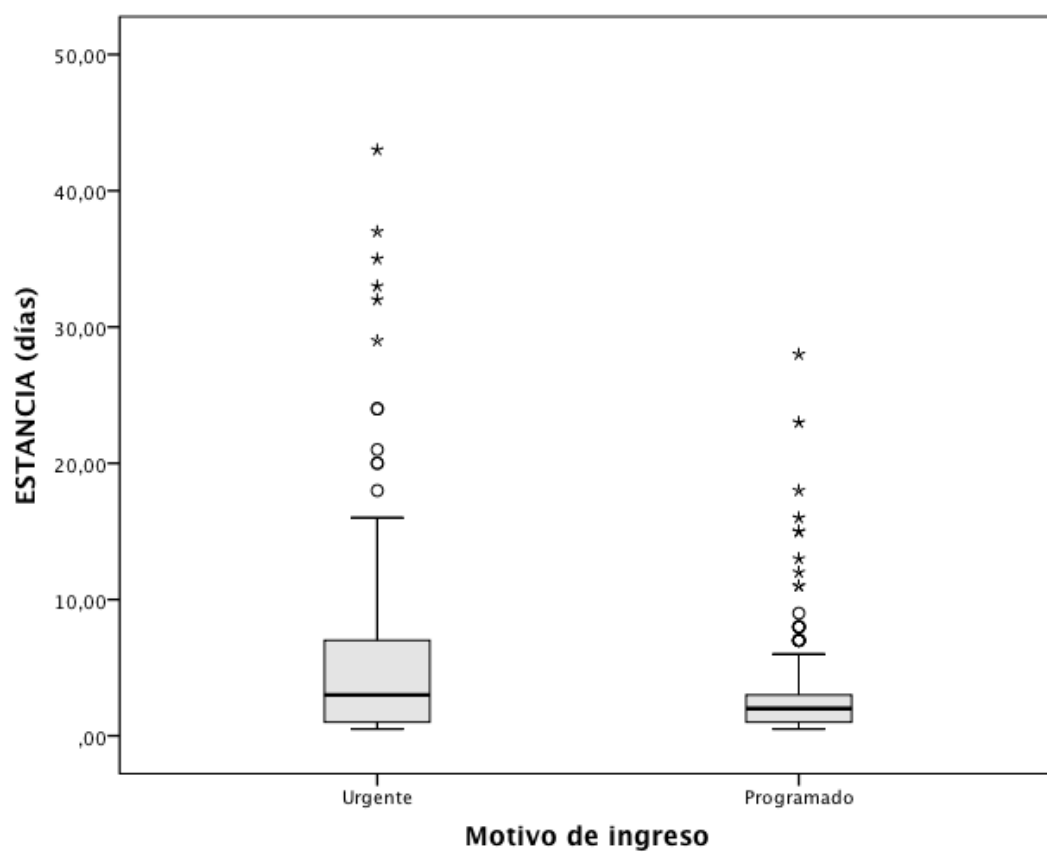


asociación estadísticamente significativa de la estancia en cuidados intensivos con la edad (a menor edad, mayor estancia), puntuación en la escala PRISM-II (a mayor puntuación, mayor estancia), niveles de albúmina (a menor concentración, mayor estancia) y procalcitonina (a mayor valor, mayor duración del ingreso) (tabla 5.32), aunque la correlación lineal entre las variables es débil (figuras 5.36 a 5.40).

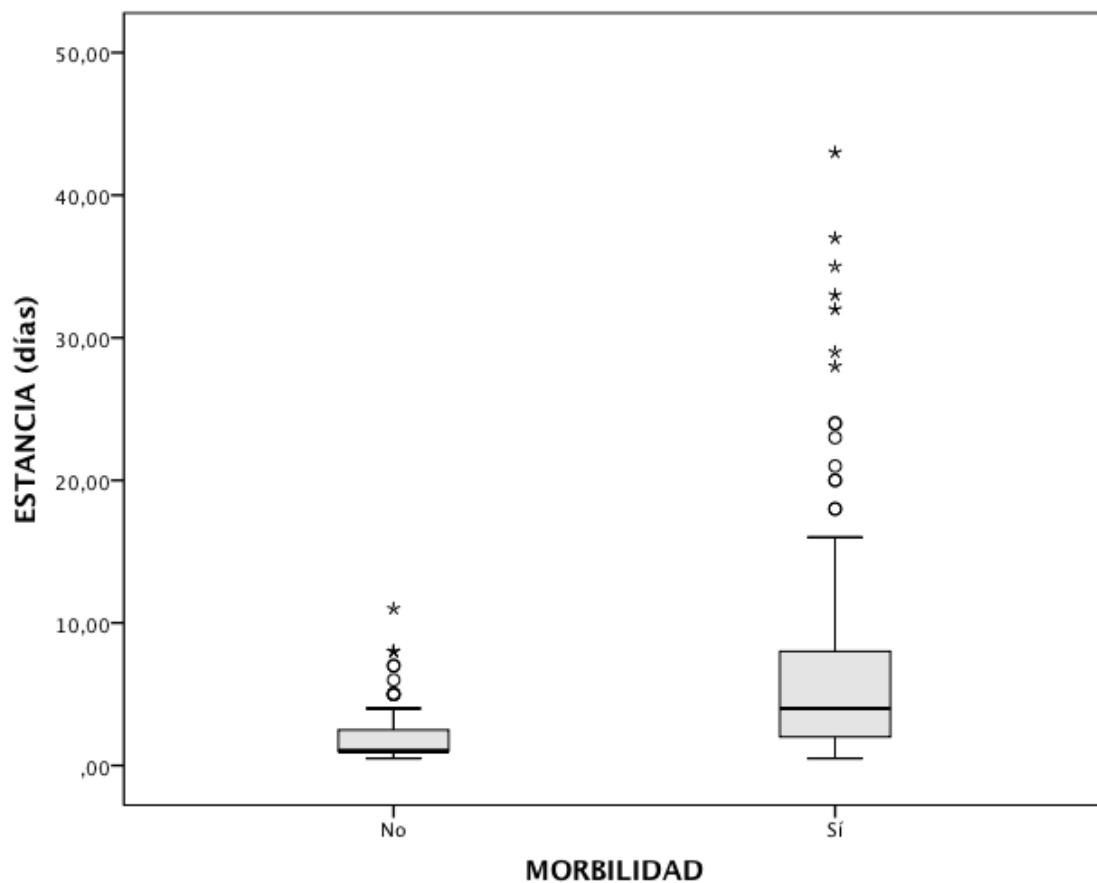
Asimismo, existe asociación estadísticamente significativa y clínicamente esperable de los días de estancia en UCIP con la presencia de morbilidad durante la misma, así como con el carácter del motivo de ingreso inicial (urgente frente a programado).

**Tabla 5.32. Correlaciones de las variables estudiadas con la estancia en UCIP (variable dependiente)**

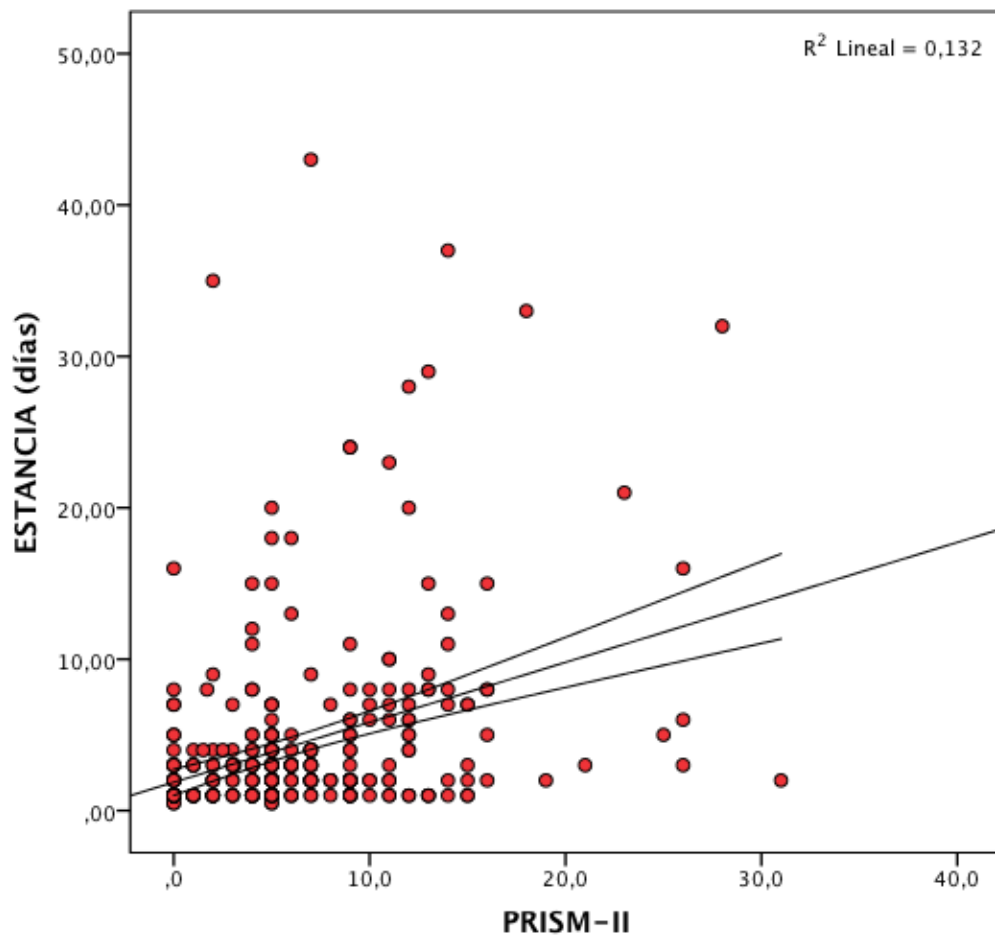
Variables	Pearson	p	R <sup>2</sup>	$\beta_0$	$\beta_1$ (IC95%)	p
Edad (m)	-0.11	0.015*	0.013	5.28	-0.02 (-0.03, -0.003)	0.015*
Peso (kg)	-0.11	0.038	0.013	6	-0.06 (-0.125, -0.004)	0.038
PRISM-II	0.363	<0.001*	0.132	1.873	0.396 (0.287, 0.50)	<0.001*
Vitamina D	-0.092	0.091	0.008	6.27	-0.077 (-0.16, 0.012)	0.091
PTH (mg/dl)	0.089	0.12	0.008	3.43	0.02 (-0.005, 0.043)	0.12
Hemoglobina (g/dl)	0.036	0.51	0.001	2.44	0.18 (-0.36, 0.73)	0.51
Leucocitos (mm <sup>-3</sup> )	0.06	0.27	0.004	3.44	0 (0, 0)	0.27
Neutrófilos (mm <sup>-3</sup> )	0.064	0.24	0.004	3.57	0 (0, 0)	0.24
Plaquetas (mm <sup>-3</sup> )	-0.09	0.098	0.008	6.35	0 (0, 0)	0.098
Glucosa (mg/ml)	0.035	0.52	0.001	3.91	0.005 (-0.01, 0.02)	0.52
Creatinina	0.12	0.029*	0.014	3.16	3.26 (0.34, 6.17)	0.029*
Úrico (mg/dl)	0.11	0.054	0.012	3.15	0.28 (-0.005, 0.57)	0.054
Albúmina	-0.12	0.037*	0.014	6.81	-0.84 (-1.62, -0.05)	0.037*
Calcio total (mg/dl)	-0.1	0.078	0.01	16.4	-1.4 (-2.96, 0.16)	0.078
Calcio iónico (mmol/L)	-0.11	0.052	0.012	19.03	-11.55 (-23.2, 0.12)	0.052
Fósforo (mg/dl)	0.086	0.12	0.07	1.39	0.72 (-0.19, 1.63)	0.12
pH	-0.07	0.2	0.005	68.59	-8.64 (-22.35, 4.88)	0.2
Bicarbonato (mmol/L)	0.015	0.78	0	4.37	0.008 (-0.05, 0.068)	0.78
Lactato (mmol/L)	0.062	0.26	0.004	3.6	0.55 (-0.42, 1.52)	0.26
PCR (mg/L)	-0.009	0.87	0	4.56	0.001 (-0.01, 0.16)	0.87
PCT (ng/ml)	0.2	<0.001*	0.041	3.98	0.06 (0.03, 0.095)	<0.001*
Sexo	-	-	0.003	4.56	-0.89 (-2.38, 0.6)	0.24
Enfermedad de base	-	-	0.004	5.6	-1.37 (-3.6, 0.84)	0.22
Motivo de ingreso programado	-	-	0.019	5.57	-2.33 (-3.86, -0.8)	0.003*
PO CCV	-	-	0.04	4.18	1.29 (-0.81, 3.39)	0.23
Mortalidad	-	-	0.001	4.02	1.76 (-2.44, 5.96)	0.41
Morbilidad	-	-	0.11	1.97	5.86 (4.05, 7.68)	<0.001*



**Figura 5.36. Diagrama de cajas de la estancia en UCIP en función del carácter urgente o programado del ingreso.**



**Figura 5.37. Diagrama de cajas de la estancia en UCIP en función del carácter urgente o programado del ingreso.**



**Figura 5.38.** Diagrama de dispersión entre la escala PRISM-II y los días de ingreso en UCIP.

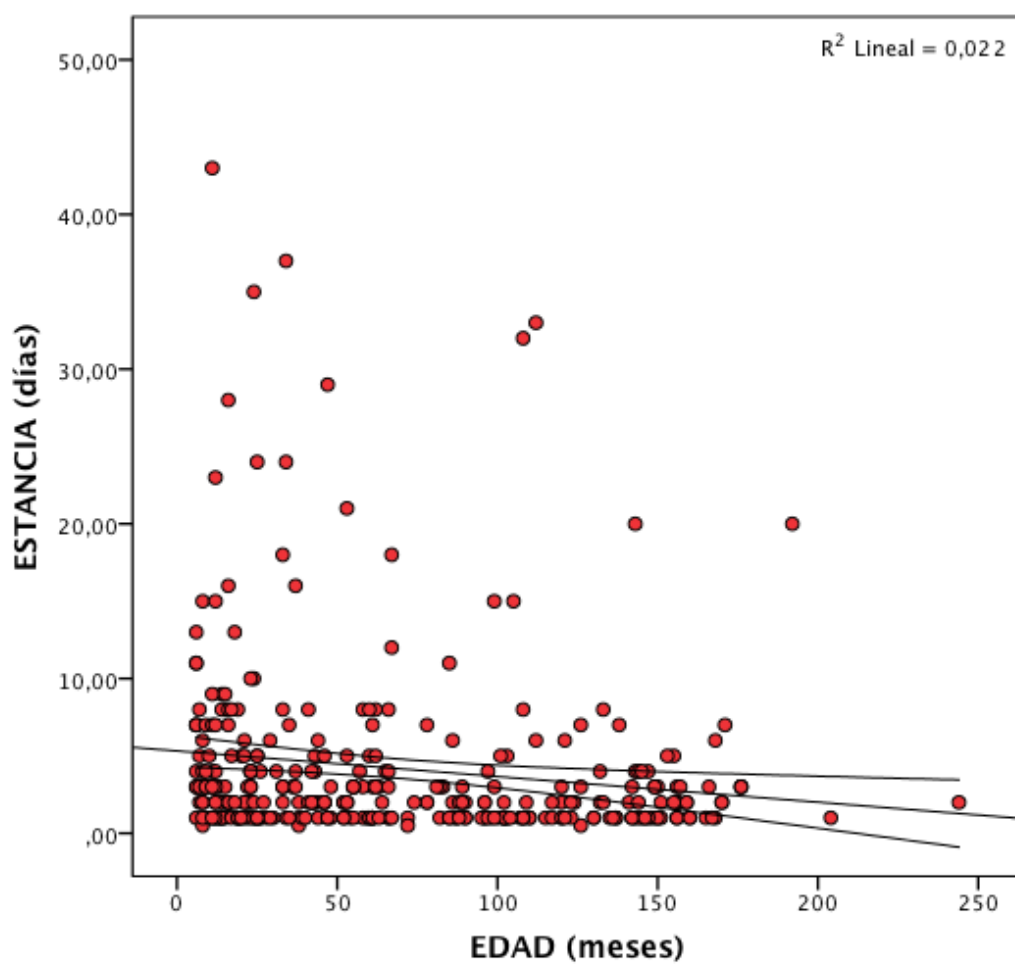
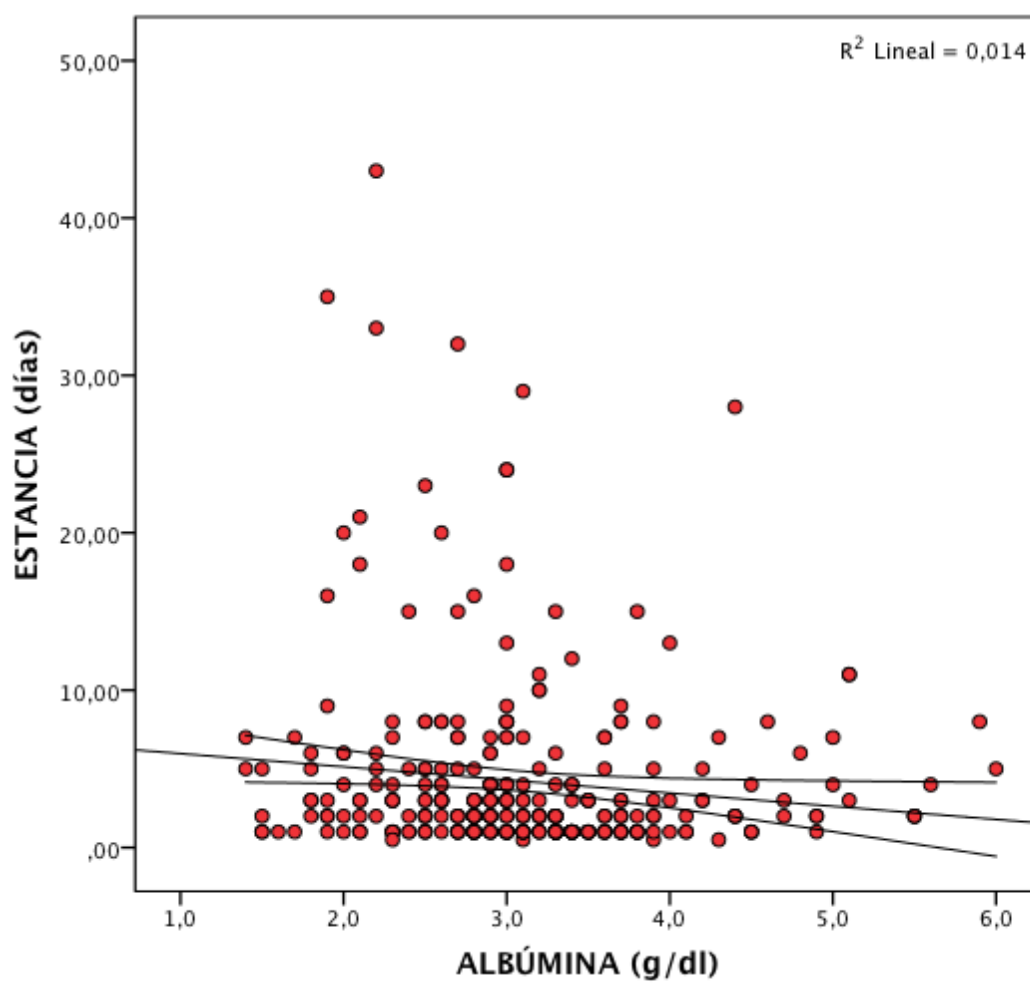


Figura 5.39. Diagrama de dispersión entre la edad y la estancia en UCIP.



**Figura 5.40. Diagrama de dispersión entre la concentración de albúmina al ingreso y la estancia en UCIP.**

## 5.3. ANÁLISIS MULTIVARIANTE

### 5.3.1. Perfil de los pacientes con déficit de vitamina D

Se explora mediante regresión logística multivariante la posible asociación entre las variables independientes que muestran asociación estadísticamente significativa en el análisis bivariante, así como la presencia de enfermedad de base por su posible relación con la variable dependiente estudiada (déficit / no déficit de vitamina D) (tabla 5.33).

En el análisis multivariante controlando por las anteriormente comentadas variables, la puntuación en la escala PRISM-II al ingreso se comporta como un factor de riesgo de presentar déficit de vitamina D. Por cada unidad de cambio de la escala PRISM-II, el riesgo de presentar déficit de vitamina D se multiplica por 1.069, esto es, es más probable que un paciente tenga déficit de vitamina D cuanto más alta es su puntuación en el PRISM-II. La concentración de calcio iónico se comporta como una variable que disminuye el riesgo de presentar déficit de vitamina D (OR 0.004, IC95% 0 – 0,29).



**Tabla 5.33. Regresión logística multivariante para identificar el perfil de riesgo de presentar déficit de vitamina D al ingreso. Variable dependiente: Déficit de vitamina D (sí/no).**

Variables independientes	p	OR	IC 95% para OR	
			Inferior	Superior
Edad (meses)	0,546	1,002	0,996	1,008
NIVEL DE ESTUDIOS PADRES	0,012			
– Primarios vs Sin estudios	0,655	1,324	0,387	4,533
– Secundarios vs Sin estudios	0,604	0,723	0,212	2,463
– Superiores vs Sin estudios	0,128	2,561	0,762	8,606
ESTACIÓN DE INGRESO	0,201			
– Verano vs. Primavera	0,209	0,459	0,136	1,547
– Otoño vs. Primavera	0,176	0,502	0,185	1,362
– Invierno vs. Primavera	0,600	1,198	0,611	2,350
PRISM-II	0,031*	1,069	1,006	1,135
Plaquetas ( $\text{mm}^{-3}$ )	0,021	1,000	1,000	1,000
Albúmina (g/dl)	0,357	0,834	0,568	1,226
Calcio iónico (mmol/L)	0,011*	0,004	0,000	0,292
Leucocitos ( $\text{mm}^{-3}$ )	0,159	1,000	1,000	1,000
PCT	0,669	0,997	0,983	1,011
Enfermedad de base	0,299	0,658	0,299	1,449

Se construyó un modelo de regresión logística multivariante incluyendo las características sociodemográficas de los pacientes incluidos en el estudio para identificar aquellas variables intrínsecas al sujeto que, al margen de las alteraciones analíticas que presentaran al ingreso, modificaran el riesgo de presentar a priori déficit de vitamina D (tabla 5.34).

**Tabla 5.34. Análisis multivariante con características intrínsecas del sujeto. Variable dependiente: Déficit de vitamina D (sí/no).**

Variables independientes	OR ajustada	IC 95% para OR		p
		Inferior	Superior	
<b>Edad (meses)</b>	1.004	0.99	1.01	0.07
<b>Sexo (masculino)</b>	0.83	0.49	1.39	0.48
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	0.97	0.89	1.05	0.53
<b>Enfermedad de base</b>	0.84	0.46	1.52	0.56
<b>Invierno vs Otoño</b>	2.93	1.1	8.70	0.04*
<b>Primavera vs Otoño</b>	2.17	0.93	5.36	0.081
<b>Verano vs Otoño</b>	1.26	0.39	4.05	0.69
<b>Estudios primarios</b>	0.90	0.35	2.42	0.84
<b>Estudios secundarios</b>	0.60	0.23	1.59	0.30
<b>Estudios superiores</b>	1.87	0.72	5.02	0.20
<b>PRISM-II</b>	1.07	1.02	1.13	0.005*

Las únicas variables que presentan asociación estadísticamente significativa con el déficit de vitamina D al ingreso son la puntuación en la escala PRISM-II, con una OR de 1.07 (1.02 – 1.13) y el ingreso en invierno frente al otoño con una OR de 2.93 (1.1 – 8.7). No obstante, la variable edad se encuentra próxima a la significación estadística por lo que se debe considerar la posible existencia de una relación entre ésta y el riesgo de presentar déficit de vitamina D.

### **5.3.2. Análisis multivariante. Variable dependiente: Mortalidad**

Para construir el modelo predictivo mediante regresión logística multivariante se incluyeron inicialmente las variables que mostraron asociación con la mortalidad en el análisis bivariante, la edad y el sexo. Posteriormente, fueron retiradas del modelo las variables que no mostraban asociación estadísticamente significativa con la mortalidad y que no modificaban la asociación con el resto de variables. Permanecen en el modelo aquellas que muestran asociación estadística significativa y aquellas que, pese a no presentarla, aumentan la validez global del modelo, como es el caso de la edad y el sexo (tablas 5.35 y 5.36).

En un modelo anterior se controló la presencia de hipocalcemia como posible variable confundente entre los niveles de vitamina D y la mortalidad, pero este factor no mostró asociación independiente con la mortalidad (tabla 5.37) y tampoco modificaba la asociación de la vitamina D con la mortalidad, por lo que fue eliminado del análisis.

Las categorías de referencia para las variables cualitativas fueron el sexo femenino y el motivo de ingreso programado.

**Tabla 5.35. Regresión logística multivariante. Variable dependiente:**  
**Mortalidad**

Variables independientes	p	OR	I.C. 95% para OR	
			Inferior	Superior
PRISM-II	0.003*	1.319	1.100	1.583
Motivo de ingreso (Urgente)	0.028*	31.306	1.441	680.236
Sexo (masculino)	0.200	5.447	0.409	72.620
Edad (meses)	0.425	0.991	0.971	1.013
Vitamina D (ng/ml)	0.040*	0.837	0.706	0.992
PTH (pg/ml)	0.021*	1.021	1.003	1.040

El modelo obtenido tiene una especificidad del 91.6% y una sensibilidad del 85.7%, con un porcentaje de clasificación correcta del 91.5% (tabla 4.46).

La puntuación en la escala PRISM-II, el motivo de ingreso urgente y los niveles de PTH se comportan como factores de riesgo de mortalidad con OR de 1.32, 31.3 y 1.021 respectivamente. Los niveles de vitamina D se muestran protectores frente al riesgo de fallecer durante el ingreso, con una OR de 0.84 (IC 95% 0.7 a 0.99) (tabla 4.44).

**Tabla 5.36. Validez del modelo predictivo de regresión logística multivariante de la mortalidad**

Observado	Pronosticado		
	MORTALIDAD		Porcentaje correcto
	NO	SÍ	
NO	273	25	91.6
MORTALIDAD SÍ	1	6	85.7
Porcentaje global			91.5

**Tabla 5.37. Modelo de regresión logística multivariante considerando la presencia de hipocalcemia**

	p	OR	IC 95% para OR	
			Inferior	Superior
PRISM-II	0.003*	1.322	1.100	1.589
Motivo de ingreso urgente	0.043*	25.951	1.104	609.832
Edad (meses)	0.244	0.984	0.958	1.011
Sexo masculino	0.216	5.258	0.378	73.086
Vitamina D (ng/ml)	0.047*	0.840	0.707	0.998
PTH (pg/ml)	0.133	1.016	0.995	1.036
Hipocalcemia*	1	$7.078 \cdot 10^9$	0	.

\*Calcio iónico  $\leq 1,1$  mmol/L

### 5.3.3. Análisis multivariante. Variable dependiente: Morbilidad

Para construir el modelo predictivo mediante regresión logística multivariante, al igual que en el apartado anterior, se incluyeron inicialmente las variables que mostraron asociación con la morbilidad en el análisis bivariante, la edad y el sexo. Posteriormente, fueron retiradas del modelo las variables que no mostraban asociación estadísticamente significativa con aquélla y que no modificaban la asociación con el resto de variables. Permanecen en el modelo aquellas que muestran asociación estadística significativa y aquellas que, pese a no presentarla, aumentan la validez global del modelo, como es el caso de la edad y el sexo (tabla 5.38 y 5.39).

Las categorías de referencia para las variables cualitativas fueron el sexo femenino, el no déficit de vitamina D, el motivo de ingreso programado y el no presentar enfermedad de base.

En el análisis multivariante vemos que se comportan como “factores de riesgo” para presentar morbilidad la puntuación en la escala PRISM-II en las primeras 24 horas de ingreso (OR 1.22), los días de estancia en la unidad (OR 1.44), el sexo masculino (OR 2), el déficit de vitamina D (OR 5.44) y los valores de PCR y el motivo de ingreso urgente, aunque estas dos últimas variables presentan una OR cercana a la unidad (1.013 y 1.05, respectivamente).

**Tabla 5.38. Modelo de regresión logística multivariante. Variable dependiente: Morbilidad**

	p	OR	IC 95% para OR	
			Inferior	Superior
PRISM-II	<0.001*	1.223	1.112	1.345
Estancia (días)	<0.001*	1.439	1.226	1.690
Ca <sub>i</sub> (mmol/L)	0.010*	0.001	0.000	0.191
PCR (mg/L)	<0.001*	1.013	1.006	1.019
Sexo (masculino)	0.067	1.956	0.954	4.009
Déficit vitamina D	<0.001*	5.442	2.542	11.653
Edad (meses)	<0.001*	0.985	0.977	0.993
Motivo de ingreso (programado)	0.923	1.049	0.402	2.732
Enfermedad de base	0.016*	0.283	0.102	0.787

Los factores que disminuyen el riesgo de morbilidad según el análisis realizado son el calcio iónico (OR 0.001), la presencia de enfermedad de base (OR 0.28) y la edad (OR 0.98), aunque esta última presenta una OR cercana a la unidad, por lo que su significado clínico podría desestimarse.

El modelo obtenido tiene una especificidad del 91.5% y una sensibilidad del 75.6%, con un porcentaje de clasificación correcta del 84.6%.

**Tabla 5.39. Validez del modelo predictivo de regresión logística multivariante de la morbilidad**

Observado	Pronosticado		
	MORBILIDAD		Porcentaje correcto
	0	1	
0	162	15	91.5
1	33	102	75.6
Porcentaje global			84.6

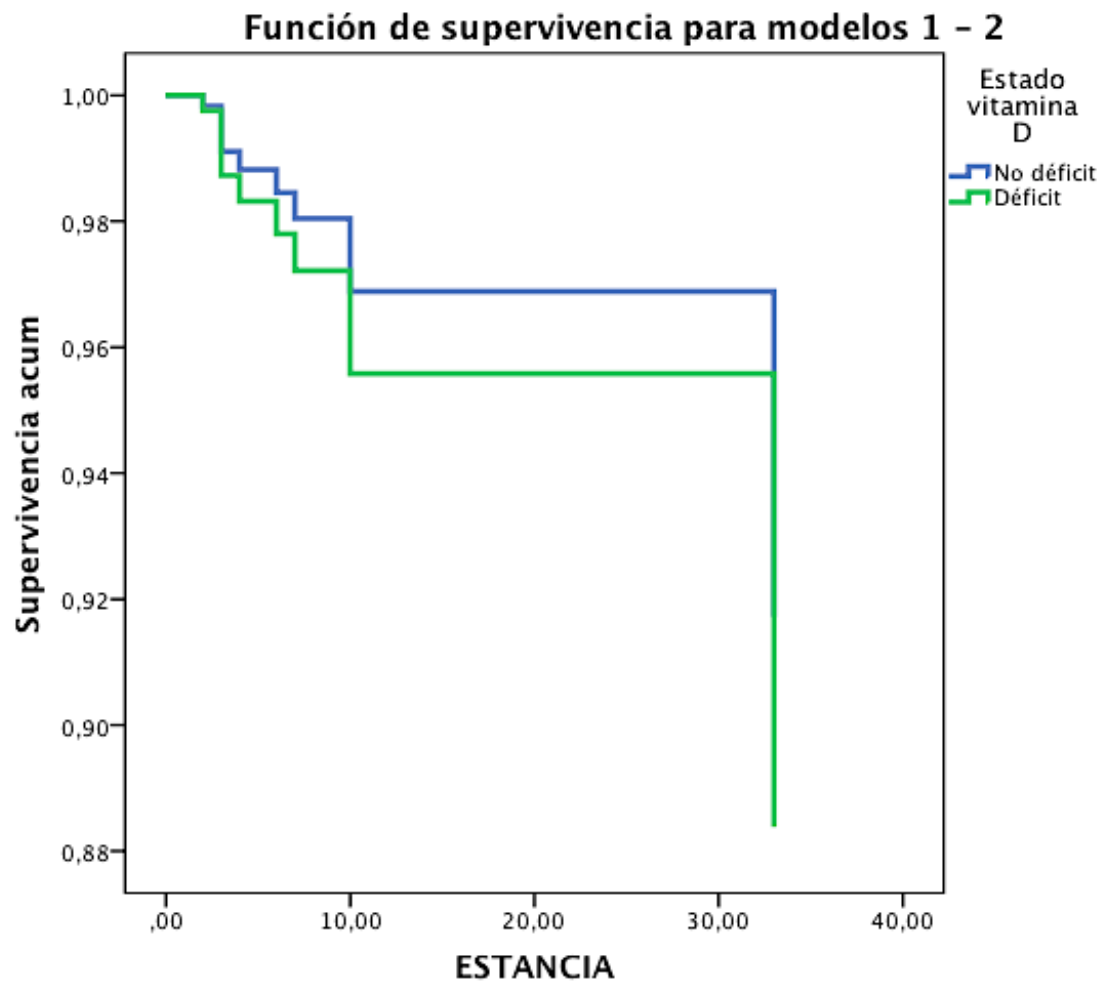


### 5.3.4. Análisis de supervivencia. Regresión de Cox

En el análisis de supervivencia se han incluido como covariables el déficit de vitamina D, la puntuación en la escala PRISM-II en las primeras 24 horas de ingreso en UCIP, el motivo de ingreso urgente o programado y la existencia de morbilidad durante la estancia en la unidad (tabla 5.40). De las variables introducidas, únicamente la puntuación en la escala PRISM-II muestra asociación estadísticamente significativa (HR 1.14, IC95% 1.05 a 1.24). Al igual que se vio en la curva de Kaplan-Meier, el déficit de vitamina D no implica un cambio significativo en la supervivencia de estos pacientes, probablemente por el escaso número de eventos en esta serie que hace que este tipo de análisis tenga menor utilidad.

**Tabla 5.40. Regresión de Cox**

Covariables	p	HR	95,0% IC para HR	
			Inferior	Superior
Déficit de vitamina D	0.635	1.429	0.327	6.244
PRISM-II	0.003*	1.141	1.047	1.245
Morbilidad	0.628	0.557	0.052	5.948
Motivo de ingreso	0.123	0.186	0.022	1.577



**Figura 5.41. Gráfico de supervivencia de los pacientes en función de la presencia de déficit de vitamina D al ingreso.**

# DISCUSIÓN

## PREVALENCIA

El presente estudio demuestra que la prevalencia de déficit de vitamina D en pacientes críticos pediátricos es del 43.8%, con un intervalo de confianza al 95% de 38.53% a 49.07%. La media de vitamina D total es de  $22.28 \pm 10.55$  (intervalo de confianza 95% de 21.15 a 23.41). Estas cifras son similares a las comunicadas por Madden K y colaboradores<sup>(184)</sup> en el trabajo publicado en 2012, realizado en Boston, con un tamaño muestral de 511 pacientes pediátricos en UCI, a pesar de que las características de la población que estos analizan no son comparables a las de nuestra muestra, ya que incluyen a pacientes de edad inferior a 17 años (aunque con una mediana de edad de 5.3 años, similar a la nuestra de 5 años) y excluyen tanto a los ingresos inferiores a 48 horas como a los pacientes tras circulación extracorpórea. McNally y colaboradores (Canadá)<sup>(183)</sup> obtienen una prevalencia de déficit de vitamina D del 69% y de insuficiencia (20 – 30 ng/ml) del 23%, siendo la mediana de edad de los sujetos analizados de 3.7 años. La prevalencia en nuestra muestra es superior a la encontrada por Rey y colaboradores<sup>(187)</sup> en un estudio realizado en niños ingresados en la UCIP del Hospital Central de Asturias, con una edad mediana de 3.8 años. Estos investigadores obtienen una prevalencia del 29.5% con una mediana de vitamina D de 26 ng/ml (19.2 a 35.8).

Algunas de las posibles causas de estas diferencias pueden deberse a las características de la muestra elegida, así como a la localización geográfica donde se realice el estudio.

Es conocida la relación de los niveles de vitamina D con la exposición solar, su principal fuente de síntesis, y por tanto existen variaciones importantes en función del lugar de residencia habitual. De esta forma, aunque no disponemos de datos específicos en la edad pediátrica, en Europa se ha descrito una relación inversa entre la prevalencia de déficit de vitamina D y la latitud, siendo mayor en países de la cuenca mediterránea respecto a países nórdicos<sup>(140,198,199)</sup>, al contrario de lo que a priori podríamos pensar. Los posibles factores que se han relacionado con esta asociación inversa se derivan tanto de hábitos alimenticios como el consumo regular de aceites derivados del pescado y la utilización de suplementos en países nórdicos, como de una mayor protección solar y empleo de filtros solares en países de menor latitud dentro de Europa.

Aún así, la exposición solar es un importante factor determinante de los niveles de vitamina D en humanos. En nuestra muestra hemos detectado diferencias estadísticamente significativas entre los individuos en función de la estación en que se produjo el ingreso en UCIP, siendo la media de vitamina D superior en aquellos que fueron admitidos en otoño respecto a los que ingresaron en primavera e invierno (26.96 ng/ml frente a 20.25 y 22.13 ng/ml respectivamente,  $p=0.001$ ). A pesar de que no se tuvo en cuenta la duración de la estancia hospitalaria previa al ingreso en UCIP, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre las variables puntuación en la escala PRISM-II en las primeras 24 horas y motivo de ingreso urgente o programado entre las distintas estaciones del año, por lo que podemos suponer que las diferencias halladas en la media de niveles de vitamina D por estación climática

pueden deberse verdaderamente a la influencia de la exposición solar en el mes previo a la admisión en UCIP. No obstante, al no ser objetivo del presente trabajo, no se contemplaron en el análisis variables que potencialmente causen confusión como el aporte diario estimado de vitamina D alimentaria. Pese a ello, es poco probable que los hábitos alimenticios de los pacientes varíen significativamente en función de la época del año, más aún cuando se excluyeron del análisis aquellos que estuviesen o hubiesen estado con aportes suplementarios de vitamina D en el mes previo al ingreso.

Aunque las medias de vitamina D en la población europea general proporcionan una fotografía de la estimación del estado de vitamina D, estas estimaciones no informan acerca de la proporción de la población que es deficiente en vitamina D ni de la prevalencia de estados carenciales en grupos vulnerables y pueden no reflejar importantes variaciones estacionales.

Un análisis de la *National Diet and Nutrition Survey en Reino Unido* del periodo 2008/2009–2011/2012 comunicó, como era esperable, unas concentraciones medias de 25-OH-D más altas en aquellos en quienes la muestra se extrajo durante los meses de julio a septiembre, mientras que las más bajas se recolectaron durante los meses de enero a marzo<sup>(200)</sup>. En el estudio de evaluación del estado de vitamina D en 6146 adultos en Dinamarca se apreciaron marcadas diferencias estacionales<sup>(201)</sup>. La prevalencia de deficiencia en vitamina D, definida como <25 nmol/L, fue del 13.8% y de insuficiencia (<50 nmol/L) del 52.2%, registrando las menores medianas de concentración de 25-OH-D en febrero y las más altas en agosto. Estas

diferencias estacionales también han sido comunicadas en otros países como Alemania y Países bajos<sup>(202)</sup>. A pesar de que el presente proyecto no pretende ser un estudio de prevalencia del déficit de vitamina D, puesto que está circunscrito a pacientes críticos pediátricos mayores de seis meses de edad y con los criterios de exclusión recogidos en la sección de material y métodos, los resultados anteriormente expuestos por estos autores son concordantes con los de este trabajo, puesto que encontramos las cifras más elevadas de 25-OH-D en el mes de agosto ( $30.72 \pm 10.02$  ng/ml) y las más bajas en el mes de abril ( $18.17 \pm 9.59$  ng/ml).

Es difícil afirmar que la prevalencia del déficit de vitamina D en nuestra muestra es superior a la poblacional, debido a la ausencia de datos en nuestra población de referencia. En el estudio de Rey C y colaboradores<sup>(187)</sup> comparan los niveles de vitamina D en niños sanos de la ciudad de Oviedo (289) con niños ingresados en la UCIP del Hospital Central de Asturias (156), encontrando diferencias estadísticamente significativas tanto en la concentración de 25-OH-D (30.5 frente a 26 ng/ml,  $p=0.007$ ), como en la prevalencia del déficit de vitamina D (15.6% frente a 29.5%,  $p=0.01$ ).

Hasta el momento actual, no existen estudios que proporcionen estimaciones del estado de vitamina D en niños españoles. El estudio HELENA (Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence) determinó sobre 1006 adolescentes de 10 ciudades europeas, entre las cuales se encontraba Zaragoza como representación española, que alrededor del 80% presentaba niveles subóptimos, con una frecuencia de déficit del 27%<sup>(135,203)</sup>, siendo este

porcentaje superior en niños obesos. En un reciente estudio transversal español se halló una prevalencia del 51% entre niños escolares sanos de la provincia de Madrid<sup>(136)</sup>. Estas cifras son difícilmente extrapolables a los valores poblacionales españoles, debido a que se centran en niños de edades superiores a los 9 años, una población de reconocido riesgo. Vierucci y colaboradores encuentran una prevalencia de déficit de vitamina D del 45.9% en una muestra de 652 niños y adolescentes (de 2 a 21 años) de la región noroeste de la Toscana Italiana<sup>(204)</sup>.

Por otro lado, los métodos analíticos utilizados en la determinación de la concentración plasmática de vitamina D difieren entre los distintos trabajos publicados y esto puede dar lugar a diferencias importantes en los resultados de los estudios, tal y como ha sido ya descrito por numerosos autores<sup>(100,102,104-109)</sup>. En el presente trabajo, la determinación de la concentración de vitamina D se realizó mediante inmunoensayo (Cobas e602, Roche®). Este método cuantifica la concentración total de vitamina D (D<sub>2</sub> y D<sub>3</sub>), con un rango de medición entre 5.00 y 60.0 ng/mL o 12.5 - 150 nmol/L. Este método ha sido estandarizado frente a LC-MS/MS de acuerdo al estándar del NIST.

McNally y colaboradores utilizan para la determinación de los niveles de vitamina D la cromatografía líquida en tándem con espectrómetro de masas (LC-MS/MS), actualmente considerado como el método gold-standard<sup>(105,183)</sup>. Madden y colaboradores<sup>(184)</sup> emplean el radioinmunoensayo (DiaSorin®), al igual que Lucidarme<sup>(177)</sup> y Nair<sup>(205)</sup> en pacientes adultos. Rey y colaboradores<sup>(187)</sup> comunican cifras inferiores a la nuestra, utilizando para la



determinación de la 25-OH-D en inmunoensayo Liason®. El trabajo de Moromizato<sup>(185)</sup> aúna los resultados de determinaciones analíticas realizadas mediante diferentes técnicas (quimioluminiscencia, radioinmunoanálisis y espectrometría de masas), pudiendo incurrir así en un sesgo de clasificación de la exposición.

Aunque un 21.3% de pacientes elegibles no se incluyeron en el estudio, es probable que estos pacientes no estuvieran tan críticos como los sujetos incluidos, tal como parece derivarse del hecho de obtener una puntuación en la escala PRISM-II al ingreso menor [3 (0-6) frente a 5 (1-9),  $p < 0.001$ ] y una menor estancia en UCIP [1.1 (0.66 – 3) frente a 2 (1 – 4) días]. A pesar de que el motivo de ingreso (urgente/programado) no se distribuyó de forma estadísticamente significativa entre los sujetos elegibles incluidos y no incluidos, es posible que en la mayoría de los casos, bien no se ofreciera el consentimiento informado o bien los responsables legales de los pacientes no aceptaran participar en el estudio, debido a que en muchos de estos pacientes no es necesaria desde el punto de vista clínico la obtención de una muestra sanguínea para análisis de laboratorio.

## PERFIL DE RIESGO

Al igual que han demostrado previamente otros investigadores, el déficit de vitamina D en la edad pediátrica aumenta con la edad<sup>(137,184,187,206)</sup>. En nuestra serie la edad de los pacientes con y sin deficiencia en vitamina D fue de 61 y 47 meses respectivamente, diferencia estadísticamente significativa. A pesar de que en nuestra serie la edad no obtuvo relación estadísticamente significativa en el análisis multivariante ajustado por otras variables sociodemográficas y por la puntuación en la escala PRISM-II, la edad es un factor que ha demostrado tener relación en diferentes estudios publicados en la literatura en países como Turquía, Estados Unidos e Italia<sup>(199,204,207)</sup>.

Las causas de esta mayor prevalencia en niños mayores y adolescentes se han relacionado con los hábitos alimenticios y las acciones preventivas llevadas a cabo desde Atención Primaria<sup>(207)</sup>. En la lactancia e infancia precoz el aporte dietético de vitamina D, gracias fundamentalmente a la suplementación de fórmulas y leches pasteurizadas, garantiza un aporte cercano a las recomendaciones dietéticas diarias. Esto, junto a la mayor concienciación de los padres acerca de la alimentación infantil en esta etapa de la vida, puede suponer un factor determinante en el estado de vitamina D del niño. Sin embargo, un reciente estudio transversal español, cuyo objetivo fue analizar el patrón de alimentación de niños menores de 3 años y comparar los resultados con las recomendaciones de consumo energético y de nutrientes, concluye que hasta un 92% de estos niños tiene una ingesta media estimada

de vitamina D inferior a la RDA, siendo la deficiencia de aporte vitamínico más frecuente<sup>(208)</sup>.

El estudio HELENA pone de manifiesto que el aporte dietético de vitamina D en niños de 10 a 19 años se encuentra por debajo de las recomendaciones actuales en más del 50% de los casos<sup>(209)</sup>. Tal y como se ha comentado previamente, nuestra muestra no incluye a los menores de seis meses de edad ni aquellos que tomaran suplementos vitamínicos, y en el resto de pacientes incluidos no se registraron variables que estimaran la ingesta diaria de vitamina D, por lo que no podemos aportar información respecto a esta hipótesis causal.

La prevalencia real en pacientes críticos pediátricos pudiera ser inferior a la obtenida en el presente estudio, dado que excluimos a los lactantes de edad inferior a 6 meses y aquellos que recibían suplementos durante el mes previo al ingreso. El motivo de la exclusión fue debido a que las actuales recomendaciones<sup>(126)</sup>, aunque con bajo grado de evidencia, indican la profilaxis con vitamina D3 para lactantes que tomen menos de un litro de leche fortificada al día. Por este motivo en nuestra unidad administramos profilaxis con vitamina D a los menores de 6 meses que no tengan contraindicación de utilizar la vía enteral y no administrarla debido a la inclusión en el estudio suponía un conflicto ético contrario a las normas de buena práctica clínica.

En pacientes pediátricos críticos otros autores han encontrado relación inversamente proporcional entre el déficit de vitamina D y la edad<sup>(184,187)</sup>. En el

estudio de Corsino Rey y colaboradores encontraron diferencias en la prevalencia de déficit de vitamina D entre niños sanos y los ingresados en Cuidados Intensivos, siendo estas diferencias estadísticamente significativas en el grupo de mayores de 5 años de edad (26.2% frente a 43.1%). Observaron además que la prevalencia del déficit aumentaba conforme lo hacía la edad, en niños sanos desde un 6.5% en menores de un año de edad y en niños hospitalizados en UCIP desde un 11.1%<sup>(187)</sup>.

Se ha comunicado la existencia de valores inferiores de vitamina D en pacientes postoperados de cirugía cardiovascular con circulación extracorpórea<sup>(141,210)</sup>. Sin embargo, en nuestro estudio no hemos observado diferencias significativas en cuanto a la concentración media de ambos grupos ni en cuanto al porcentaje de hipovitaminosis D. La mayoría de las determinaciones plasmáticas en estos pacientes en nuestra serie se realizaron pasadas las primeras 12 horas del ingreso, por lo que el efecto dilucional sugerido como posible mecanismo de esta menor concentración de vitamina D plasmática puede que no haya alterado la estimación de la prevalencia de déficit global de la muestra.

Tanto en el análisis bivalente como en el multivariante ajustado por el resto de características sociodemográficas de la población estudiada, hemos encontrado asociación estadísticamente significativa entre el déficit de vitamina D y el nivel de estudios de los padres, utilizado como variable proxy del nivel sociocultural de la familia. Las diferencias entre los distintos grupos (sin estudios, estudios primarios, secundarios y superiores) pueden deberse tanto a

factores alimentarios como relacionados con la exposición solar. Dadas las características de este estudio, no se incluyeron variables que recogieran información acerca de ninguno de estos dos aspectos por lo que no podemos sacar conclusiones acerca de la causa de estas diferencias.

En el trabajo de Vierucci y colaboradores<sup>(204)</sup> se documenta la asociación estadísticamente significativa entre el uso regular de filtros solares y la prevalencia de déficit de vitamina D en niños y adolescentes en el noroeste de la Toscana italiana, así como con una menor exposición solar, aunque no conocemos información relativa al nivel sociocultural de esta población.

Bener y colaboradores, en un estudio realizado en niños sanos en Qatar, hallan relación entre los niveles de vitamina D y la actividad física, así como con la exposición solar, no ofreciendo así datos acerca del nivel sociocultural<sup>(211)</sup>.

Oberg y colaboradores publican recientemente un trabajo en el que se investigan los factores de riesgo asociados al estilo de vida de adolescentes en una población a 69° de latitud<sup>(212)</sup>. Estos autores encuentran asociación entre los niveles de vitamina D y diversos factores asociados, tales como el consumo de aceite de hígado de bacalao, consumo de leche fortificada, pero también con la actividad física al aire libre, la exposición solar en vacaciones y el uso de solárium, tanto en varones como en mujeres.

Por tanto, en el caso de nuestra muestra las diferencias observadas según el nivel sociocultural pueden atender a cualquiera de estas razones, no siendo posible dilucidar si la causa de dichas diferencias se deben a hábitos alimentarios deficientes en cuanto a aportes de vitamina D o bien a una mayor concienciación acerca del riesgo de la exposición solar en relación al cáncer de piel y por tanto mayor empleo de filtros solares o un menor tiempo de exposición solar debido a menor actividad física fuera del domicilio. El estudio de estas posibles causas bien merece un futuro estudio de investigación al respecto.

## PARÁMETROS ANALÍTICOS

Nuestros resultados muestran que los pacientes con déficit de vitamina D presentaron en las primeras 48 horas del ingreso cifras más elevadas de leucocitos, neutrófilos y PCT y valores inferiores de plaquetas, albúmina y pH. La asociación con recuentos inferiores de plaquetas ha sido observada por otros autores<sup>(187)</sup>. Asimismo, se ha documentado una relación estadística y clínicamente significativa entre la concentración de albúmina y de proteína C reactiva y los niveles de vitamina D<sup>(213)</sup>.

Es posible que esta asociación esté relacionada con una mayor respuesta inflamatoria sistémica en los sujetos con déficit de vitamina D, sin que hasta el momento se pueda determinar en qué sentido ocurre dicha asociación. Existen datos que hacen pensar en una posible relación de la vitamina D con el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, especialmente en sujetos con sepsis<sup>(143,185)</sup>. El rol de la vitamina D en la prevención de infecciones, especialmente cutáneas y respiratorias, se ha investigado en numerosos trabajos, así como en la regulación de diferentes aspectos de la respuesta adaptativa inmune<sup>(122,142)</sup>, entre ellos la mayor producción de catelicidina en estudios in vitro<sup>(214)</sup>. Sin embargo, hasta la actualidad no existen estudios que avalen consistentemente la relación de la vitamina D y diversos marcadores del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, siendo este un terreno en cuyo conocimiento se necesita profundizar.

Aunque también se detectó una relación con los niveles de creatinina, tal y como han descrito algunos autores en la población adulta<sup>(189)</sup>, es difícil establecer una asociación real debido al hecho de que en pediatría los valores de creatinina varían en función de muchos factores, siendo el más importante la edad, junto con el estado nutricional. De hecho, en el análisis multivariante, tan sólo los niveles de calcio iónico mantuvieron la significación estadística, lo que sugiere que la asociación apreciada en el análisis bivariante está relacionada con la edad.

Como era esperable, el déficit de vitamina D se asoció a menores concentraciones de calcio total e iónico y mayores de fósforo, sin apreciar relación significativa con la magnesemia. La asociación observada entre los niveles de vitamina D y la concentración de calcio total e iónico, fósforo y PTH concuerda con lo publicado previamente en la literatura<sup>(186)</sup>. La hiperfosfatemia, hipocalcemia y los niveles bajos de vitamina D son alteraciones que causan un aumento de la paratohormona. En nuestro estudio hasta un 27.5% de los sujetos con déficit de vitamina D presentaron hiperparatiroidismo secundario, encontrando una relación lineal entre los niveles de ambos metabolitos. No obstante, la correlación de la PTH es mayor con la concentración de calcio iónico que con los niveles de vitamina D y que con la concentración de calcio total. La interpretación de este resultado está relacionada con que los niveles de calcio iónico circulantes son el mayor estímulo para la secreción de dicha hormona.



Algunos estudios no han encontrado interacción con la morbimortalidad considerando los niveles bajos de vitamina D y de PTH y calcio. Esto sugiere que la asociación del estado de vitamina D y la mortalidad y morbilidad no se modifica significativamente con la concentración de estas sustancias<sup>(174,177)</sup>. En el estudio de Nair y colaboradores<sup>(205)</sup> se documenta un 32.5% de hiperparatiroidismo (>7 pmol/L) en los sujetos con déficit o insuficiencia de vitamina D. Los niveles de PTH no se modificaron significativamente a lo largo de los primeros siete días del ingreso en UCI, mientras que sí se constató una disminución de la concentración de 25-OH-D. Estos autores no encontraron asociación estadísticamente significativa entre la mortalidad y los niveles de PTH, sugiriendo que el efecto sobre la morbimortalidad y el déficit de vitamina D es independiente de los valores de PTH.

## EFFECTOS EN LA MORBIMORTALIDAD

En nuestra serie hemos hallado una mayor morbilidad en los individuos con déficit de vitamina D (61.1% frente a 30.4%,  $p < 0.001$ ), en términos de ventilación mecánica invasiva, necesidad de drogas vasoactivas, técnicas continuas de depuración extrarrenal, antibioterapia prolongada y nutrición parenteral. El riesgo de presentar morbilidad en los sujetos con déficit de vitamina D durante el ingreso multiplica por 5.44 el riesgo de aquellos sin déficit, con un intervalo de confianza al 95% desde 2.54 a 11.65 ( $p < 0.001$ ), ajustado por la edad, presencia de enfermedad de base, ingreso urgente, puntuación en la escala PRISM-II, calcio iónico y concentración de la PCR. Asimismo, la mortalidad en el grupo que presentaba déficit de vitamina D al ingreso fue mayor en el análisis bivariante (4.7% frente a 1.6%), aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa, posiblemente por el escaso número de eventos registrados en la muestra. En cambio, los niveles de vitamina D mostraron un efecto protector frente al fallecimiento durante la estancia en UCIP, ajustado por el resto de variables, con una OR de 0.83 (IC95% 0.7 – 0.98;  $p = 0.04$ ).

Estos resultados coinciden con algunos publicados hasta la fecha en el marco de cuidados intensivos<sup>(174,184,189)</sup>, aunque no todos encuentran esta asociación<sup>(186,187)</sup>.

El presente estudio no permite establecer una relación causal entre el déficit de vitamina D al ingreso y las complicaciones durante la estancia en la

UCIP, a pesar de la secuencia temporal. Esto es debido a que no podemos descartar que la concentración de vitamina D acompañe o sea consecuencia de la gravedad y reacción fisiológica del individuo ante el estrés y situaciones que se acompañan de una respuesta inflamatoria, tal y como otras numerosas sustancias previamente identificadas y reconocidas en la actualidad como reactantes de fase aguda.

La hipótesis de que la vitamina D está implicada en la patogenia de las complicaciones acaecidas durante el ingreso en cuidados críticos cuenta aún con escasa evidencia científica. En este sentido en la población adulta, para ayudar a clarificar el rol de la vitamina D sobre la mortalidad de estos pacientes, se han realizado ensayos clínicos para evaluar este efecto comparando grupos con y sin suplementos de vitamina D3, D2 o calcitriol. Un metanálisis de ensayos clínicos aleatorizados y controlados publicado en 2007 analiza los resultados de 18 estudios incluyendo 57311 pacientes afectados de diferentes enfermedades, con un total de 4777 muertes por diferentes causas<sup>(194)</sup>. Las dosis administradas variaron entre 300 y 2000 UI, con una media ajustada de 528 UI. Se obtuvo una OR de 0.93 para el grupo tratado, si bien el intervalo de confianza se encontraba cercano a la unidad (0.87 a 0.99). En 2011 se publicó una revisión sistemática de la Cochrane Library con 50 ensayos aleatorios y 94148 participantes que proporcionaron datos para los análisis de la mortalidad<sup>(192)</sup>. La mayoría de los ensayos incluyeron a mujeres de edad muy avanzada (mayores de 70 años de edad). La vitamina D fue administrada durante una mediana de dos años. Más de la mitad de los ensayos tuvo un riesgo bajo de sesgo. En términos generales, la vitamina D

redujo la mortalidad (CR 0,97; intervalo de confianza del 95%: 0,94 a 1;  $I^2 = 0\%$ ). Cuando las diferentes formas de vitamina D fueron evaluadas por separado, sólo la vitamina D3 redujo la mortalidad significativamente (CR 0,94; IC del 95%: 0,91 a 0,98;  $I^2 = 0\%$ ; 74 789 participantes, 32 ensayos) mientras que la vitamina D2, el alfacalcidol, o el calcitriol no lo hicieron. El análisis secuencial de los ensayos apoyó el hallazgo, con respecto a la vitamina D3, que corresponde a un NNT de 161, es decir, es necesario tratar a 161 individuos para evitar una muerte adicional.

En pacientes críticos existen escasas pruebas en relación al beneficio de los suplementos de vitamina D para disminuir la morbimortalidad y la estancia. La primera cuestión que podemos establecer en relación a este planteamiento es si realmente en el relativamente corto periodo de tiempo que representa la estancia en UCIP podemos ser capaces de conseguir niveles de vitamina D adecuados con aportes exógenos, junto con el hecho de que frecuentemente los pacientes críticos tienen problemas de malabsorción que dificulten la asimilación de los suplementos enterales<sup>(176)</sup>. Amrein y colaboradores comunican la eficacia y seguridad de administrar una dosis única de 540000 UI de colecalciferol (vitamina D3) por vía enteral para restablecer los niveles de 25-OH-D en el curso de 24 horas a pacientes críticos adultos<sup>(171)</sup>. Estos hallazgos son similares a los encontrados en otro estudio en el que se administran dosis menores repetidas<sup>(175)</sup>.

Respecto a la seguridad de la dosis empleada, la cantidad exacta requerida para inducir toxicidad es desconocida. La toxicidad por vitamina D e

hipercalcemia sólo se produce cuando las concentraciones de 25-OH-D se encuentran de forma mantenida por encima de 160-200 ng/ml<sup>(215)</sup>. Fuera de las UCI, se han empleado dosis de al menos 100000 UI de vitamina D3, sin encontrar reacciones adversas a excepción de leves y transitorias hipercalcemias<sup>(171, 215)</sup>.

La dosis a utilizar tampoco está bien definida. Los pacientes ingresados en cuidados críticos pueden tener requerimientos aumentados debido a varios factores: posible malabsorción debida a edema e inflamación gastrointestinal, diferencias en la hidroxilación hepática y renal, además de un aumento en los requerimientos tisulares que resultan en una mayor conversión de la 25-OH-D a 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D a nivel tisular. Es por ello que, en base a los escasos estudios realizados hasta la fecha y a la experiencia previa en cuanto a la seguridad de dosis altas, parece lógico investigar los efectos de la suplementación con dosis elevadas de vitamina D, superiores a las cantidades de ingesta mínima recomendada.

En niños no existen estudios que evalúen la eficacia y seguridad de la administración de suplementos de vitamina D en relación a la morbilidad y la estancia hospitalaria. Por ello considero el presente trabajo como punto de partida para la realización de un proyecto de investigación que estudie los efectos en la morbilidad y estancia hospitalaria en pacientes tratados con vitamina D y en tratados con placebo.

Otro enfoque interesante sería el estudio en pacientes críticos pediátricos de la evolución de los niveles de vitamina D durante el ingreso en UCIP, ya que el desarrollo de insuficiencia durante la estancia hospitalaria puede ser un aspecto relevante en cuanto al desarrollo de complicaciones, tal y como fue estudiado por Nail y colaboradores en adultos<sup>(205)</sup>.

Por otro lado, es necesario considerar que la presencia de niveles de vitamina D en el rango de la insuficiencia o el déficit en las primeras horas del ingreso pueden ser causa o consecuencia de la patología que motiva el ingreso, pudiendo no reflejar realmente el estado de vitamina D desde el punto de vista nutricional antes del ingreso. Debido a la dificultad que implica el disponer de información sobre este aspecto antes del ingreso, la población pediátrica diana para la realización de un estudio de investigación al respecto podría ser el postoperatorio programado de cirugía cardiovascular, pacientes que habitualmente ingresan en el día previo a la intervención quirúrgica a quienes se le extrae de forma rutinaria el control preoperatorio antes del procedimiento y que posteriormente de forma invariable precisan ingreso en las unidades de cuidados intensivos pediátricos.

Estos y otros aspectos son interesantes para esclarecer el rol que desempeña la vitamina D en los pacientes críticos pediátricos, cuyo conocimiento puede tener implicaciones relevantes en cuanto a la disminución de morbilidad asociada a través de los numerosos estudios publicados hasta la fecha. Si así se demostrará, la prevención y optimización de los niveles de vitamina D es un aspecto relativamente sencillo y con escasos

riesgos asociados para la salud de los enfermos, siendo esta línea de investigación prometedora para un futuro próximo.

# CONCLUSIONES



El déficit de vitamina D es frecuente en cuidados intensivos pediátricos, siendo la prevalencia encontrada en el presente trabajo concordante con estudios realizados en otras unidades de cuidados críticos pediátricos. La concentración de 25-OH-vitamina D al ingreso se relaciona con diversos parámetros analíticos ligados a la respuesta inflamatoria sistémica, con la puntuación en la escala PRISM-II, así como con la estación del año y el nivel de estudios de los padres. Los pacientes con déficit de vitamina D tienen mayor riesgo de presentar complicaciones durante el ingreso, no pudiendo asegurar su relación con la estancia en UCIP. Los niveles de vitamina D se relacionan con la mortalidad durante el ingreso en UCIP.

Se necesitan más estudios que aclaren el papel de la vitamina D en situaciones de gravedad clínica para dilucidar si se trata de un marcador de gravedad que acompaña a otros indicadores analíticos ya conocidos o si verdaderamente el estado de vitamina D previo al ingreso se relaciona con la morbimortalidad de estos pacientes, así como la importancia que pueda tener el desarrollo de deficiencia de vitamina D durante la estancia en cuidados críticos.

# BIBLIOGRAFÍA

1. Herodotus. The History. Translated by George Rawlinson. New York: Everyman's Library; 1928.
2. Soranus of Ephesus. Diseases of women; Die Gynakologie. Lehmann JH, Translated by H. Lueneburg. Munich; 1894.
3. Glisson F. De Rachitide sive Morbo Puerili qui vulgo. The Rickets dicitur Tractatus. Adscitis in operis societatem Georgio date et Ahasuero Regemortero. London: G Du – Gardi; 1650.
4. Iglesias-Gamarra A, Peña-Cortés, M, Restrepo JF, Rondón F, Sánchez A, Iglesias A et al. Estudio de la osteomalacia y raquitismo en diferentes periodos históricos en Colombia. REEMO 2001; 10 (1): 8-18.
5. Roger GH, Widal F, Teissier PJ, Thiers J, Leri A, Crouzon O et al editores. Nouveau Traité de Médecine. Barcelona: Masson: 1924. p. 251-336.
6. Whistler D. Morbo puerili Anglorum, quem patrio idiomate indigenae vocant "The rickets". Lugduni Batavorum; 1645. p. 1-13.
7. Mayow J. Tractatus de Rachitide. Lugd. Batavor; 1671.
8. Virchow R. Das normale knochenwaschsthum und die rachitische störung desselben. Arch Pathol Anat Physiol 1853; 5: 409-507.
9. Levacher de la Feutrie T. Traite du rakitis, ou l'art de redresser les enfants contrefaits. Paris: Lacombe; 1772.
10. Trousseau A. Clinique médicale de l'Hotel-Dieu de Paris., Paris: Bailliere et fils; 1873. p. 490-532.
11. Chossat C. Présentés à l'academie des Sciences de l'Institute de France 1843; 2: 438-440.

12. Van Leeuwenhoek A. Microscopic observations. Philos Trans R Soc Lond 1674; 9: 121-128.
13. Pommer G. Untersuchungen über Osteomalacie und Rachitis. Leipzig; 1918.
14. Pirquet C. Studies of rickets. En: Spec Vienna Medical Research Council. London; 1923. p. 5-140.
15. Chick H, Dalyell ES, Hume M, Mackay MM, Smith HH, Wimberger H. The etiology of rickets in Infants. Prophylatic and curative observations at the Vienna University Kinder Klinik. Lancet 1922; 2: 7-11.
16. Kodicek E. The story of vitamin D. From vitamin to hormone. Lancet 1974; 1: 325-329.
17. Kodicek E. Cambridge and its contribution to Medicine. Wellcome Institute of the History of Medicine. London: Arthur Rook; 1971.
18. Hopkins FG. The analyst and the medical man. Analyst 1906; 31: 385.
19. Huldschinsky K. Heilung von Rachitis durch Künstliche Höhen sonne. Deutsche Med Wochenschrift 1919; 45: 712- 713.
20. Mellanby E. An experimental investigation on rickets. Lancet 1919; 1: 407-412.
21. Mellanby The part played by accessory food factors in the etiology of rickets. J Physiol 1919; 52: 4.
22. McCollum EV, Davis M. The influence of the composition and amount of the mineral content of the ration on growth and reproduction. J Biol Chem 1915; 21: 615-643.
23. McCollum EV. From Kansas Farm Boy to Scientist. Lawrence: University of Kansas Press; 1964.

24. Rafter GW. Elmer McCollum and the disappearance of rickets. *Perspect Biol Med* 1987; 30: 527-534.
25. Rajakumar K. Vitamin D cod-liver oil, sunlight and rickets: H Historical, Perspective. *Pediatrics* 2003; 112: 132-135.
26. McCollum EV. Investigation on the etiology of rickets vitamin D. En: *A History of nutrition*. Boston : Houghton Mifflin Co; 1957.
27. Mellamby E. A story of nutritional research. Baltimore: 1950; 256-62.
28. Findlay L. A study of social and economic factors in the causation of rickets. *Med Res Committee Special Rep Ser* 1918; 20: 9-30.
29. Dick LJL. Rickets. New York: Paperback; 1922.
30. McCollum EV, Simmonds N, Becker JE, Shipley PG. Studies on experimental rickets. XXI. An experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium depositins. *J Biol Chem* 1922; 53: 293-312.
31. PG Shipley, Park EA, McCollum EV, Simmonds. Studies on experimental rickets. III: A pathological conditions bearing fundamental resemblances to rickets of the human being resulting from diets low in phosphorus and fat-soluble A: the phosphate ion on its preventions. *Johns Hopkins Hospital Bulletin* 1921; 32: 160-166.
32. McCollum EV. A history of Nutrition. Cambridge: Riverside Press; 1957.
33. Guy RA. The history of cod liver oil as a remedy. *Am J Dis Child* 1923; 26: 112-116.
34. Hess AF. Infantile rickets: the significance of clinical, radiographic and chemical explanations in its diagnosis and incidence. *Am J Dis Child*

- 1922; 24: 327. Reprinted in Hess AF. Vol. 2: Collected Writings. Springfield IL: Charles C Thomas; 1936. p. 30-41.
35. Palm TA. The geographical distribution and aetiology of rickets. Practitioner 1890; 45: 270-342.
36. Raczyński J. Recherches experimentales sur le manqué d'action au soleil comme cause du rachitisme. C R Assoc Internat Pediatrie Paris 1912; 13: 308-309.
37. McCollum EV, Simmonds N, Becker JE, Shipley PG. An experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium deposition. Bull Johns Hopkins Hosp 1922; 23: 229.
38. Schmorl G. Die pathologische anatomie der rachitischen Knochenerkrankung mit und pathogenese. Ergebn d inn Med Und Krankh 1909; 4: 403-454.
39. Mellanby E. Accessory food factors (vitamins) in the feeding of infants, Lancet 1920; 1: 856.
40. Mellanby E. Experimental rickets. Med Research Council, Special Rep. Series: 1921; 61: 1-78.
41. Sherman HC, Pappenheimer AM. Dietetic production of rickets in rats and its prevention by inorganic salt. Proc Soc Exp Bio And Med; 1920-21; 18: 193.
42. Sherman HC, Pappenheimer AM. Experimental rickets in rats I. A diet production rickets in white rats, and its prevention by the addition of an inorganic salt. J Exp Med 1921; 34: 189.
43. Hopkins FG. The effects of heat and aeration upon the fat-soluble vitamins. Biochem J 1920; 14: 725.

44. McCollum EV, Simmonds N, Parson HT, Shipley PG, Park EA. Studies on experimental rickets I. The production of rachitis and similar diseases in the rat by deficient diets. J Biol Chem 1921; 45: 333-342.
45. Shipley PG, Park EA, McCollum EV, Simmonds N, Parson HT. Studies on experimental rickets II. The effect of cod liver oil administered to rats with experimental rickets. J Biol Chem 1921; 45: 343-348.
46. McCollum EV, Simmonds N, Shipley PG, Park EA. Studies on experimental rickets XXI. A delicate biological test for calcium-depositing substance J Biol Chem 1922; 51: 41-50.
47. Shipley PG, Park EA, McCollum EV, Simmonds N. Studies on experimental rickets. VII. The relative effectiveness of cod liver oil as contrasted with butter fat for protecting the body against insufficient calcium in the presence of a normal phosphorus supply. Am J Hyg 1921; 1: 512.
48. McCollum EV, Simmonds N, Shipley PG, Park AE. Studies on experimental rickets, XII. Is there a substance other than fat-soluble associated with certain fats which plays an important rôle in bone development? J Biol Chem 1922; 1: 5.
49. McCollum EV, Simmonds N, Shipley PG, Park EA. Studies experimental rickets. VIII. The production of rickets by diets low in phosphorus and fat-soluble. Am J Biol Chem 1921; 47: 507.
50. McCollum EV, Simmonds N, Shipley PG, Park AE. Studies experimental rickets. XV. The effect of starvation on the healing of rickets, Bull. Johns Hopkins Hosp 1922; 33: 310.

51. McCollum EV, Simmonds N, Becker JE, Shipley PG. Studies on experimental rickets XXIII. The production of rickets in the rat by diets consisting essentially of purified food substances. J. Biological chemistry 1921; 45: 249-252.
52. Mellanby E. The Hopkins memorial lectura. J Chem Soc 1948; 713-722.
53. Hopkins FG. Feeding experiments illustrating the importance of accessory food factors in normal dietaries. J Physiol 1912; 44: 425.
54. Gownland Hopkins. Discussion on the present position of vitamins in clinical medicine. Brit Medical J 1920; 11: 147-151.
55. Kodicek E. Cambridge and the evolution on the Knowledge of vitamins. In: Cambridge and its Contribution to Medicine. London: Arthur Rook, Wellcome Institute of the History of Medicine; 1971. p. 233-256.
56. Funk C. On the chemical nature of the substance which cures polyneuritis in birds induced of a diet polished rice. J Physiol 1911; 43: 395.
57. Funk C. The etiology of the deficiency diseases beri-beri, polineuritis in birds, epidermic dropsy, experimental scurvy animals, infantile scurvy, ship beri-beri, pellagra. J State Med 1912; 20: 341.
58. Funk C. The vitamins. 2 ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1922.
59. Askew FA, Bourdillon RB, Brucer HM, Jenkins GC, Webster TA. The distillation of vitamin D. Proc Roy Soc (London) Ser B 1931; 107: 76-90.
60. Askew FA, Bourdillon RB, Brucer HM, Jenkins GC, Webster TA. The distillation of vitamin D. Proc Roy Soc (London), Ser B 1931; 107: 91-2.
61. Windaus A, Linser O, Lüttringhaus, Weidlich G. Über das krytallisierte vitamin D2. Justis Liebigs Ann Chem 1932; 492: 226-241.



62. Windaus A. Über das antirachitisch wirksame bestrahlungs- produkt aus 7-dehydro-cholesterin. Z Phisyol Chem 1936; 241: 100-103.
63. Schenck F. Über das kristallisierte vitamin D3. Naturwissen- schaften 1937; 25: 159.
64. Cruickshank EM, Kodicek E. Vitamin D balance and distribution in rats given a massive dose of ergocalciferol. Biochem J 1953; 54: 337-343.
65. Cruickshank EM, Kodicek E, Armitage P. The vitamin D content of tissues of rats given ergocalciferol. Biochem J 1954; 58: 172-175.
66. Kodicek E. The biosynthesis of C-labelled ergocalciferol. Bochem J 1955; 60: 25-28.
67. Mautalen C, Albright F. Un tributo al padre de las osteopatías metabólicas a 100 años de su nacimiento. Diagnóstico en osteología 2000; 2: 4-6.
68. Kolb F. My year with Fuller Albright (1950-1951). The endocrinologist 1999; 9: 127-142.
69. Axelrod L. Bones, stones and hormones: the contribution of Fuller Albright. New Engl J Med 1970; 283: 964-970.
70. Means JH. Ward 4, The Mallinckrodt Research Ward Of The Massachusetts General Hospital. Yale J Biol Med. 1958 Sep; 31(1): 53–54.
71. Bartter FC. Fuller Albright Issue. Metabolism 1962; 11: 1-167.
72. Drake TG, Albright F, Bauer W, Castleman B. Chronic idiopathic hypoparathyroidism, report of six cases with autopsy findings in one. Ann Int Med 1939; 12 (11): 1751- 1765.

73. Albright F, Consolazio WV, Coombs FS, Sulkowitch HW, Talbott JH. Metabolic studies and therapy in a case of nephrocalcinosis with rickets and dwarfism. Bull Johns Hopkins Hosp 1940; 66: 7-33.
74. Albright F, Burnett CH, Parsons W, Reifenstein EC, Roos A. Osteomalacia and late rickets. The various etiologies met in the United States with emphasis on that resulting from specific form of renal acidosis, the therapeutic indications for etiological sub-group and the relationship between Osteomalacia and Milkman's Syndrome, Medicine. 1946; 25: 399-479.
75. Albright F, Burnett CH, Smith PH et al. Pseudohypoparathyroidism an example of "Seabright-Bantam syndrome: report of three cases". Endocrinology 1942; 30: 922-932.
76. Albright F, Forbes AP, Henneman PH. Pseudo-pseudo-hypoparathyroidism. Trans Assoc AM Physician 1952; 65: 337-350.
77. Klinefelter HF, Reifenstein EF, Albright F. Syndrome characterized by gynecomastia, espermatogenesis without a Leydigism, and increased excretion of follicle-stimulating hormone. J Clin Endocrinol Metabol 1942; 2: 615-27.
78. Albright F. Cushing's syndrome: pathologic physiology, in relationship to the adrenogenital syndrome, and its connection with the problem of the reaction on the body to injurious agents ("alarm reaction" of Selye). Harvey Lecture 1942; 38: 123-186.
79. Albright F, Bloomberg E, Smith PH. Postmenopausal osteoporosis. Trans Assoc AM Physician 1940; 55 (4): 298-305.

80. Albright F. Hypovitaminosis of all fat-soluble vitamins due to Steatorrhea, report of case. *New Engl J Med* 1940; 223: 239-241.
81. Albright F, Drake TG, Sulkowithc HW. Renal osteitis fibrosa cystica; report of a case with discussion of metabolic aspects. *Bull Johns Hopkins Hosp* 60; 377-399.
82. Albright F, Butler AM, Bloomberg E. Rickets resistant to vitamin D therapy. *AM J Dis Child* 1937; 54: 529-547.
83. Albright F, Butler A, Hampton AO, Smith P. Syndrome characterized by fibrosa disseminata, areas of pigmentation and endocrine dysfunction with precocious puberty in females. *New Engl J med* 1937; 216: 727-746.
84. Albright F, Smith PH, Richarson AM. Postmenopausal osteoporosis. *JAMA* 1941; 116: 2465.
85. Goldblatt H, Soames KN. A study of rats on a normal diet irradiated daily by the mercury vapor quartz lamp or kept in darkness. *Biochem* 1922; 53: 293.
86. Steenbock H, Black A. The induction of growth-promoting and calcifying properties in a ration by exposure to ultra-violet light. *J Biol Chem* 1924; 61: 405-422.
87. Steenbock H, Kletzien SWF, Halpin JG. The reaction of the chicken to irradiated ergosterol and irradiated yeast as contrasted with natural vitamin D in fish liver oil. *J Biol Chem* 1923; 97: 249-264.
88. Hess AF, Weinstock M. Antirachitic properties imparted to inert fluids and to green vegetables by ultra-violet irradiation. *J Biol Chem* 1924; 62: 301-313.

89. Orr W, Holt LE, Wilkens L, Boone FH. The calcium and phosphorus metabolism in rickets with special reference to ultraviolet ray therapy. *Am J Dis Child* 1923; 26: 362-372.
90. Harris LJ. Vitamins. *Ann Res Biochem* 1994; 3: 247-294.
91. Nicolaysen R. Studies upon mode of action if vitamin D. II. Influence of vitamin D on the faecal output of endogenous calcium and phosphorus in the rat. *Biochem J* 1937; 31: 107-121.
92. Nicolaysen R. Studies upon the mode of action of vitamin D III. The influence of vitamin D on the absorption of calcium and phodphorus in the rat. *Biochem J* 1937; 31: 122-129.
93. Nicolaysen R. Studies upon the mode of action of vitamin D IV. The absorption of calcium chloride, xylose and sulphate from isolated loops of the small intestine of calcium chloride from the abdominal cavity the rat. *Biochem J* 1938; 31: 323-328.
94. Nicolaysen R. Studies upon the mode of action of vitamin D V. The absorption of phosphates from isolated loops of the small intestine rat. *Biochem J* 1967; 31: 1086-1088.
95. Nicholaysen R. The absorption of calcium. *Acta Physiol Scand* 1943; 6: 201-209.
96. Nicolaysen R, EEG-Larsen N. The biochemistry and physiology of vitamin D. *Vitamins Hormones* 1953; 11: 29-60.
97. Nicolaysen R, EEG-Larsen N. The mode of action of vitamin D. In: Ciba Found Symp Bone structure and Metabolism. Boston, Litle, Brown: G.W.E. Wolstenholme, C.M.O. Connor eds; 1956; 175-186.

98. Nicolaysen R, EEG-Larsen N, Malm OJ. Physiology calcium metabolism. *Physiol Rev* 1953; 33: 424-444.
99. Adams JS, Hewison M: Update in vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95 (2): 471-478.
100. Farrel CJL, Martin S, McWhinney B, Straub I, Williams P, Herrmann N. State-of-the-art vitamin D assays: A comparison of automated immunoassays with liquid chromatography–tandem mass spectrometry methods. *Clin Chem* 2012; 58 (3): 531–542.
101. Martínez ME, Luque De Castro MD, Gámiz-Gracia L. Determinaciones de la vitamina D en suero. Metodología e indicaciones. En: Rapado Errazti, A, Díaz Curiel, M. (editores). *Hipovitaminosis D en España*. Madrid: FHOEMO, 2000. p. 55-63.
102. Binkley N, Krueguer D, Gemar D, Drezner MK. Correlation among 25-hydroxy-vitamin D assays. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 1804 – 8.
103. Ovesen L, Andersen R, Jakobsen J. Geographical differences in vitamin D status, with particular reference to European countries. *Proceeding of the Nutrition Society*. 2003; 62: 813-21.
104. Lips P, Chapuy MC, Dawson-Hughes B, Pols HAP, Holick MF. An International comparison of serum 25-hydroxyvitamin D measurements. *Osteoporosis Int*. 1999; 9: 394-397.
105. Tai SS, Bedner M, Phinney KW. Development of a candidate reference measurement procedure for the determination of 25-hydroxyvitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D2 in human serum using

- isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chem* 2010; 82; 1942-8.
106. Górriz S, Estela PL. Influencia del inmunoensayo empleado en la determinación de vitamina D sérica. *Endocrinol Nutr* 2014; 61(3):123-9.
  107. Abdel-Wareth L, Haq A, Turner A, Khan S, Salem A, Mustafa F et al. Total Vitamin D Assay Comparison of the Roche Diagnostics “Vitamin D Total” Electrochemiluminescence Protein Binding Assay with the Chromsystems HPLC Method in a Population with both D2 and D3 forms of Vitamin D. *Nutrients* 2013, 5, 971-980.
  108. Hollis BW. Comparison of commercially available <sup>125</sup>I-based RIA methods for the determination of circulating 25-hydroxyvitamin D. *Clin Chem* 2000; 46: 1657-61.
  109. Binkley N, Krueger D, Cowgill S, Plum L, Hansen E, DeLuca F. Assay variation confounds the diagnosis of hipovitaminosis D: a call for standardization. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 3152-7.
  110. Quesada JM, Luque F. Funciones óseas y extraóseas del sistema endocrino de la vitamina D. En: Rapado Errazti A, Díaz Curiel M. (editores). *Hipovitaminosis D en España*. Madrid: FHOEMO; 2000. p. 15-27.
  111. Le Grusse J, Watier B. Vitamine D. En: Le Grusse J, Watier B. *Les vitamines*. Neuilly-Sur-Seine Cedex: Centre d’étude et d’information sur les vitamines (CEIV), 1993. p. 57-79.
  112. Holick MF. Vitamin D: the underappreciated D-lightful hormone that is important for skeletal and cellular health. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes* 2002; 9: 87-98.

113. Diffey B. Do White British Children And Adolescents Get Enough sunlight? British Medical Journal. 2005;331:3-4.
114. Moya Benavent M. Necesidades de vitamina D durante el crecimiento. En: Rapado Errazti A, Díaz Curiel M (editores). Hipovitaminosis D en España. Madrid: FHOEMO; 2000. p. 29-43.
115. Lips P, Chapuy MC, Dawson-Hughes B, Pols HAP, Holick MF. An International comparison of serum 25-hydroxyvitamin D measurements. Osteoporosis International. 1999; 9: 394-397.
116. Matsuoka LY, Ide L, Wortsman J, MacLaughlin JA, Holick MF. Sunscreens suppress cutaneous vitamin D3 synthesis. J Clin Endocrinol Metab. 1987; 64 (6): 1165-8.
117. Moreiras O, Carbajal A, Perea I, Varela-Moreiras G, Ruiz- Roso B. Nutrición y salud de las personas de edad avanzada en Europa: Euronut-SENECA. Estudio en España. 2. Estilo de vida. Estado de salud. Modelo dietético. Hábitos alimentarios. Valoración de la ingesta. Rev Esp Geriatr Gerontol 1993; 28 (4): 209-229.
118. Balk SJ. Ultraviolet radiation: a hazard to children and adolescents. Pediatrics. 2011;127:e791-817.
119. Martínez V, Moreno JM, Dalmau J y Comité de Nutrición de la Asociación Española de Pediatría. An Pediatr (Barc). 2012; 77(1): 57.e1-57.e8.
120. Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C. Tablas de composición de alimentos. 9a edición. Madrid: Pirámide; 2005.

121. Mataix Verdú J, Mañas Almendro M editores. Tabla de composición de alimentos españoles. 3 ed. Granada: Universidad de Granada; 1998.
122. Adams JS, Hewison M. Unexpected actions of vitamin D: New perspectives on the regulation of innate and adaptive immunity. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008; 4(2): 80–90.
123. Adams JS, Hewison M. Extrarenal expression of the 25-hydroxivitamin D-1-hydroxylase. *Arch Biochem Biophys* 2012; 523(1): 95-102.
124. Lips P. Vitamin D physiology. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 2006; 92: 4–8.
125. Norman AW. Cholecalciferol. Physiology. En: Sadler MJ, Strain JJ, Caballero B (eds). *Encyclopedia of Human Nutrition*. Academic Press. 2003. p. 1213-1220.
126. Masvidal RM, Ortigosa S, Baraza MC, García-Algar O. Vitamina D: fisiopatología y aplicabilidad clínica en pediatría. *An Pediatr (Barc)*. 2012; 77 (4): 279.e1-279.e10.
127. Quarles LD. Endocrine functions of bone in mineral metabolism regulation. *J Clin Invest* 2008; 118: 3820-8.
128. Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR et al. Activation of human TLR2/1 triggers a vitamin D receptor-dependent antimicrobial response. *Science* 2006; 311: 1770-3.
129. Holick MF, Biancuzzo RM, Chen TC, Klein EK, Young A, Bibuld D et al. Vitamin D2 is as effective as vitamin D3 in maintaining circulating



- concentrations of 25-hydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 677 – 81
130. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357(3): 266–81.
  131. Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M, Arnaud S, Galan P, Hercberg S et al. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int* 1997; 7: 439-43.
  132. Lee P. Vitamin D metabolism and deficiency in critical illness. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metabol* 2011; 25: 769 – 81.
  133. Valtueña J, Breidenassel E, Folle J, González-Gross M. Retinol, beta3-carotene, u-tocopherol and vitamin D status in European adolescents: regional differences and variability – a review. *Nutr Hosp* 2011; 26: 278-86.
  134. Tolppanen AM, Sayers A, Fraser WD, Lawlor DA. Association of serum 25-hydroxyvitamin D3 and D2 with academic performance in childhood: findings from a prospective birth cohort. *J Epidemiol Community Health* 2012. 66(12): 1137-42.
  135. Moreno LA, González- Gross M, Kersting M, Molnár D, de Henauw S, Beghin L et al. The HELENA Study: Assessing, understanding and modifying nutritional status, eating habits and physical activity in European adolescents. *Public Health Nutr* 2008; 11: 288-99.
  136. Rodríguez-Rodríguez E, Aparicio A, López-Sobales AM, Ortega RM. Vitamin D status in a group of Spanish schoolchildren. *Minerva Pediatr* 2011; 63: 11-8.

137. Andiram N, Çelik N, Akça H, Dogan G. Vitamin D deficiency in children and adolescents. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2012; 4 (1): 25-9.
138. Ginde AA, Liu MC, Camargo Jr CA. Demographic differences and trends of vitamin D insufficiency in the US population, 1998 – 2004. *Arch Intern Med* 2009; 169: 626 – 32.
139. Looker AC, Pfeiffer CM, Lacher DA, Schleicher RL, Picciano MF, Yetley EA. Serum 25-hydroxyvitamin D status of the US population: 1988 – 1994 compared with 2000 – 2004. *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 1519–27.
140. Lips P. Vitamin D status and nutrition in Europe and Asia. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007; 103: 620 – 7.
141. Krishnan A, Ochola J, Mundy J, Jones M, Kruger P, Duncan E et al. Acute fluid shifts influence the assessment of serum vitamin D status in critically ill patients. *Crit Care* 2010; 14(6): R216. doi:10.1186/cc9341.
142. Bikle D. Nonclassic actions of vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 26-34.
143. Jeng L, Yamshchikov AV, Judd SE, Blumberg HM, Martin GS, Ziegler TR et al. Alterations in vitamin D status and anti-microbial peptide levels in patients in the intensive care unit with sepsis. *J Traslat Med* 2009; 7: 28–37.
144. Holick MF. Vitamin D: Important for prevention of osteoporosis, cardiovascular heart disease, type 1 diabetes, autoimmune diseases, and some cancers. *South Med J* 2005; 98:1024-7.
145. Lange NE. Vitamin D, the immune system and asthma. *Expert Rev Immunol* 2009; 5(6): 693-702.

146. Cantorna MT. Vitamin D and its role in immunology: multiple sclerosis, and inflammatory bowel disease. *Prog Biophys Mol Biol* 2006; 92 (1): 60–4.
147. Hypponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet* 2001; 358 (9292): 1500–3.
148. Merlino LA, Curtis J, Mikuls TR, Cerhan JR, Criswell LA, Saag KG. Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum* 2004; 50 (1): 72–7.
149. Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA* 2006; 296 (23): 2832–8.
150. Munger KL, Zhang SM, O'Reilly E, Hernán MA, Olek MJ, Willett WC et al. Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology* 2004; 62 (1): 60–5.
151. Matsumura T, Kato T, Sugiyama N, Tasaka-Fujita M, Murayama A, Masaki T, Wakita T, Imawari M. 25-hydroxyvitamin D3 suppresses hepatitis C virus production. *Hepatology* 2012; 56(4):1231-9.
152. Harris SS, Pittas AG, Palermo NJ. A Randomized, Placebo Controlled Trial of Vitamin D Supplementation to Improve Glycemia in Overweight and Obese African Americans. *Diabetes Obes Metab* 2012; 14(9): 789-94.

153. Lewis E, Fernandez C, Nella A, Hopp R, Gallagher JC, Casale TB. Relationship of 25-hydroxyvitamin D and asthma control in children. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2012; 108 (4): 281-2.
154. Liu PT, Stenger S, Tang DH, Modlin RL. Cutting edge: vitamin D-mediated human antimicrobial activity against *Mycobacterium tuberculosis* is dependent on the induction of cathelicidin. *J Immunol* 2007; 179: 2060 – 3.
155. Krutzik SR, Hewison M, Liu PT, Robles JA, Stenger S, Adams JS et al. IL-15 links TLR2/1-induced macrophage differentiation to the vitamin D-dependent antimicrobial pathway. *J Immunol* 181; 7115-20.
156. Daniel C, Sartory NA, Zahn N, Radeke HH, Stein JM. Immune modulatory treatment of trinitrobenzene sulfonic acid colitis with calcitriol is associated with a change of a T helper (Th)1/ Th17 to a Th2 and regulatory T cell profile. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 324 (1): 23–33.
157. Tang J, Zhou R, Luger D, Zhu W, Silver PB, Grajewski RS et al. Calcitriol suppresses antiretinal autoimmunity through inhibitory effects on the Th17 effector response. *J Immunol* 2009; 182 (8): 4624–32.
158. Louten J, Boniface K, de Waal Malefyt R. Development and function of Th17 cells in health and disease. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123 (5): 1004–11.
159. Giovannucci E, Liu Y, Rimm EB, et al. Prospective study of predictors of vitamin D status and cancer incidence and mortality in men. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98 (7): 451–9.

160. Zhou W, Heist RS, Liu G, et al. Circulating 25-hydroxyvitamin D levels predict survival in early-stage non-small-cell lung cancer patients. *J Clin Oncol* 2007; 25 (5): 479–85.
161. Gorham ED, Garland CF, Garland FC, Grant WB, Mohr SB, Lipkin M et al. Optimal vitamin D status for colorectal cancer prevention: a quantitative meta analysis. *Am J Prev Med* 2007; 32 (3): 210–6.
162. Crew KD, Gammon MD, Steck SE, Hershman DL, Cremers S, Dworakowski E et al. Association between plasma 25-hydroxyvitamin D and breast cancer risk. *Cancer Prev Res* 2009; 2 (6): 598–604.
163. Garland CF, Garland FC, Gorham ED, Lipkin M, Newmark H, Mohr SB et al. The role of vitamin D in cancer prevention. *Am J Public Health* 2006; 96 (2): 252–61.
164. Lewis E, Fernández C, Nella A, Hopp R, Gallagher JC, Casale TB. Relationship of 25-hydroxyvitamin D and asthma control in children. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2012; 108 (4): 281 – 2.
165. Ian N, Luo G, Yang X, Cheng Y, Zhang I, Wang X et al. 25-Hydroxyvitamin D3-Deficiency enhances oxidative stress and corticosteroid resistance in severe asthma exacerbation. *PLOS One* 2014; 9 (11): 1 – 10.
166. Wu AC, Tantisira K, Li L, Fuhlbrigge AL, Weiss ST, et al. (2012) Effect of vitamin D and inhaled corticosteroid treatment on lung function in children. *Am J Respir Crit Care Med* 186: 508–513.
167. Jones A, D’Vaz N, Meldrum S, Palmer D, Zhang G, Prescott S. 25-hydroxyvitamin D3 status is associated with developing adaptive and

- innate immune responses in the first 6 months of life. Clin Exp Allergy 2014. En prensa.
168. Tishkoff DX, Nibbelink KA, Holmberg KH, Dandu L, Simpson RU. Functional vitamin D receptor (VDR) in the t-tubules of cardiac myocytes: VDR knockout cardiomyocyte contractility. Endocrinology 2008;149:558–64.
  169. Zhu Y, Mahon BD, Froicu M, Cantorna MT. Calcium and 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3 target the TNF-alpha pathway to suppress experimental inflammatory bowel disease. Eur J Immunol 2005; 35: 217–24.
  170. Canning MO, Grotenhuis K, de Wit H, Ruwhof C, Drexhage HA. 1-alpha,25-Dihydroxyvitamin D3 (1,25(OH)(2)D(3)) hampers the maturation of fully active immature dendritic cells from monocytes. Eur J Endocrinol 2001; 145: 351–7.
  171. Amrein K, Sourij H, Wagner G, Holl A, Pieber TR, Smolle KH et al. Short-term effects on high-dose oral vitamin D3 in critically ill vitamin D deficient patients: a randomized, doubled-blind, placebo-controlled pilot study. Crit Care 2011; 15(2): R104-110. En prensa. doi: 10.1186/cc10120
  172. Haines ST, Park SK. Vitamin D Supplementation: What's Known, What to Do, and What's Needed. Pharmacotherapy 2012; 32 (4): 354-82.
  173. Witham MD, Dove FJ, Khan F, Lang CC, Belch JJ, Struthers AD. Effects of Vitamin D supplementation on markers of vascular function after myocardial infarction-A randomised controlled trial. Int J Cardiol 2013; 167 (3): 745-9.

174. 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 (16): R292- 301.
175. Mata-Granados JM, Vargas-Vasserot J, Ferreiro-Vera C, Luque de Castro MD, Guerrero-Pavón R, Quesada-Gómez JM. Evaluation of vitamin D endocrine system (VDES) status and response to treatment of patients in intensive care units using an on-line SPE-LC-MS/MS method. *J Steroid Biochem Molec Biol* 2010; 121: 452–5.
176. Lee P. How deficient are vitamin D deficient critically ill patients? *Crit Care* 2011; 15: 154-5.
177. Lucidarne O, Messai E, Mazzoni T, Arcade M, Cheyron D. Incidence and risk factors of vitamin D deficiency in critically ill patients: results from a prospective observational study. *Intensive Care Med* 2010; 36: 1609-11.
178. Van den Berghe G, Van Roosbroeck D, Vanhove P, Wouters PJ, De Pourcq L, Bouillon R. Bone turnover in prolonged critical illness: effect of vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:4623-32.
179. Sriram K. The future of vitamin D's role in critical care. *Crit Care Med* 2012; 40: 310-1.
180. Lee P, Eisman JA, Center JR. Vitamin D deficiency in critically ill patients. *N Engl J Med* 2009; 360(18): 1912–4.
181. Quraishi SA, McCarthy C, Blum L, Cobb JP, Camargo CA. Plasma 25-Hydroxyvitamin D Levels at Initiation of Care and Duration of Mechanical Ventilation in Critically Ill Surgical Patients. *J Parenter Enteral Nutr* 2015; en prensa.

182. Doherty DR, Lawson ML, Al-Dirbashi OY, Chakraborty P, Ramsay T et al. The relationship between vitamin D status and adrenal insufficiency in critically ill children. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98(5): E877-81.
183. McNally JD, Menon K, Chakraborty P, Fisher L, Williams KA, Al-Dirbashi OY et al. The association of vitamin D status with pediatric critical illness. *Pediatrics* 2012; 130(3): 429-36.
184. Madden K, Feldman HA, Smith EM, Gordon CM, Kiesling SM, Sullivan RM et al. Vitamin D deficiency in critically ill children. *Pediatrics* 2012; 130: 421-8.
185. Moromizato T, Litonjua AA, Braun AB, Gibbons FK, Giovannucci E, Cristopher KB. Association of low serum 25-hydroxyvitamin D levels and sepsis in the critically ill. *Crit Care Med* 2014; 42:97-107.
186. Rippel C, South M, Butt WW, Shekerdemian LS. Vitamin D status in critically ill children. *Intensive Care Med* 2012; 38: 2055-62.
187. Rey C, Sánchez-Arango D, López-Herce J, Martínez-Cambor P, García-Hernández I, Prieto B, Pallavizini Z. Vitamin D deficiency at pediatric intensive care admission. *J Pediatr (Rio J)*. 2014; 90(2): 135-142.
188. Lee P, Nair P, Eisman JA, Center JR. Vitamin D deficiency in the intensive care unit: an invisible accomplice to morbidity and mortality? *Intensive Care Med* 2009 (35): 2028-32.
189. Braun AB, Gibbons FK, Litonjua AA, Giovannucci E, Christopher KB. Low serum 25-hydroxyvitamin D at critical care initiation is associated with increased mortality. *Crit Care Med* 2012; 40:63–72.



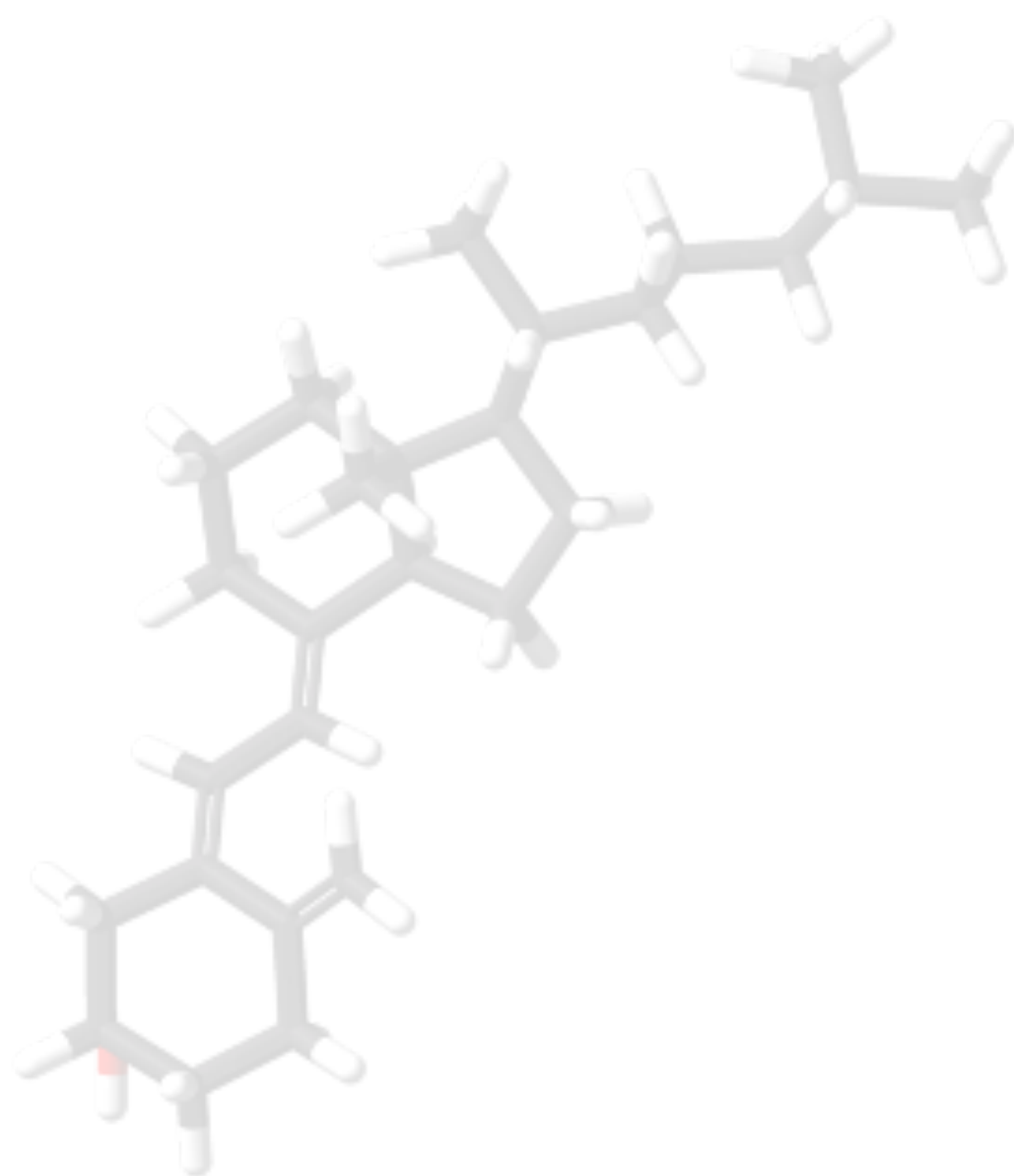
190. Börgermann J, Lazouski K, Kuhn J, Dreier J, Schmidt M, Gilis-Januszekowski T et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D fluctuations in cardiac surgery are related to age and clinical outcome. *Crit Care Med* 2012; 40: 2073-81.
191. Melamed ML, Michos ED, Post W, Astor B. 25-hydroxyvitamin D levels and the risk of mortality in the general population. *Arch Intern Med* 2008, 168:1629-37.
192. Bjelakovic G, Gluud LL, Nikolova D, Whitfield K, Wetterslev J, Simonetti RG et al. Vitamin D supplementation for prevention of mortality in adults (review). *Cochrane Database Syst Rev* 2011; 6 (7): CD007470.
193. Dobnig H, Pilz S, Scharnagl H, Renner W, Seelhorst U, Wellnitz B et al. Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med* 2008; 168: 1340-9.
194. Autier P, Gandini S. Vitamin D supplementation and total mortality. A meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 2007; 167 (16): 1730 – 7.
195. Holick MF, Biancuzzo RM, Chen TC, Klein EK, Young A, Bibuld D et al. Vitamin D2 is as effective as vitamin D3 in maintaining circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 677 – 81.
196. Wagner CL, Greer FR, for the American Academy of Pediatrics Section on Breastfeeding; American Academy of Pediatrics Committee

- on Nutrition. Prevention of rickets and vitamin D deficiency in infants, children and adolescents. *Pediatrics* 2008; 122(5): 1142-52.
197. Casey AF, Slawson DC, Neal LR. Vitamin D Supplementation in infants, children and adolescents. *Am Fam Physician* 2010; 81 (6): 745-8.
  198. Van Schoor NM, Lips P. Worldwide vitamin D status. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011; 25: 671–680.
  199. Lips P. Worldwide status of vitamin D nutrition. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 121: 297–300.
  200. Bates B, Lennox A, Prentice A et al. (2014) National Diet and Nutrition Survey Results from Years 1, 2, 3 and 4 (combined) of the Rolling Programme (2008/2009–2011/2012). Public Health England, Food Standards Agency: London.
  201. Thuesen B, Husemoen L, Fenger M, Jakobsen J, Schwarz P, Toft U et al. Determinants of vitamin D status in a general population of Danish adults. *Bone* 2012; 50: 605–10.
  202. Spiro A, Buttriss JL. Vitamin D: An overview of vitamin D status and intake in Europe A. *Nutr Bull* 2014; 39 (4): 322-50.
  203. González-Gross M, Valtueña J, Breidenassel C, Moreno LA, Ferrari M, Kersting M et al. Vitamin D status among adolescents in Europe: the Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence study. *Br J Nutr* 2012; 107: 755–764.
  204. Vierucci F, Del Pistoia M, Fanos M, Gori M, Carlone G, Erba P et al. Vitamin D status and predictors of hypovitaminosis D in Italian

- children and adolescents: a cross-sectional study. *Eur J Pediatr* 2013; 172:1607–1617.
205. Nair P, Lee P, Reynolds C, Nguyen ND, Myburgh J, Eisman JA, Center JR. Significant perturbation of vitamin D–parathyroid–calcium axis and adverse clinical outcomes in critically ill patients. *Int Care Med* 2013; 39: 267–74.
  206. Tolppanen AM, Fraser A, Fraser WD, Lawlor DA. Risk factors for variation in 25-hydroxyvitamin D3 and D2 concentrations and vitamin D deficiency in children. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97:1202-10.
  207. Andiran N, Çelik N, Akça H, Doğan G. Vitamin D Deficiency in Children and Adolescents. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2012; 4 (1): 25-29.
  208. Dalmau J, Peña-Quintana L, Moráis A, Martínez V, Varea V, Martínez MJ, Soler B. Análisis cuantitativo de la ingesta de nutrientes en niños menores de 3 años. Estudio ALSALMA. *An Pediatr (Barc)*. 2015; 82(4): 255-266.
  209. Diethelm K, Huybrechts I, Moreno L, De Henauw S, Manios Y, Beghin L et al. Nutrient intake of European adolescents: results of the HELENA (Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence) Study. *Public Health Nutrition* 2013; 17(3): 486–97.
  210. McNally JD, Menon K, Chakraborty P, Fisher L, Williams KA, Al-Dirbashi OY et al. Impact of anesthesia and surgery for congenital heart disease on the vitamin d status of infants and children. *Anesthesiology* 2013; 119 (1): 71 – 80.

211. Bener A, Al-Ali M, Hoffmann GF. Vitamin D deficiency in healthy children in a sunny country: associated factors. *Int J Food Scienc Nutr* 2009; 60 (S5): 60 – 70.
212. Oberg J, Jorde R, Almàs B, Emaus N, Grimnes G. Vitamin D deficiency and lifestyle risk factors in a Norwegian adolescent population. *Scand J Public Health*. 2014 Nov;42(7):593-602.
213. Ghashut RA, Talwar D, Kinsella J, Duncan A, McMillan DC. The Effect of the Systemic Inflammatory Response on Plasma Vitamin 25 (OH) D Concentrations Adjusted for Albumin. *PLoS One* 2014; 9 (3): e92614 - e92614.
214. Leaf DE, Raed A, Donnino MW, Ginde AA, Waikar SS. Randomized Controlled Trial of Calcitriol in Severe Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* Vol 2014; 190 (5): 533–541.
215. Christopher KB. Vitamin D supplementation in the ICU patient. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2015, 18:187 – 192.





UNIVERSIDAD  
DE MÁLAGA